



HAL
open science

Importance de la lipolyse adipocytaire dans le contrôle de l'homéostasie des monocytes

Marion Stunault

► **To cite this version:**

Marion Stunault. Importance de la lipolyse adipocytaire dans le contrôle de l'homéostasie des monocytes. Biologie cellulaire. Université Côte d'Azur, 2020. Français. NNT : 2020COAZ6025 . tel-03389377

HAL Id: tel-03389377

<https://theses.hal.science/tel-03389377>

Submitted on 21 Oct 2021

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.

THÈSE DE DOCTORAT

Importance de la lipolyse adipocytaire dans le contrôle de l'homéostasie des monocytes

Marion STUNAUULT

Centre méditerranéen de médecine moléculaire (C3M)

**Présentée en vue de l'obtention
du grade de docteur en** Sciences de la vie
et de la santé, Interactions moléculaires et
cellulaires

d'Université Côte d'Azur

Dirigée par : Laurent Yvan-Charvet,
Stoyan Ivanov

Soutenue le : 20 Octobre 2020

Devant le jury, composé de :

Florence Apparailly, DR, IRMB, Montpellier

Julien Cherfils, CR, IRCAN, Nice

Maryse Guerin, DR, ICAN, Paris

Benoît Pourcet, MCF-HDR, IPL, Lille

Nicolas Venteclef, DR, CRC, Paris

Abdelilah Wakkach, DR, LP2M, Nice

Importance de la lipolyse adipocytaire dans le contrôle de l'homéostasie des monocytes

Jury :

Président du jury :

Abdelilah WAKKACH, DR, Laboratoire de PhysioMédecine Moléculaire (LP2M), Université Nice Sophia Antipolis.

Rapporteurs :

Maryse GUERIN, DR, Institute of Cardiometabolism and Nutrition (ICAN), Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Sorbonne Université.

Benoît POURCET, MCF-HDR, Institut Pasteur de Lille (IPL), Université de Lille.

Examineurs :

Florence APPARAILLY, DR, Institute for Regenerative Medicine & Biotherapy (IRMB), Université de Montpellier.

Nicolas VENTECLEF, DR, Centre de Recherche des Cordeliers (CRC), Sorbonne Université, Université de Paris.

Membre invité :

Julien CHERFILS, CR, Institute for Research on Cancer and Aging, Nice (IRCAN) Université Nice Sophia Antipolis.

Résumé

Importance de la lipolyse adipocytaire dans le contrôle de l'homéostasie des monocytes.

Les monocytes font partie des acteurs majeurs de l'immunité innée. Ils sont générés dans la moelle osseuse et contribuent à garantir le maintien de l'homéostasie de l'organisme en cas de blessure ou d'inflammation chronique par leur mobilisation dans le sang et leur recrutement dans les tissus où ils ont la capacité de se différencier en macrophages. Depuis les années 1970, l'étude du contrôle exercé par le métabolisme sur la survie, la fonction et le devenir des cellules immunitaires, et plus particulièrement des macrophages, impliqués dans de nombreuses pathologies cardio-métaboliques, a gagné un grand intérêt auprès de la communauté scientifique. Cependant, les données recueillies sur l'impact du métabolisme sur les monocytes restent très limitées. De façon intéressante à l'état physiologique, le nombre de monocytes dans la circulation sanguine varie au cours de la journée. De plus, nous avons mis en évidence une corrélation entre le nombre de monocytes présents dans la circulation et les taux d'acides gras circulants au cours de la journée. Ainsi, durant ma thèse je me suis intéressée à l'étude de la potentielle causalité qui unit ces deux phénomènes et plus particulièrement à l'impact des métabolites énergétiques tels que les acides gras sur le contrôle des monocytes. Pour ce faire, nous avons utilisé un modèle murin génétiquement déficient pour l'enzyme clé responsable de la libération des acides gras à travers la lipolyse du tissu adipeux, appelée Atgl. Nous avons pu mettre en évidence que l'altération de la lipolyse du tissu adipeux entraîne un stress et une inflammation chronique spécifique du tissu adipeux brun, associés à un recrutement local massif des monocytes de façon dépendante de l'expression du récepteur aux chimiokines CCR2. Le recrutement accru des monocytes dans le tissu adipeux brun est également associé à une diminution des taux de monocytes dans la circulation sanguine. Cependant chez ces souris, nous n'avons pas observé d'altération du compartiment médullaire, siège de l'hématopoïèse et de la production des cellules sanguines. Nos résultats permettent ainsi de mettre en évidence l'importance de la lipolyse ainsi que du recrutement des monocytes sur le maintien de l'homéostasie du tissu adipeux brun.

Mots clés : Monocytes, Tissus adipeux, Lipolyse, Acides gras, Métabolisme, ATGL

Abstract

Adipose tissue lipolysis controls monocyte homeostasis

Monocytes are key players in innate immunity mechanisms. They originate from the bone marrow and contribute to the whole-body homeostasis maintenance by being mobilized to the blood circulation in case of injury or chronic inflammation for example. There, monocytes can either stay in the blood circulation, or be recruited to peripheral tissues where they can differentiate into macrophages. Since the 70's the metabolic control of immune cell survival, function and fate, mostly in macrophages that are involved in numerous cardio-metabolic diseases, gained great interest from the scientific community. However, the monocyte-specific metabolic control is still ill-defined. Interestingly, in steady state, blood monocyte numbers oscillate throughout the day on a 24h basis. Moreover, we highlighted a correlation between circulating monocyte number oscillation pattern and fatty acid levels during the day. Therefore, during my Ph.D. I focused on deciphering the possible causality that unites those phenomena and more particularly on studying the impact of energetic metabolites such as fatty acids on the control of monocytes. In this purpose, we generated a genetic mouse model deficient for the lipolysis adipose tissue key enzyme, namely Atgl. Here, we show that the inhibition of adipose tissue lipolysis leads to stress and specific chronic inflammation in the brown adipose tissue, associated to a local monocyte recruitment in a CCR2-dependant manner. This brown adipose tissue monocyte recruitment was paralleled to a decrease in blood monocyte numbers. However, we failed to see alterations in the bone marrow compartment, responsible for hematopoiesis and blood cell production. Thus, we highlighted the major role of adipose tissue lipolysis and monocyte recruitment on brown adipose tissue homeostasis.

Key words: Monocytes, Adipose Tissue, Lipolysis, Fatty acids, Metabolism, ATGL

A mon grand-père ...

... Audaces fortuna juvat

Remerciements

Aux membres du jury,

Je tiens tout d'abord à remercier le Docteur **Abdelilah Wakkach** d'avoir accepté de présider mon jury de thèse. Merci à mes rapporteurs, Docteur **Maryse Guerin** et Docteur **Benoit Pourcet** pour le temps précieux accordé à l'évaluation de mon travail. Merci également à mes examinateurs, Docteur **Florence Apparilly** et Docteur **Nicolas Ventelef**, merci d'avoir accepté de discuter de mes travaux et d'apporter votre expertise lors de ma soutenance de thèse.

Aux membres de mon comité de suivi de thèse,

Merci au Docteur **Hélène Duez** et au Docteur **Julien Cherfils** d'avoir fait partie de mon comité de suivi de thèse. Merci pour le temps que vous m'avez accordé pendant ces 3 années et pour vos précieux conseils qui m'ont permis d'évoluer tout au long de ma thèse. Merci **Julien** d'avoir également accepté d'être présent le jour de ma soutenance de thèse marquant la fin de cette aventure si enrichissante.

A mes acolytes,

Tout d'abord **Stoyan**, merci infiniment de m'avoir prise sous ton aile, d'avoir cru en moi pour mener à bien ce projet et de m'avoir encadrée durant ces trois années. Merci de la confiance et de la liberté que tu m'as accordée tout au long de ma thèse. Je suis fière d'avoir eu l'occasion d'évoluer et de débiter ma carrière à tes côtés. Je te souhaite le meilleur dans la création de ton équipe, plein de papiers et de financements ! Tes blagues vont me manquer !

Laurent, merci de m'avoir permis de faire partie de cette aventure, merci d'avoir cru en mon potentiel et de m'avoir fait confiance. Merci pour ton oreille attentive, ta patience et tes conseils avisés. Merci pour ta gentillesse et ta pédagogie qui font qu'apprendre à tes côtés est si enrichissant.

Rodolphe, je te remercie particulièrement pour l'énorme appui que tu nous as apporté à Stoyan et à moi dans notre réflexion scientifique. Merci pour tes conseils. Je penserais à toi à chaque fois que j'entendrais du Johnny Cash...

Alexandre, un immense merci pour ton aide durant cette fin de thèse, tu es un bosseur qui ne mérite que de réussir. Que ta thèse ne soit faite que du meilleur ! Et t'inquiète pas, un jour Stoyan aussi perdra ses cheveux !

Johanna, petit caillou, tout d'abord félicitations pour ta soutenance de thèse Docteur Merlin ! Et merci pour tout ! Merci pour ton soutien infailible durant ces 3 ans côte à côte dans le même bateau. Merci d'avoir ramé avec moi dans l'adversité, merci pour ta gentillesse, merci pour ces nombreux fou-rires et merci pour tes délicieuses lasagnes. Je te souhaite de tout déchirer pour la suite de ta carrière. *Forever in the blouse*

Adélie, à peine arrivée tu as amené une tempête de fraîcheur dans le labo. Ta bonne humeur et ta volonté font de toi une personne super motivante et je suis très heureuse que tu aies atterri dans notre équipe. Tu as donné un souffle nouveau à ce labo en un temps record.

Alexia, merci pour ces génotypages interminables que tu as pris à bras le corps, tu vas avoir un sacré boulot avec toutes les lignées de l'équipe 13 alors je te donne tout mon courage et te souhaite tout plein de belles choses ☺

Nathalie, la reine de la microscopie, merci pour tes conseils et ton aide précieuse. Je pense qu'avec tous les paniers de légumes que tu as pris au C3M tu dois être la personne la plus vitaminée que je connaisse ! Prend soin de toi.

Narges, tu es arrivée au plus fort de l'action en pleine finition de l'article et je te remercie infiniment pour ton aide. Merci pour les heures que tu n'as pas comptées, et pour ta facilité d'adaptation à notre rythme endiablé. J'aurais aimé qu'on ait plus de temps pour se connaître mais je sais que tu es et sera un atout de poids indéniable dans la future équipe de Stoyan.

Thibaut, bienvenue dans l'équipe 13. On n'aura pas eu beaucoup l'occasion d'échanger mais je te souhaite le meilleur pour la suite de tes projets.

Bastien, un merci tout particulier pour ta soif d'apprendre si contagieuse et ta bonne humeur communicative. Tu es destiné à faire de très belles choses, je n'en ai aucun doute !

Emma et Florent, je vous souhaite beaucoup de réussite dans la poursuite de vos thèses respectives. Le chemin est long mais très riche et la destination vaut le détour !

Marion, notre si belle tique, merci pour ton aide précieuse depuis notre rencontre. Merci pour ton rire et tes frayeurs qu'on entend depuis l'autre bout du couloir et surtout merci pour ton incommensurable gentillesse et ton soutien.

Julie et Gaël, merci d'avoir fait un bout de chemin avec nous et d'avoir fait partie de cette famille. Je vous souhaite le meilleur.

A ceux qui m'ont permis de me lancer

Au Docteur **Massimo Mantegazza** et son équipe qui m'ont chaleureusement accueillie et tout particulièrement le **Docteur Fabrice Duprat** qui m'a fait confiance pour mon premier stage de master. Tu m'as appris la réflexion scientifique et l'autonomie. Merci de m'avoir montré que

j'étais capable et d'avoir cru en moi, merci pour ta bonne humeur sans faille. J'ai été très fière d'apprendre à tes côtés. Je n'oublie évidemment pas le Docteur **Sarah Zerimech** qui à l'époque débutait sa thèse et nos nombreuses discussions sur le métier de chercheur et qui a contribué à confirmer ma motivation à faire ce si beau métier. Je te souhaite un avenir radieux.

Au Docteur **Hélène Marie** et sa super équipe. Un grand merci aux Docteurs **Ingrid Bethus** et **Anna Rita Peireira** de m'avoir permis de découvrir le comportement animal et d'avoir cru en moi. Merci Ingrid de m'avoir permis de découvrir la chirurgie à tes côtés, merci infiniment pour ta confiance, ta patience et ta pédagogie. Tu m'as transmis ton amour pour les animaux et ta rigueur scientifique. Tu seras toujours un exemple pour moi.

A tous ceux dont j'ai croisé la route pendant ces trois années,

Merci aux chercheurs et doctorants avec qui j'ai eu la chance de discuter de science (ou pas) au détour d'un couloir. Merci au Docteur **Stephan Clavel** pour ces discussions autour d'un (nombreux) café(s), **Océane** merci pour ta gentillesse et bon courage pour ta thèse ! Merci à l'équipe 8 et tout particulièrement aux Docteurs **Philippe Gual**, **Pierre**, **Débo**, **Elodie**, à **Marina** et à **Marion**. Je suis très heureuse d'avoir été votre voisine pendant ces trois années. **Sébastien**, troudu, merci pour ces discussions improbables, ces diagnostics un peu aléatoires et ton humour un peu pourri qu'on aime tant.

Merci aux gestionnaires et en particulier **Carole** pour son aide essentielle, ses bonbons et chocolats, merci à **Dominique V.** pour ton sourire et ta bonne humeur, avec toi recevoir un colis c'est toujours beaucoup plus sympa ! Merci aux responsables des différentes plateformes, **Marie** et **Maëva** pour la microscopie, **Fred** pour la cytométrie et merci évidemment à **Véronique C.** et tout le personnel de l'animalerie. Vous faites un travail énorme sans lequel nous ne pourrions avancer.

A mes amis de toujours,

Marine, ma Georgia Nicholson préférée, une des plus belles et improbables rencontres que j'ai eu l'occasion de faire dans ma vie. Merci pour ton soutien indéfectible, nos sorties shopping et nos sessions chant-guitare qui réchauffent le cœur. May the 4th always B with U...

Khalil et **Ugo**, impossible de ne pas penser à vous, même si j'ai essayé. Merci pour votre bonne humeur, et ces soirées passées avec le cerveau à côté. On dirait pas comme ça mais vous êtes au top ☺ .

Mon thiazzy, mon kiika, mon yumie, Anthony, Erdal, Steeven, ma guilde de super-héros, mon boys-band, ma deuxième famille, merci d'être toujours prêts pour l'aventure après toutes ces années. Je vous aime d'amour !

A ma famille,

Mes parents, vous avez cru en moi dès le début et m'avez toujours encouragé dans ce long projet. Vous m'avez toujours dit qu'on s'épanouit en faisant ce qu'on aime et vous aviez raison. Merci pour tout.

Romain, merci tout simplement d'être mon grand frère. Merci pour tous tes conseils et l'exemple que tu représentes.

Julie, ma sœur quasi-jumelle, merci pour ton soutien à toute heure de la journée (ou de la nuit). Merci de croire en moi et de me pousser à faire de mieux en mieux. Merci pour l'exemple de force et de détermination que tu es. Je te souhaite d'être la meilleure réalisatrice Hollywoodienne des temps modernes.

Et à tous ceux que je n'ai pas cités mais que je n'oublie pas...

... Merci

Publications

Revue publiées :

Metabolism Plays a Key Role during Macrophage Activation. Marion I. Stunault, Gaël Bories, Rodolphe R. Guinamard and Stoyan Ivanov. Mediators of inflammation, 2018, Volume 2018, Article ID 2426138. (Stunault et al., 2018)

Contribution : Recherches bibliographiques ; écriture du manuscrit ; design des illustrations.

Myeloid Cell Diversity and Impact of Metabolic Cues during Atherosclerosis. Marion I. Stunault*, Alexandre Gallerand*, Johanna Merlin*, Rodolphe R. Guinamard, Laurent Yvan-Charvet, Stoyan Ivanov. Immunometabolism. 2020;2(4):e200028 (Stunault et al., 2020)

Contribution : Recherches bibliographiques ; écriture du manuscrit ; design des illustrations.

Articles publiés :

Mesothelial cell CSF1 sustains peritoneal macrophage proliferation. Stoyan Ivanov*, Alexandre Gallerand*, Marilyn Gros, Marion I. Stunault, Johanna Merlin, Nathalie Vaillant, Laurent Yvan-Charvet, Rodolphe R. Guinamard. European Journal of Immunology, 2019, Volume49, Issue11, Pages 2012-2018. (Ivanov et al., 2019)

Contribution : Génération de la lignée murine ; prélèvement et préparation des tissus ; cytométrie en flux ; édition du manuscrit.

A two-hit story: Seizures and genetic mutation interaction sets phenotype severity in SCN1A epilepsies. Ana Rita Salgueiro-Pereira, Fabrice Duprat, Paula A Pousinha, Alexandre Loucif, Vincent Douchamps, Cristina Regondi, Marion Ayrault, Martine Eugie, Marion I Stunault, Andrew Escayg, Romain Goutagny, Vadym Gnatkovsky, Carolina Frassoni, Hélène Marie, Ingrid Bethus, Massimo Mantegazza. Neurobiology of disease, 2019, 125:31-44. (Salgueiro-Pereira et al., 2019)

Contribution (Projet de Master 2) : Tests comportementaux et analyses (Piscine de Morris, interaction sociale, reconnaissance d'objets, activité locomotrice en champ ouvert) ; induction de crises épileptiques par hyperthermie et inhalation de Flurothyl ; Implantations crânielles

d'électrodes et analyse d'électrocorticogrammes ; caractérisation de l'intensité des crises épileptiques ; coupes de l'hippocampe ; maintien de la lignée murine.

Article soumis :

Adipose Tissue Lipolysis Regulates Monocyte Pool Dynamics in a Circadian Manner.

Marion I. Stunault, Alexandre Gallerand, Johanna Merlin, Hannah P. Luehmann, Deborah Sultan, Narges Khedher, Antoine Jalil, Bastien Dolfi, Alexia Castiglione, Marion Ayrault, Nathalie Vaillant, Jérôme Gilleron, Mathias Mack, David Masson, Yongjian Liu, Rodolphe R Guinamard, Laurent Yvan-Charvet¹ and Stoyan Ivanov. (Soumis à *Journal of Experimental Medicine*)

Contribution : Génération et maintien de la lignée murine et demandes de Ciepal, prélèvements et préparation des tissus ; cytométrie en flux et analyses ; analyses génomiques (qPCR, PCR, western blot) ; histologie et immunohistochimie ; microscopie (Confocale et *wild field*) ; dosages (colorimétriques et tests Elisa) ; écriture du manuscrit, figures et légendes, design des expérimentations.

Non-canonical transamination metabolism of glutamine sustains efferocytosis by coupling oxidative stress buffering to oxidative phosphorylation. Johanna Merlin, Stoyan Ivanov, Alexei Sergushichev, Julie Gall, Marion I. Stunault, Marion Ayrault, A. Swain, F. Orange, Alexandre Gallerand, Emmanuel L. Gautier, T. Berton, J.C Martin, S. Carobbio, J. Masson, I. Gaisler-Salomon, P. Maechler, S. Rayport, J.C. Sluimer, EAL. Biessen, Rodolphe R. Guinamard, Ed. B Thorp, Maxym N. Artyomov, Laurent Yvan-Charvet. (Soumis à *Nature metabolism*)

Contribution : Prélèvements et préparation des tissus ; cytométrie en flux ; culture cellulaire primaire de BMDM ; analyse de la respiration mitochondriale par Seahorse, édition du manuscrit.

Communications orales

Adipose Tissue Lipolysis Regulates Monocyte Pool Dynamic. Marion I. Stunault, Alexandre Gallerand, Johanna Merlin, Hannah P. Luehmann, Deborah Sultan, Narges Khedher, Antoine Jalil, Bastien Dolfi, Alexia Castiglione, Marion Ayrault, Nathalie Vaillant, Jérôme Gilleron, Mathias Mack, David Masson, Yongjian Liu, Rodolphe R. Guinamard, Laurent Yvan-Charvet and Stoyan Ivanov. 3rd symposium of the occitanie network on monocytes-macrophages (SoMM). Novembre 2019, Montpellier, France.

Impact of fatty acids on monocyte dynamic. Marion I. Stunault, Johanna Merlin, Marion Ayrault, Nathalie Vaillant, Rodolphe R. Guinamard, Laurent Yvan-Charvet, Stoyan Ivanov. Nouvelle Société Française d'Athérosclérose (NSFA). **2nd prix Flash poster**, Juin 2019, Biarritz, France.

Targeting glucose metabolism to reset monocyte clock in atherosclerosis. Marion I. Stunault, Laurent Yvan-Charvet and Stoyan Ivanov. Nouvelle société française d'athérosclérose (NSFA). Flash Poster, Juin 2018, Biarritz, France

Communications affichées

Adipose Tissue Lipolysis Regulates Monocyte Pool Dynamic. Marion I. Stunault, Johanna Merlin, Marion Ayrault, Rodolphe R. Guinamard, Laurent Yvan-Charvet, and Stoyan Ivanov. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology - Integrating Metabolism and Immunity (D2), Avril 2020, Keystone, Co, USA (Résumé sélectionné).

Impact of fatty acids on monocyte dynamic. Marion I. Stunault, Johanna Merlin, Marion Ayrault, Nathalie Vaillant, Rodolphe R. Guinamard, Laurent Yvan-Charvet and Stoyan Ivanov. Nouvelle Société Française d'Athérosclérose (NSFA). Juin 2019, Biarritz, France.

Adipose tissue derived fatty acids control monocyte mobilization. Marion I. Stunault, Johanna Merlin, Marion Ayrault, Rodolphe R. Guinamard, Laurent Yvan-Charvet and Stoyan Ivanov. Journées de l'école doctorale (JEDN). **1^{er} prix poster**, Mai 2019, Nice, France.

Dormir pour un corps en bonne santé. Marion I. Stunault, Johanna Merlin, Sébastien Le Garf. Fête de la science 2019. Nice, France

Targeting glucose metabolism to reset monocyte clock in atherosclerosis. Marion I. Stunault, Laurent Yvan-Charvet and Stoyan Ivanov. Nouvelle société française d'athérosclérose (NSFA), Juin 2018, Biarritz, France

Table des matières

RESUME	3
ABSTRACT	4
REMERCIEMENTS	6
PUBLICATIONS.....	10
COMMUNICATIONS ORALES.....	12
COMMUNICATIONS AFFICHEES	13
TABLE DES MATIERES	14
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	17
LISTE DES ABREVIATIONS	18
INTRODUCTION	24
CHAPITRE 1. LE RYTHME CIRCADIEN	24
<i>a. Introduction</i>	<i>24</i>
<i>b. Nutrition et rythme circadien</i>	<i>26</i>
<i>c. Métabolisme et rythme circadien.....</i>	<i>26</i>
<i>d. Immunité et rythme circadien</i>	<i>27</i>
CHAPITRE 2. LA LIGNEE MYELOÏDE	30
<i>a. Introduction générale</i>	<i>30</i>
<i>b. Génération de la lignée myéloïde : La myélopoïèse</i>	<i>30</i>
i. Origine des cellules myéloïdes.....	30
ii. Maintien de la lignée myéloïde	32
iii. Les niches hématopoïétiques	35
<i>c. Hématopoïèse d'urgence.....</i>	<i>38</i>
CHAPITRE 3. LES MONOCYTES.....	40
<i>a. Introduction</i>	<i>40</i>
<i>b. Mobilité des monocytes.....</i>	<i>40</i>
i. Rétention et mobilisation des monocytes	40
ii. Devenir des monocytes	43
• Les monocytes inflammatoires.....	43
♦ Le contexte inflammatoire	44
• Les monocytes circulants.....	45
CHAPITRE 4. LES MACROPHAGES	48

<i>a.</i>	<i>Introduction</i>	48
<i>b.</i>	<i>Développement des macrophages tissulaires</i>	48
i.	La microglie.....	49
ii.	Les macrophages de l'intestin	51
iii.	Les cellules de Kupffer	53
<i>c.</i>	<i>Conclusion</i>	54
CHAPITRE 5.	LES TISSUS ADIPEUX.....	56
<i>a.</i>	<i>Introduction</i>	56
<i>b.</i>	<i>Distribution des tissus adipeux</i>	56
i.	Le tissu adipeux blanc	56
•	Généralités	56
♦	Le tissu adipeux blanc viscéral : le VAT	57
♦	Le tissu adipeux blanc sous-cutané : le SCAT	57
ii.	Le tissu adipeux brun	57
iii.	Particularité : Le tissu adipeux de la moelle osseuse.....	59
<i>c.</i>	<i>Les adipocytes</i>	59
•	Les adipocytes blancs	59
♦	La gouttelette lipidique	60
•	Les adipocytes beiges	60
•	Les adipocytes bruns	61
<i>d.</i>	<i>Fonctions métaboliques des tissus adipeux</i>	61
i.	Le stockage de l'énergie	62
•	La lipogenèse	62
•	Métabolisme du glucose	63
ii.	La lipolyse	66
•	ATGL, l'étape initiale.....	66
•	HSL, l'étape intermédiaire	69
•	MGL, l'étape finale	69
iii.	La thermogenèse.....	69
<i>e.</i>	<i>Régulations des tissus adipeux</i>	72
i.	Mécanismes de l'adipogenèse.....	72
ii.	Communication avec l'organisme.....	72
iii.	Macrophages du tissu adipeux	73
CHAPITRE 6.	LE METABOLISME DES CELLULES MYELOÏDES	77
<i>a.</i>	<i>Introduction</i>	77
<i>b.</i>	<i>Le glucose</i>	77
i.	Métabolisme des HSC.....	77
ii.	Métabolisme des monocytes et macrophages	78
<i>c.</i>	<i>Les acides aminés</i>	82
i.	Métabolisme des HSC	82

ii. Métabolisme des monocytes et macrophages	83
• La glutamine	83
• Les <i>branched-chain amino acids</i>	84
• L'arginine	85
<i>d. Les acides gras</i>	85
i. Métabolisme des HSC.....	86
ii. Métabolisme des monocytes et macrophages	86
• L'exemple de l'athérosclérose.....	90
• L'exemple de l'obésité.....	91
REVUES.....	93
HYPOTHESE DE TRAVAIL.....	94
RÉSULTATS	95
ANNEXE.....	146
DISCUSSION.....	147
PERSPECTIVES	153
CONCLUSION GENERALE.....	155
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	156

Table des illustrations

FIGURE 1. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE L'ORGANISATION DE L'HORLOGE CIRCADIENNE.	25
FIGURE 2. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES ETAPES DE L'HEMATOPOÏESE EMBRYONNAIRE.	31
FIGURE 3. SCHEMATISATION DE LA STRUCTURE HIERARCHIQUE CLASSIQUE DE MYELOPOÏESE ADULTE.	34
FIGURE 4. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES NICHES MEDULLAIRES.....	36
FIGURE 5. REPRESENTATION SCHEMATIQUE MORPHOLOGIQUE DE LA RATE.	39
FIGURE 6. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA MOBILITE MONOCYTAIRE MURINE.	42
FIGURE 7. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA DISTRIBUTION INTESTINALE DES MACROPHAGES.	52
FIGURE 8. REPARTITION DES DIFFERENTS DEPOTS DE TISSU ADIPEUX CHEZ L'HOMME.	58
FIGURE 9. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU STOCKAGE DE L'ENERGIE PAR LE TISSU ADIPEUX.	64
FIGURE 10. IMPORTANCE DU METABOLISME DANS LE TISSU ADIPEUX BRUN.	65
FIGURE 11. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA LIPOLYSE DU TISSU ADIPEUX.....	68
FIGURE 12. LES MACROPHAGES DU TISSU ADIPEUX.	76
FIGURE 13. METABOLISME DU GLUCOSE DANS LES MACROPHAGES.	81
FIGURE 14. METABOLISME DE L'OXYDATION DES ACIDES GRAS DANS LES MACROPHAGES.....	89
TABLEAU 1. TABLEAU COMPARATIF DES MONOCYTES MURINS.....	47
TABLEAU 2. TABLEAU COMPARATIF DES MACROPHAGES RESIDENTS TISSULAIRES.....	55

Liste des abréviations

α -KG	α -ketoglutarate
β -AR	Récepteur β -adrénergique
A	
A- β	Amyloïde- β
AA	Acide aminé
ACS	Acyl-CoA synthétase
AD	Maladie d'Alzheimer
AG	Acide gras
AGM	Axe aorte-gonade-mésonephros
AKT	Protéine kinase B, PKB
AMPK	Adenosine monophosphate-activated protein kinase
Arg1	Arginase 1
AT	Tissu adipeux
ATGL	Adipose triglyceride lipase
ATM	Macrophage du tissu adipeux
B	
BAT	Tissu adipeux brun
BBB	Barrière hémato-encéphalique
BCAA	Branched-chain amino acids
BCKA	Branched-chain ketoacids
BeiAT	Tissu adipeux beige
Bmal1	Brain and Muscle ARNT-Like 1
BMAT	Tissu adipeux médullaire
C	
c-Kit	CD117
C/EBP	CCAAT-enhancer-binding proteins
CAR	CXCL12-abundant reticular
cBMAT	Constitutif BMAT
CCR2	C-C chemokine receptor type 2

CD14+ CD16-	Monocytes humains classiques
CD14+ CD16+	Monocytes humains intermédiaires
CD14 ^{low} CD16+	Monocytes humains non classiques
CGI-58	Comparative Gene Identification-58, ABHD5
Clec 2	C-type lectin-like receptor 2
Clec4F	C-Type Lectin Domain Family 4 Member F
Clock	Circadian locomotor output cycles kaput
CLS	Crown-like structure
cMoP	Précurseur commun des monocytes
CMP	Précurseur commun des cellules myéloïdes
Co-A	Co-enzyme A
CPT	Carnitine palmitoyl transferase
Cry	Cryptochrome
CSF	Colony stimulating factor
CSF-1R	Colony stimulating factor receptor
CXCL12	SDF-1 ligand de CXCR4
CXCL4	C-X-C motif ligand 4, PF4
CXCR4	Récepteur de CXCL12
D	
DAMP	Damage Associated Molecular Pattern
DG	Diacylglycérol
DLL1	Delta-Like 1
E	
EMP	Précurseur érythro-myéloïde
F	
FABP	Fatty acid binding protein
FADH2	Flavine adénine dinucléotide
FAO	Oxydation des acides gras
FATP	Transporteur des acides gras
FFAR	Free fatty acid receptor
FGF	Facteur de croissance des fibroblastes
G	

G6P	Glucose 6 phosphate
GLS1	Glutaminase
GLUT	Glucose transporter, SLC
GMP	Précurseur des granulocytes-macrophages
GyK	Glycérol kinase
H	
HDL	High density lipoprotein
Hif-1 α	Hypoxia-inducible factor 1 alpha
HIV	Virus de l'immunodéficience humaine
HSC	Cellule souche hématopoïétique
HSL	Hormone-sensitive lipase
I	
ICAM	Intercellular adhesion molecule, CD54
ID3	Inhibitor of DNA binding 3
IL	Interleukine
iNOS	inducible nitric oxide synthase, NOS2
IR	Récepteur à l'insuline
IRF8	Interferon regulatory factor 8
K	
KLF4	Kruppel-like factor 4
L	
LCFA	Acide gras à longue chaîne
LDH	Lactate-déshydrogénase
LDL	Low density lipoprotein
LepR	Récepteur à la leptine
LFA-1	Lymphocyte Function Associated antigen-1
LMP	Précurseur lympho-myéloïdes
LMPP	Précurseur multipotent des cellules lymphoïdes
LPL	Lipoprotein lipase
LPS	Lipopolysaccharide
Ly6C ^{high}	Monocytes murins classiques pro-inflammatoire
Ly6C ^{low}	Monocytes murins non classiques circulants

M

MCFA	Acides gras à chaîne moyenne
MDP	Précurseur des monocytes et cellules dendritiques
MG	Monoacylglycérol
MGL	Monoacylglycerol lipase
MMPP	Précurseur multipotent des cellules myéloïdes
Mo-Mac	Macrophage dérivé des monocytes
MPP	Précurseur multipotent
MSC	Cellule souche mésenchymateuse
mTORC	mechanistic target of rapamycin complex

N

NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NE	Norépinephrine
NLRP3	NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3, NALP3
NLSDM	Neutral lipid storage disease with myopathy, Maladie de Dorfman-Chanarin
NO	Oxyde nitrique
NOD2	Nucleotide-binding oligomerization domain 2
Notch2	Neurogenic locus notch homolog protein 2
Nr4a1	Nur77

O

Ox-LDL	LDL oxydés
OXPPOS	Phosphorylation oxydative

P

P2ry12	Purinergic Receptor P2Y12
PDH	Pyruvate déshydrogénase
PDL1	Programmed death ligand 1
Per	Period circadian protein homolog
PKA	Protéine kinase A
PNPLA2	Patatin-like phospholipase domain-containing protein 2
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptor
PPP	Voie des pentoses phosphates

PU.1	Protéine codée par le gène SPI1
R	
rBMAT	Régulated BMAT
ROS	Reactive oxigen species
RvE1	Resolvin E1
S	
Sall1	Spalt Like Transcription Factor 1
SatM	segregated-nucleus-containing atypical monocytes
Sca1	Ly6A/E
SCAT	Tissu adipeux sous-cutané
SCFA	Acide gras à chaine courte
SCN	Noyaux supra-chiasmatisques
SLC1A5	Solute carrier family 1 member 5, ASCT2
SLC2A5	Solute carrier family 2 member 5, GLUT5
SNC	Système nerveux central
SVF	Fraction vasculaire stromale
T	
TCA	Cycle de Krebs
TG	Triacylglycérol
TGF	Tumor growth factor
Tim4	T Cell Immunoglobulin And Mucin Domain Containing 4
TLR	Toll-Like receptor
TMEM119	Transmembrane Protein 119
TNF	Tumor necrosis factor
U	
UCP1	Uncoupling protein 1
V	
VAT	Tissu adipeux viscéral
VLDL	Very low density protein
W	
WAT	Tissu adipeux blanc

Introduction

Chapitre 1. Le rythme circadien

a. Introduction

Du latin *circa diem* (environ un jour), le rythme circadien permet à notre organisme d'anticiper les changements relatifs à la rotation de la Terre comme le cycle jour/nuit. Ce rythme est régulé et dicté à toutes les cellules de notre corps par l'horloge centrale localisée au niveau du cerveau dans les noyaux supra-chiasmiques de l'hypothalamus (SCN) (Figure 1) (Vadnie and McClung, 2017). Chez les animaux diurnes comme l'Homme par exemple, l'attention et les fonctions cognitives sont actives pendant la journée, tandis que la nuit seront régulées les phases de sommeil et la consolidation de la mémoire. Chez les animaux nocturnes comme la souris, ces rythmes sont inversés. Les SCN régissent de façon autonome le rythme circadien de l'organisme tel un pacemaker afin de synchroniser chacune des cellules qui le composent. Les indices lumineux sont transmis directement aux SCN par des innervations rétiniennes. Les SCN transmettent alors ces indices environnementaux aux autres régions du cerveau ainsi qu'aux organes périphériques comme le foie, le muscle ou encore le tissu adipeux à travers des connexions neuronales (Vujović et al., 2008), ainsi que par des signaux endocrines (Fred W. Turek et al., 2000). A plus petite échelle, chacun des organes de notre corps possède une horloge interne, périphérique, qui s'adapte également en fonction des signaux tels que la prise de nourriture (Damiola, 2000 ; Stokkan, 2001) et la température (Buhr et al., 2010), et qui informe sur l'état énergétique des cellules et le statut métabolique à adopter (Figure 1).

Cependant, notre mode de vie moderne alliant lumière artificielle, décalages horaires provoqués par des voyages plus accessibles et plus nombreux, ou encore le travail en horaire décalé, peut altérer ce rythme circadien. De nombreuses études montrent aujourd'hui qu'une perturbation de ce rythme biologique est liée au développement de pathologies psychiatriques (Wulff et al., 2010) et du syndrome métabolique pouvant mener à de nombreuses complications telles que des maladies cardiovasculaires et du diabète de type 1 ou type 2 (Zimmet et al., 2019). Comme illustré par l'attribution du Prix Nobel de médecine et physiologie en 2017 aux Drs Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash et Michael W. Young pour leurs travaux sur les mécanismes moléculaires impliqués dans le contrôle du rythme circadien, une meilleure compréhension du

rythme biologique est essentielle pour mieux appréhender le développement et le traitement de nombreuses pathologies notamment par chronothérapie.

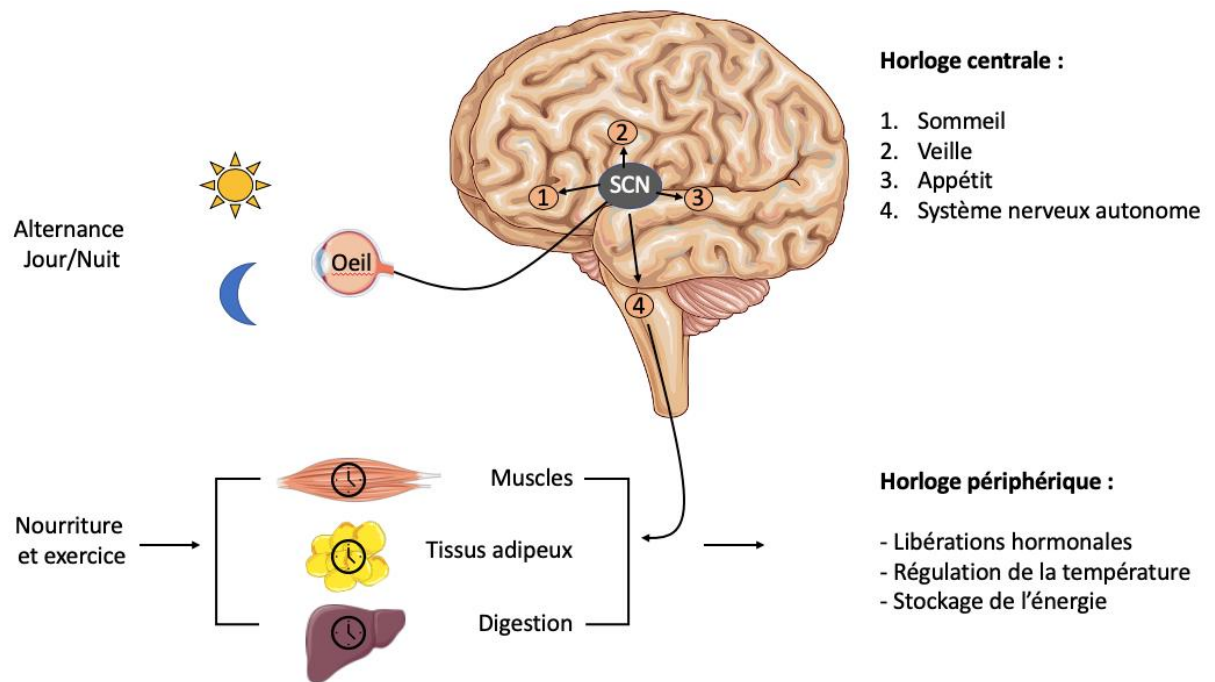


Figure 1. Représentation schématique de l'organisation de l'horloge circadienne.

La lumière du jour reprogramme l'horloge centrale au niveau des noyaux supra-chiasmatiques de l'hypothalamus (SCN) permettant l'ajustement du rythme en fonction du cycle jour/nuit. Cela permet aux horloges périphériques des différents tissus de se synchroniser pour créer un alignement interne. Ces horloges périphériques sont également capables de ressentir l'apport et le statut énergétique (i.e nourriture et exercice), permettant une régulation fine de la transcription, la traduction et de la production de métabolites. Adapté de (Hastings et al., 2018; Mayeuf-Louchart et al., 2017).

b. Nutrition et rythme circadien

En 1977, les travaux menés par Schwartz et coll. ont permis de mettre en lumière pour la première fois le lien qui existe entre nutrition et rythme circadien. En effet, des rats nourris avec du deoxyglucose radio-marqué, un analogue du glucose non métabolisable et donc traçable en imagerie, durant leur phase active la nuit, ne présentent que peu d'absorption de glucose au niveau des cellules composant les SCN. En revanche, pendant leur phase de sommeil, la journée, le deoxyglucose radio-marqué fut largement détectable (Schwartz and Gainer, 1977). Ces variations révèlent une rythmicité dans l'absorption du glucose au cours de la journée. Par ailleurs, une lésion bilatérale au niveau des SCN altère le rythme de prise de nourriture (Nagai et al., 1978). Ces premières études ont permis de mettre en évidence l'existence d'un rythme circadien contrôlant le comportement alimentaire ainsi que l'apport des nutriments dans les différents tissus à travers l'horloge centrale localisée dans les SCN. Mais il existe également une régulation circadienne cellulaire autonome, indépendante des indices lumineux externes permettant aux cellules d'accomplir leurs nombreuses fonctions de façon harmonisée au cours de la journée et de la nuit (Trott and Menet, 2018). Le rythme circadien de ces fonctions cellulaires est garanti par une boucle de régulation dépendante de quatre gènes principaux, appelés gène horloges : L'hétérodimérisation de Clock (Circadian Locomotor Output Cycles Kaput) et Bmal1 (Brain and Muscle ARNT-Like 1) entraîne la transcription de Per (Period) et Cry (Cryptochrome) qui vont à leur tour se dimériser et inhiber la transcription de Clock et Bmal1 (Reppert and Weaver, 2002). De façon intéressante, l'inhibition complète des gènes horloges Bmal1 (Yang et al., 2016), clock (Turek, 2005), ou encore Per1/2 (Thaiss et al., 2014) mène à l'altération du rythme de la prise alimentaire confirmant l'implication de l'horloge circadienne dans ce processus. Plus récemment, il a été montré chez la souris que la limitation d'accès à la nourriture pendant la journée, correspondant à leur phase de sommeil, induit en retour une reprogrammation des gènes horloge au niveau du foie, soutenant l'idée qu'il existe un impact direct et réciproque du statut nutritionnel sur l'horloge biologique (Damiola, 2000).

c. Métabolisme et rythme circadien

De nombreux processus physiologiques tels que la génération des acides gras par les adipocytes (Grimaldi et al., 2010; Zvonic et al., 2006) ou la régulation thermique de l'organisme (Chappuis et al., 2013; Gerhart-Hines et al., 2013) sont également associés à des modulations circadiennes dépendantes de l'horloge périphérique (Froy and Garaulet, 2018). La perturbation du rythme circadien adipocytaire par l'inhibition spécifique du gène Bmal1 dans les adipocytes

conduit à des altérations des niveaux d'acides gras (AG) plasmatiques au cours de la journée (Paschos et al., 2012) et ce, indépendamment des gènes de l'horloge centrale, précisant le rôle prépondérant de l'horloge interne cellulaire. Par ailleurs, l'activation de la transcription du gène horloge *Rev-erb*, régulateur négatif de *Bmal1*, par administration d'agonistes synthétiques (i.e. SR9011 et SR9009) améliore la glycémie des souris obèses ainsi que les niveaux lipidiques sanguins et diminue leur masse grasseuse (Solt et al., 2012). Au contraire, la délétion de *Rev-erb* α chez la souris entraîne l'augmentation de leur masse grasse (Delezie et al., 2012). En revanche, dans le tissu adipeux brun, la délétion de *Rev-erb* α entraîne une meilleure régulation de la température corporelle (Gerhart-Hines et al., 2013) indiquant la grande complexité et spécificité de la régulation circadienne de l'organisme.

Au sein des tissus périphériques, la famille des récepteurs nucléaires PPAR (Peroxisome proliferator-activated receptors) permet la transcription de gènes impliqués dans la régulation du métabolisme du glucose et des lipides. Son expression est dépendante du type cellulaire mais également de l'activation des gènes horloges *Clock* et *Bmal1* (Inoue et al., 2005), expliquant l'impact de la régulation circadienne sur le métabolisme. Par ailleurs, le cofacteur NADP, impliqué entre autres dans le métabolisme du glucose et la respiration mitochondriale, est également responsable de la régulation de l'expression de *Bmal1* et *Clock*, faisant de ce cofacteur un élément essentiel du lien entre métabolisme et rythme circadien. (Poggiogalle et al., 2018; Rutter et al., 2002; Serin and Acar Tek, 2019). Ensemble ces résultats montrent l'importance du rythme circadien pour le maintien de l'homéostasie de l'organisme et des fonctions tissulaires.

d. Immunité et rythme circadien

Il y a 2400 ans, Hippocrate mentionnait déjà l'importance du sommeil dans la guérison des maladies. De nos jours, l'incidence de nombreuses pathologies telles que le diabète de type 2, les maladies cardiovasculaires ou les cancers est en constante augmentation. Cependant, l'intérêt porté à l'étude de l'impact du sommeil et du rythme circadien sur l'immunité est très récent. Depuis 1990, un nombre croissant de travaux a pu mettre en évidence l'existence d'un lien entre rythme circadien et immunité dans de nombreux organismes. Chez le poisson zèbre, dans un modèle d'inflammation provoquée par une blessure à la queue, il a été mis en évidence une plus grande efficacité de recrutement des neutrophiles lorsque la blessure avait lieu la nuit. En effet, l'administration de mélatonine, hormone du sommeil, augmente la production de cytokines pro-inflammatoires, telles que la cytokine TNF- α (Tumor necrosis factor α) et

l'interleukine IL-8, responsables de l'attraction des neutrophiles jusqu'au site de l'inflammation. Ainsi, le cycle veille/sommeil a une influence sur la réponse immunitaire innée (Ren et al., 2015).

Chez la souris, l'activation de la réponse immunitaire est étroitement régulée par le rythme circadien. Suite à l'infection par le pathogène *Salmonella enterica serovar Typhimurium* (S. Typhimurium) par exemple, la réponse inflammatoire est plus importante en début de nuit, pendant leur phase active. En effet, les fonctions des cellules immunitaires telles que la production de cytokines mais également leur capacité d'élimination des débris par la phagocytose et leur réponse face à une invasion sont dépendantes des oscillations circadiennes (Gibbs et al., 2012; Kitchen et al., 2020). Lors de la réponse inflammatoire, l'activation de l'inflammasome NLRP3 (NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3, NALP3) permet la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine IL1- β ou l'IL-18 par les cellules immunitaires suite à la détection de signaux de danger. Cette activation est dépendante de l'expression de Rev-erba (Pourcet et al., 2018). De même, la mutation du gène horloge Clock chez la souris entraîne une altération de la production de cytokines pro-inflammatoires par les cellules immunitaires (Bellet et al., 2013). En effet, de nombreuses cytokines présentent des variations circadiennes (Carter et al., 2016) à l'image du TNF- α ayant un pic d'expression préférentiellement le matin.

Chez l'Homme, une étude sur la restriction du sommeil a pu mettre en évidence la présence d'un nombre plus important de globules blancs dans le sang des hommes ayant subi un rythme de sommeil altéré. De façon intéressante, après un retour à un rythme de sommeil physiologique, le nombre de globules blanc dans le sang n'était toujours pas rétabli chez ces hommes suggérant que les perturbations du rythme circadien pourraient avoir un impact important sur l'homéostasie des cellules immunitaires (Lasselin et al., 2015). Ces résultats montrent ainsi la persistance des modifications des rythmes biologiques sur le long terme et indiquent l'importance de la mise en place d'une chronothérapie pour une meilleure prise en charge des patients et une meilleure réponse aux traitements. Dans cette ligne, une importante étude publiée en 2018 par Ye *et coll.* établit le lien qui existe entre l'expression des gènes horloges et les gènes impliqués dans les thérapies contre de nombreux cancers (Ye et al., 2018). Par ailleurs, il a été démontré que le travail en horaires décalés augmente le risque de développer des maladies cardiovasculaires (Knutsson et al., 1999; Lin et al., 2014; Morris et al., 2016; Sugiura et al., 2020). De façon très intéressante, l'inversion brève du rythme circadien sur une période de 24h, de façon similaire à un travail de nuit, entraîne une augmentation de la pression

sanguine, facteur de risque dans le développement des maladies cardiovasculaires, ainsi que l'augmentation des marqueurs pro-inflammatoires (Morris et al., 2016). Ainsi, les études menées sur le sujet ont permis d'améliorer considérablement la compréhension de la régulation circadienne des cellules immunitaires et leurs fonctions. En condition physiologique, les cellules immunitaires sont en effet plus abondantes pendant la période de repos dans la circulation sanguine (i.e. la journée chez la souris, et la nuit chez l'Homme), puis vont pouvoir intégrer les tissus préférentiellement en début de phase active (Nguyen et al., 2013; Scheiermann et al., 2012). Cette mobilité est notamment permise grâce à la production de chimiokines dont l'expression est également régulée de façon circadienne et qui seront détaillées dans la suite du manuscrit (Gibbs et al., 2012). Ces résultats confirment donc l'importance d'inclure la chronothérapie dans le traitement des pathologies telles que les cancers et les maladies métaboliques.

Chapitre 2. La lignée myéloïde

a. Introduction générale

Les cellules immunitaires représentent la principale défense de l'organisme contre les pathogènes qui peuvent perturber son homéostasie. On distingue deux grands types de cellules immunitaires : les cellules de la lignée myéloïde et les cellules de la lignée lymphoïde. Granulocytes, éosinophiles, monocytes, cellules dendritiques ou encore macrophages sont les cellules majeures de la lignée myéloïde. Le recrutement de ces cellules sur le lieu de l'inflammation est très rapide et compose la première réponse immunitaire, aussi appelée réponse immunitaire innée. La seconde phase de la réponse immunitaire, la réponse immunitaire adaptative, fait intervenir les cellules lymphoïdes. Les lymphocytes B et T sont alors activés pour contribuer à une réponse immunitaire plus spécifique mais aussi plus lente. Dans ce manuscrit, nous nous intéresserons plus particulièrement au développement des cellules myéloïdes qui composent la réponse immunitaire innée.

b. Génération de la lignée myéloïde : La myélopoïèse

i. Origine des cellules myéloïdes

L'hématopoïèse (du grec haímatos = sang, et poíêsis = création) est le processus selon lequel les éléments figurés du sang, tels que les cellules myéloïdes, sont générés. Son initiation a lieu au niveau du sac vitellin lors de la troisième semaine de gestation chez l'Homme et du huitième jour embryonnaire chez la souris (Palis, 2001). L'hématopoïèse qui prend place à ce stade peut être divisée en trois étapes principales (Figure 2). C'est dans la première étape, au niveau des îlots sanguins du sac vitellin (Figure 2) que sont générés les précurseurs des macrophages. Ces derniers se différencient alors en pré-macrophages puis en macrophages « primitifs » composant la microglie du cerveau (Alliot et al., 1999). Dans un second temps, les précurseurs des lymphocytes T et B, appelés précurseurs lympho-myéloïdes (LMP), ainsi que les précurseurs érythro-myéloïdes (EMP) à l'origine des monocytes fœtaux, donnant naissance aux macrophages résidents des tissus, se développent au niveau de la vasculature du sac vitellin (Görgens et al., 2014; Kumar et al., 2019). Enfin, la troisième étape est caractérisée par la génération des pré-cellules souches hématopoïétiques (pre-HSC) dans la région de l'axe aorte-gonade-mésonephros (AGM) de l'embryon (Figure 2) (Ivanovs et al., 2014; Medvinsky and Dzierzak, 1996). Ces différents précurseurs, LMP, EMP et pre-HSC, vont ensuite coloniser le

foie fœtal qui deviendra l'organe principal de l'hématopoïèse jusqu'à la fin de la gestation (Popescu et al., 2019) (Figure 2). LMP et EMP sont alors les précurseurs pour la génération des différentes lignées cellulaires. Les pré-HSC quant à eux deviennent des HSC matures qui vont ensuite à leur tour coloniser la rate puis la moelle osseuse, siège de l'hématopoïèse adulte (Christensen et al., 2004).

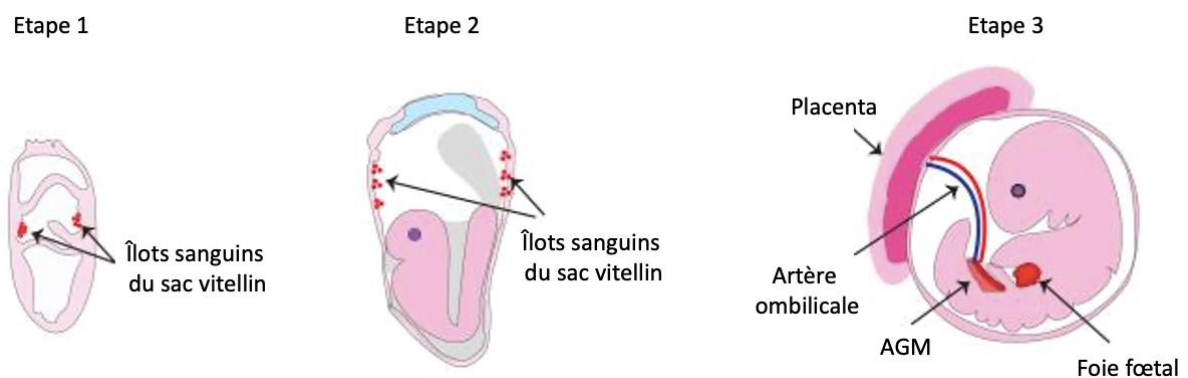


Figure 2. Représentation schématique des étapes de l'hématopoïèse embryonnaire.

Les macrophages et les érythrocytes primitifs se développent lors de la première étape de l'hématopoïèse embryonnaire au niveau des îlots sanguins du sac vitellin. Ces cellules se différencient ensuite en précurseurs lympho-myéloïdes (LMP) et érythro-myéloïdes (EMP) lors de la seconde étape. Enfin, les pré-cellules souches hématopoïétiques (pré-HSC), précurseurs des HSC adultes, se développent au niveau de l'axe aorte-gonade-mésonephros (AGM) de l'embryon. Adapté de (Nandakumar et al., 2016)

ii. Maintien de la lignée myéloïde

A l'âge adulte, les cellules myéloïdes, comme toutes les cellules du sang, sont générées principalement dans la moelle osseuse à partir de précurseurs lors de l'hématopoïèse médullaire. Au sein de la moelle osseuse résident les HSC, majoritairement à l'état de quiescence (Zhang and Sadek, 2014), caractérisés par un haut potentiel d'auto-renouveaulement. Dans le but de générer et garantir le maintien des cellules sanguines matures, les HSC ont la capacité d'induire une cascade de différenciations entraînant la génération de précurseurs de spécificité croissante (Ackermann et al., 2015). L'autorenouveaulement des HSC et leur différenciation en précurseurs se fait par division cellulaire asymétrique (Congdon and Reya, 2008). Ainsi, une HSC va donner une cellule souche identique à la cellule mère et une cellule capable d'engager un programme de différenciation, appelée précurseur.

L'identification des HSC a été possible grâce à l'expression de marqueurs spécifiques en leur surface cellulaire : le marqueur Sca1 (Stem cell antigen 1, Ly6A/E) également impliqué dans l'activation des cellules B et T, et le marqueur c-Kit (CD117), un récepteur des CSF (colony-stimulating factors), facteurs de croissance des cellules souches (Okada et al., 1992).

Les cellules de la moelle osseuse sont en étroite communication avec leur microenvironnement, appelé niche hématopoïétique (Morrison and Spradling, 2008). Notamment, la voie de signalisation Notch est essentielle au contrôle du devenir des HSC et est responsable de l'auto-renouveaulement et de la prolifération des HSC chez l'Homme comme chez la souris (Guruharsha et al., 2012; Lampreia et al., 2017). Ainsi, suite à des signaux envoyés par leur environnement et selon le modèle classique (Figure 3), les HSC se différencient en précurseurs multipotents (MPP) (Cabezas-Wallscheid et al., 2014). A ce stade, les MPP peuvent soit donner naissance à la lignée myéloïde, soit donner naissance à la lignée lymphoïde. En effet, plusieurs sous-types de MPP ont récemment été identifiés (Cabezas-Wallscheid et al., 2014). Ainsi, les LMPP (précurseurs multipotents des cellules lymphoïdes), responsables de la lignée lymphoïde, expriment le marqueur Flk2 en leur surface et sont identifiés comme les cellules Flk2⁺ Lin⁻ Sca1⁺ c-Kit⁺ (Adolfsson et al., 2005). Les MMPP (précurseurs multipotents des cellules myéloïdes) responsables de la lignée myéloïde, quant à eux n'expriment pas le marqueur Flk2 et sont identifiés comme les cellules Flk2⁻ Lin⁻ Sca1⁺ c-Kit⁺ (Pietras et al., 2015). Ici, nous ne développerons que la lignée myéloïde. L'engagement des MPP vers la lignée myéloïde dépend de facteurs de croissance ainsi que de facteurs de transcriptions tels que PU.1 (Spi-1), IRF8 (Interferon regulatory factor 8), ou encore KLF4 (Kruppel-like factor 4) (Kurotaki et al., 2013; McKercher et al., 1996; Sichen et al., 2016). Les MMPP vont ainsi se différencier

en précurseurs communs des cellules myéloïdes (CMP) puis donner naissance aux précurseurs des granulocytes-macrophages (GMP) (Hettinger et al., 2013). Ces derniers se différencient alors soit en granulocytes, soit en précurseur des monocytes et cellules dendritiques (MDP) (Zhu et al., 2016). Deux sous-types de monocytes sont alors générés par la différenciation des MDP en précurseurs communs des monocytes (cMoP), identifiés comme les cellules $\text{Lin}^- \text{c-kit}^+ \text{CX3CR1}^+ \text{Flt3}^- \text{CD115}^+ \text{Ly6C}^+$, et capables de donner naissance aux différents types de monocytes (Hettinger et al., 2013; Kawamura et al., 2017). On distingue ainsi les monocytes $\text{Ly6C}^+ \text{CD43}^{\text{low}}$ des $\text{Ly6C}^{\text{low}} \text{CD43}^+$ chez la souris (Geissmann et al., 2003), et les $\text{CD14}^+ \text{CD16}^{\text{low}}$, des $\text{CD14}^+ \text{CD16}^+$, et des $\text{CD14}^{\text{low}} \text{CD16}^+$ chez l'Homme (Ingersoll et al., 2010; Wong et al., 2011). Une fois matures, les monocytes peuvent rejoindre la circulation sanguine et participer à la réponse immunitaire innée en cas d'infection ou de blessure, et rejoindre les tissus concernés. Environ 7×10^{10} neutrophiles (Summers et al., 2010) et 7.3×10^9 monocytes (van Furth, 1980) sont ainsi générés par jour. Le devenir des monocytes sera abordé avec plus de précision dans le chapitre suivant.

Cependant, de récentes études remettent en question cette vision classique et hiérarchisée de l'hématopoïèse médullaire indiquant que la spécialisation des différents précurseurs peut être déterminée plus tôt dans la cascade de différenciation (Notta et al., 2016) en fonction de l'activation de programmes de transcription (Drissen et al., 2016; Olsson et al., 2016). De plus, Yáñez *et coll.* ont récemment démontré que les GMP ne seraient pas les précurseurs des MDP contrairement au consensus établi. De façon très intéressante, les GMP et les MDP semblent tous deux capables de donner naissance aux monocytes $\text{Ly6C}^+ \text{CD43}^{\text{low}}$, mais possèdent des caractéristiques fonctionnelles différentes selon le précurseur (Yáñez et al., 2017). Ainsi, le développement de nouvelles techniques d'analyse et de séquençage ouvre un important champ de possibilités pour approfondir les connaissances générales.

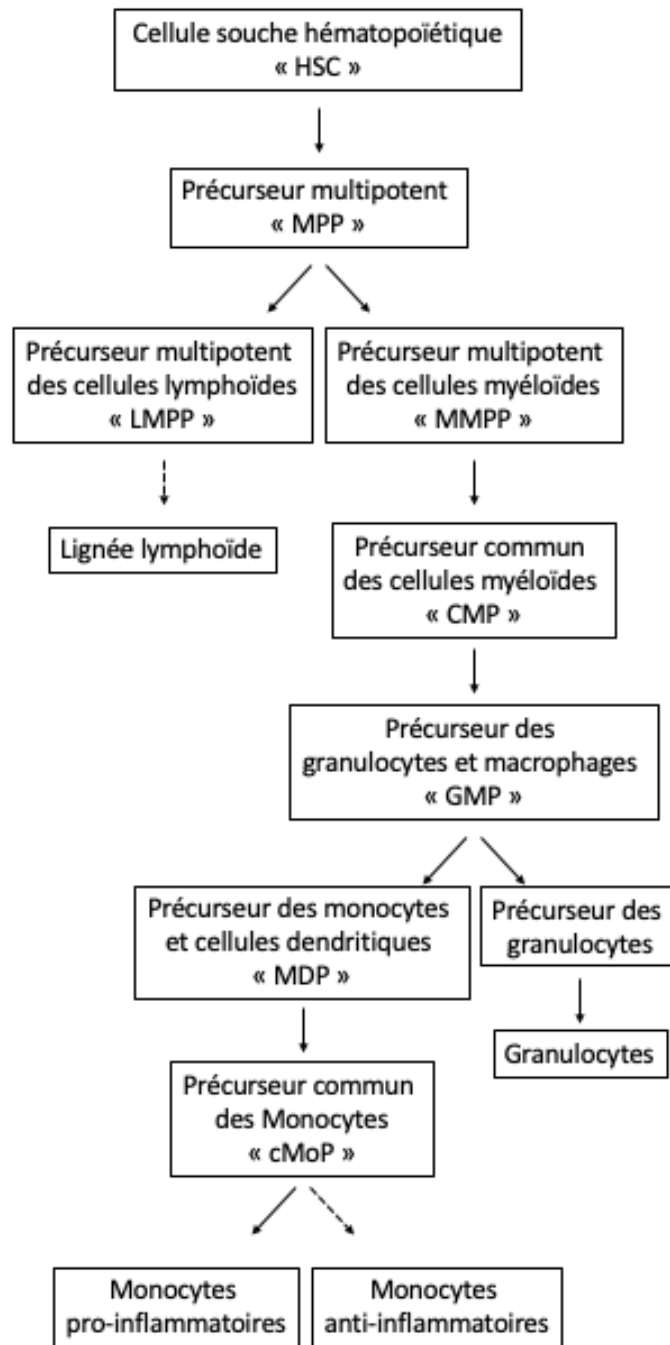


Figure 3. Schématisation de la structure hiérarchique classique de myélopoïèse adulte.

La moelle osseuse est le siège de l'hématopoïèse adulte. Les cellules souches hématopoïétiques (HSC) sont capables de se différencier en précurseurs multipotents (MPP), communs aux lignées myéloïdes (monocytes, granulocytes, cellules dendritiques) et lymphoïdes (cellules B et T). Lors de la myélopoïèse, les MPP se différencient en précurseurs multipotents des cellules myéloïdes (MMPP), qui vont à leur tour donner naissance aux précurseurs communs des cellules myéloïdes (CMP). Ces derniers se différencient ensuite en précurseurs des granulocytes et macrophages (GMP). Les lignées des monocytes et granulocytes se divisent alors pour devenir indépendantes. Les GMP se différencient donc soit en précurseurs communs des monocytes et cellules dendritiques (MDP) soit en précurseur des granulocytes. Les MDP se différencient enfin en précurseurs communs des monocytes (cMoP) responsables de la génération des monocytes matures pro-inflammatoires. La génération des monocytes anti-inflammatoires au sein de la moelle osseuse reste sujette à controverse.

iii. Les niches hématopoïétiques

Le microenvironnement joue un rôle essentiel dans le contrôle de la quiescence, la prolifération, la migration et la différenciation des HSC au sein de la moelle osseuse. La niche hématopoïétique est composée de cellules stromales mésenchymateuses périvaculaires (MSC), aussi appelées cellules souches mésenchymateuses, exprimant le récepteur à la leptine LepR (Méndez-Ferrer et al., 2010a; Pinho et al., 2013), des cellules réticulaires (CAR) abondantes en chimiokine CXCL12 (stromal cell-derived factor 1, SDF-1) (Omatsu et al., 2010), des ostéoblastes (Calvi et al., 2003; Visnjic et al., 2004), et des cellules endothéliales (Butler et al., 2010). Tous ces types cellulaires sécrètent du CSF (Acar et al., 2015; Morrison and Scadden, 2014) ainsi que la chimiokine CXCL12, deux facteurs responsables du maintien des HSC (Greenbaum et al., 2013; Nie et al., 2008; Tzeng et al., 2011). Les niveaux de CXCL12 dans la niche déterminent également la rétention et la mobilité des HSC. Il est intéressant de noter que la production de CXCL12 par les cellules de la niche hématopoïétique est régulée par les oscillations circadiennes adrénérgiques et que la diminution de CXCL12 entraîne la prolifération et la différenciation des HSC (Golan et al., 2018; Lucas et al., 2008; Méndez-Ferrer et al., 2008). Cependant, la diversité des précurseurs impliqués dans l'hématopoïèse suggère également l'existence de niches spécialisées (Tikhonova et al., 2019). De façon intéressante, l'ablation de la niche artériolaire (Figure 4) induit la relocalisation des HSC vers la niche sinusoidale (Figure 4) et entraîne ainsi la transition des HSC de l'état de quiescence vers l'état prolifératif (Kunisaki et al., 2013). Plus précisément, les ostéoblastes et les CAR semblent préférentiellement contribuer au maintien des précurseurs lymphoïdes (Ding and Morrison, 2013) tandis que les cellules endothéliales et les MSC semblent supporter le maintien des HSC dans le temps ainsi que leur mobilisation dans la circulation sanguine (Kunisaki and Frenette, 2014). La localisation des HSC semblent également être liée à leur statut métabolique. Par exemple, la production de ROS (Reactive oxygen species) par les HSC est plus importante dans la niche sinusoidale que dans la niche artériolaire, reflétant une utilisation privilégiée du glucose dans cette dernière (Itkin et al., 2016). Ainsi le destin des HSC semble être lié à leur localisation au sein des différentes niches (Figure 4).

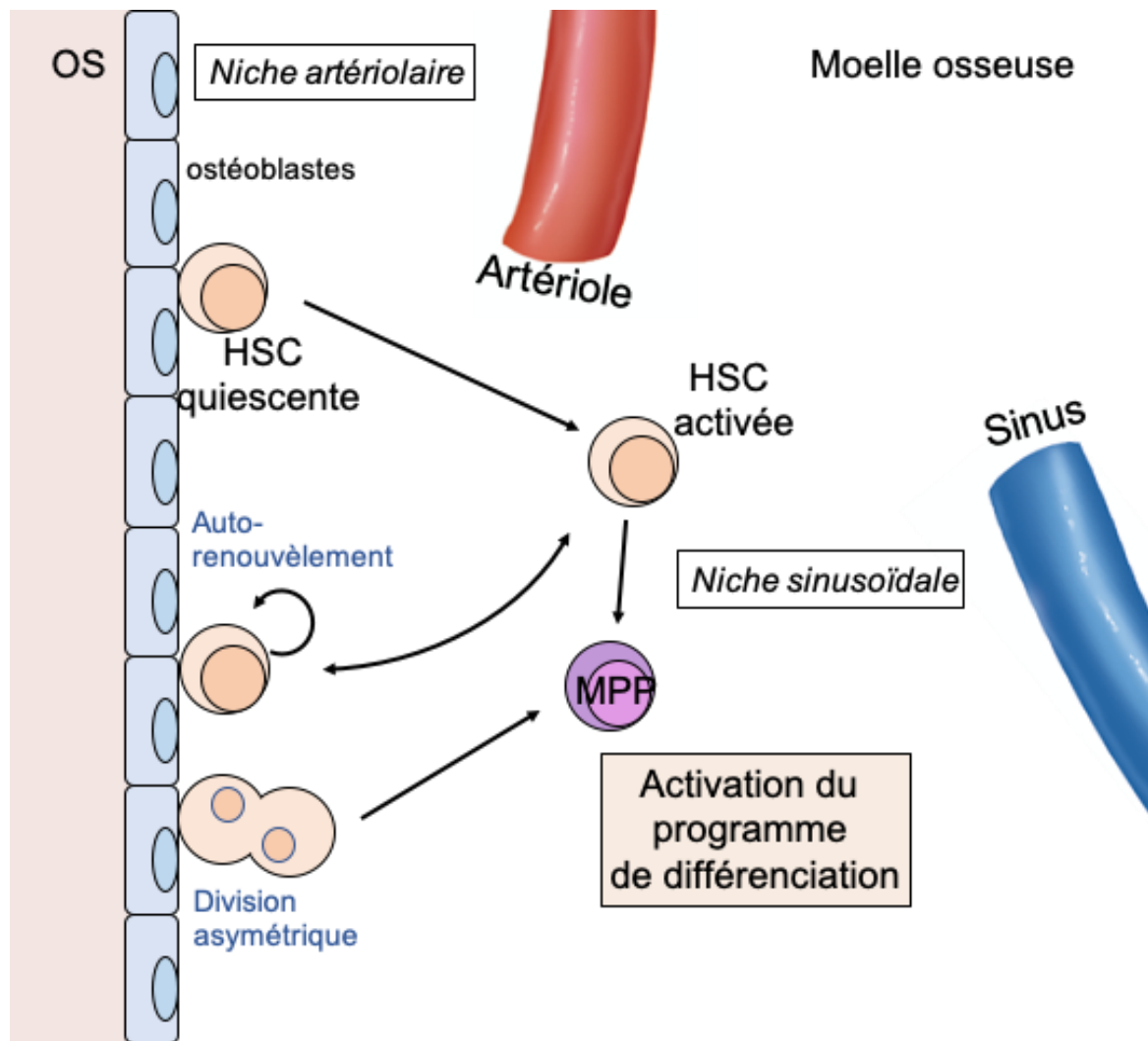


Figure 4. Représentation schématique des niches médullaires.

Les cellules souches hématopoïétiques sont à l'état de quiescence au sein de la niche artériolaire où la concentration en oxygène est la plus faible. Au contraire au sein de la niche sinusoidale, les HSC entrent dans un état prolifératif permettant la production des cellules matures sanguines. Adapté de (Wilson and Trumpp, 2006).

D'autres types cellulaires contribuent également au maintien de l'homéostasie des HSC. Une perte de fonction des ostéoclastes au sein de la niche hématopoïétique mène à une diminution de la masse osseuse associée à une altération de la taille de la niche et de l'hématopoïèse (Dai et al., 2002; Kollet et al., 2006; Mansour et al., 2012). D'autre part, les mégacaryocytes sont capables d'induire l'initiation de la prolifération des HSC à travers la production du facteur de croissance des fibroblastes (FGF-1) dans le cadre d'une myélo-ablation par chimiothérapie (Zhao et al., 2014). De plus, la production de CXCL4 (C-X-C motif ligand 4, PF4), et de TGF- β 1 (transforming growth factors β 1) par ces cellules permet le maintien des HSC à l'état de quiescence (Bruns et al., 2014; Zhao et al., 2014). Les macrophages résidents de la moelle osseuse, par leur capacité d'élimination des neutrophiles âgés, contribuent également au maintien de l'homéostasie de la niche (Casanova-Acebes et al., 2013; Winkler et al., 2010). Le maintien et la différenciation des HSC dépendent également de signaux externes comme le cycle jour/nuit faisant intervenir le système nerveux sympathique impliqué dans le contrôle de l'inflammation et de la réponse immunitaire (Curtis et al., 2014; Katayama et al., 2006; Man et al., 2016). Les ostéoclastes et les cellules stromales expriment respectivement les récepteurs β -adrénergiques β -2AR (Elefteriou et al., 2005) et β -3AR (β -adrenergic receptor) impliqués dans la régulation de la sortie des HSC de la moelle osseuse vers la circulation sanguine. La production de norépinephrine (NE) active le β -3AR, entraîne une diminution de la production de CXCL12 et mène à la sortie des HSC de la moelle osseuse (Méndez-Ferrer et al., 2008). En parallèle, l'activation de β 2-AR par la NE induit l'expression de gènes horloges. Ainsi, la coopération de ces deux récepteurs entraîne une synergie qui décuple le potentiel de mobilisation des HSC (Méndez-Ferrer et al., 2010b). En revanche, durant un stress, le récepteur β 3-AR ne semble pas essentiel à la sortie des HSC. D'autres études montrent également l'implication des cellules gliales, c'est à dire les cellules qui composent l'environnement des neurones, (Yamazaki et al., 2011), ainsi que des lymphocytes T régulateurs (Treg) (Fujisaki et al., 2011) dans le contrôle des HSC. Chez l'Homme, en cas de stress psychologique chronique par exemple, il a été mis en évidence une augmentation du nombre de monocytes et neutrophiles circulants (Heidt et al., 2014), associée à une production excessive de cytokines pro-inflammatoires (Rohleder et al., 2009) montrant l'importance du cerveau dans la réponse inflammatoire. Chez la souris, le stress social est impliqué dans l'activation de l'hématopoïèse mais également dans la mobilisation des HSC vers la circulation sanguine et la rate (McKim et al., 2018).

Ainsi, la moelle osseuse est un tissu hautement régulé dans lequel les cellules hématopoïétiques sont en étroite collaboration avec les cellules de leur environnement composant la niche hématopoïétique permettant une réponse rapide et adaptée aux variations de l'environnement à l'état basal mais également en état de stress.

c. Hématopoïèse d'urgence

La réponse inflammatoire est un processus qui nécessite la mobilisation rapide et massive de cellules immunitaires sur le lieu de l'inflammation. En cas de statut inflammatoire sévère, il se met en place une hématopoïèse dite d'urgence permettant d'exacerber cette mobilisation. Ce processus fait intervenir des voies de différenciation alternatives des monocytes au sein de la moelle osseuse. Par exemple chez la souris, suite à l'injection de LPS (lipopolysaccharides), composant de la paroi bactérienne et agoniste du TLR4 (Toll-like receptor 4) responsable de l'initiation de la réponse inflammatoire, les GMP ont la capacité de produire directement des monocytes inflammatoires Ly6C^{high} ayant des caractéristiques similaires aux neutrophiles sans passer par la différenciation en MDP puis en cMoP (Yáñez et al., 2017). De même, des monocytes Ly6C^{low} « atypiques » appelés SatM (segregated-nucleus-containing atypical monocytes) ont pu être identifiés dans ce contexte (Sato et al., 2017). Ces cellules présentent un noyau bilobé, contiennent de nombreux granules cytoplasmiques, et sont impliqués dans le développement de fibroses suite à un dommage tissulaire. Cependant, bien que la moelle osseuse soit le lieu principal de la production des cellules hématopoïétiques, dans le cas de certaines pathologies telles que la myélofibrose (Kim, 2010), l'anémie (Korsten et al., 1970) ou encore en cas d'inflammation (Robbins et al., 2012; Yang et al., 2020), la moelle osseuse ne parvient pas à produire suffisamment de cellules sanguines matures. Une hématopoïèse dite extra-médullaire se met alors en place pour assurer le maintien du nombre de cellules immunitaires dans le sang. Celle-ci peut avoir lieu dans différents compartiments tels que le foie, les ganglions lymphatiques ou encore la rate (Sohawon et al., 2012). Chez l'adulte, la rate est l'organe principal de l'hématopoïèse extra-médullaire et est donc privilégiée pour l'étude de l'interaction qui a lieu entre les HSC et leur niche. Dans la rate, cette hématopoïèse se fait dans la pulpe rouge, en opposition à la pulpe blanche (Figure 5), lieu de production des cellules impliquées dans la réponse immune adaptative telles que les cellules B et T. Les HSC présentes dans la circulation sanguine vont alors être séquestrées par la chimiokine CXCL12 produite par les cellules endothéliales du sinus de la pulpe rouge, constituant la première étape de l'hématopoïèse extra-médullaire. Les étapes suivantes sont alors similaires à l'hématopoïèse

médullaire et donnent naissance à des cellules qui ont les mêmes caractéristiques fonctionnelles (Oda et al., 2018; Yamamoto et al., 2016) qui pourront par la suite être recrutées dans les tissus périphériques et participer à la réponse immunitaire.

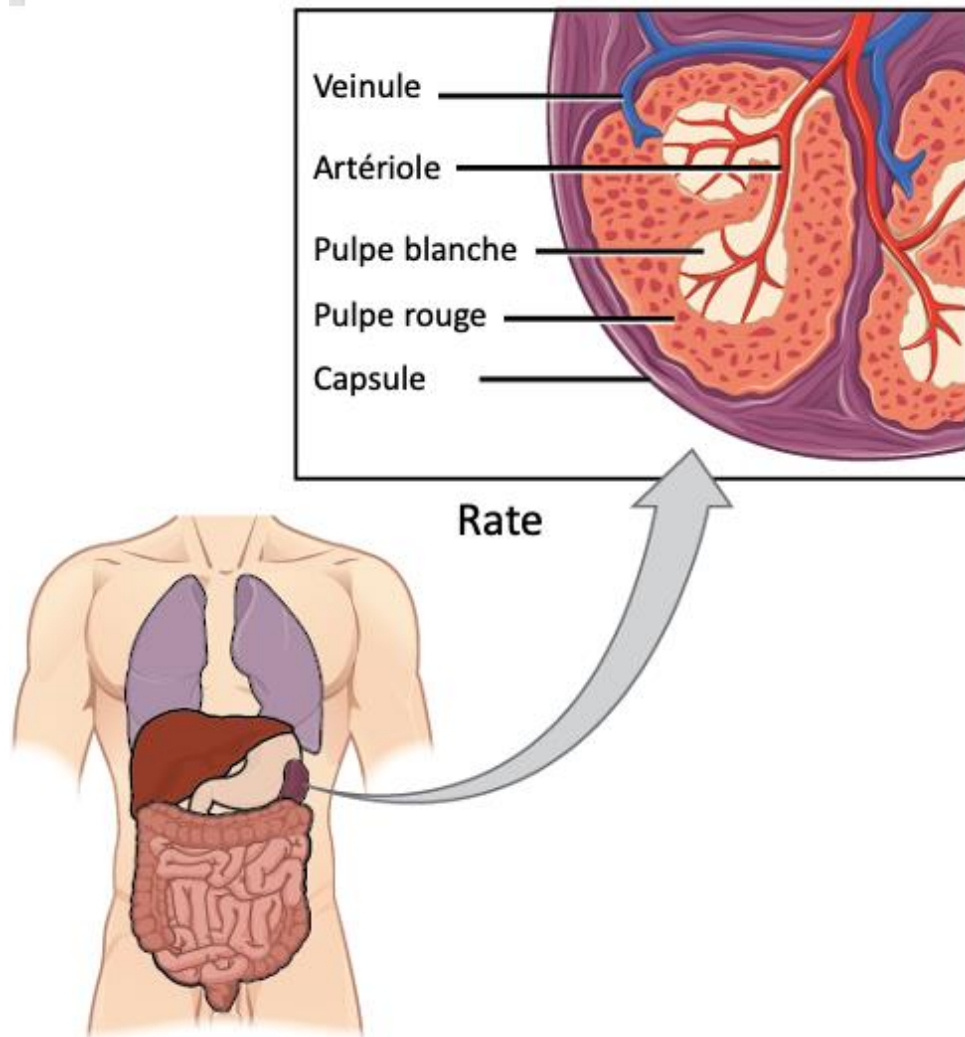


Figure 5. Représentation schématique morphologique de la rate.

La pulpe blanche est le siège de la production des cellules lymphoïdes B et T, responsables de la réponse immunitaire adaptative. La pulpe rouge est le siège de l'hématopoïèse d'urgence qui prend place lorsque l'hématopoïèse médullaire est insuffisante pour maintenir le nombre de cellules immunitaires dans la circulation sanguine. Adapté de CNX OpenStax - Rice University (http://cnx.org/contents/GFy_h8cu@10.53:rZudN6XP@2/Introduction).

Chapitre 3. Les monocytes

a. Introduction

Les monocytes font partie de la famille des phagocytes mononucléés (van Furth et al., 1972; Guilliams et al., 2014) au même titre que les macrophages et les cellules dendritiques. Les monocytes constituent environ 10% des leucocytes circulants dans le sang chez l'Homme, contre 4% chez la souris (Guilliams et al., 2018). Ils participent à l'initiation et à la résolution de l'inflammation lors d'une blessure ou d'une infection, mais contribuent également au maintien de l'intégrité des tissus (Ginhoux and Jung, 2014). Les monocytes sont des cellules à courte durée de vie et doivent donc être renouvelés sans cesse à travers l'hématopoïèse médullaire. Ils ont la capacité de quitter la moelle osseuse dans le but d'être mobilisés dans la circulation sanguine, puis d'être éventuellement recrutés à travers différents signaux dans les tissus périphériques tels que le foie, la rate ou encore l'intestin (Figure 6) (Jakubzick et al., 2013; Shi and Pamer, 2011). Cette dynamique est finement régulée et sous le contrôle de signaux environnementaux faisant intervenir des chimiokines et leurs récepteurs respectifs (Brown et al., 1994; Thompson and Van Eldik, 2009; Yoo et al., 2005) (Figure 6). Dans cette partie nous verrons quels sont les processus précis qui permettent cette dynamique des monocytes à travers l'organisme pour une réponse immunitaire efficace.

b. Mobilité des monocytes

i. Rétention et mobilisation des monocytes

Comme nous l'avons vu précédemment, les monocytes sont produits dans la moelle osseuse à partir des HSC et de nombreux précurseurs intermédiaires. Chez l'Homme, une étude très élégante menée par Patel *et coll.* a permis de mettre en évidence le destin des monocytes depuis leur génération dans la moelle osseuse jusqu'à leur recrutement dans les tissus (Patel et al., 2017). En effet, chez l'Homme, les monocytes du sang peuvent être classés selon l'expression des marqueurs CD14 et CD16. Ainsi, trois sous-types de monocytes sont identifiés par leur classification. On distingue les monocytes classiques $CD14^+ CD16^-$ à courte durée de vie (12h à 24h en moyenne), les monocytes intermédiaires $CD14^+ CD16^+$ qui survivent environ 4 jours, et les monocytes non classiques $CD14^{low}CD16^+$ qui disposent d'une durée de vie de 7 jours (Passlick et al., 1989; Wong et al., 2011). De façon intéressante dans cette étude, les auteurs ont pu mettre en lumière un continuum qui semble exister dans les niveaux d'expression des marqueurs CD14 et CD16 qui définissent les classes de monocytes. Ainsi, les monocytes

classiques deviennent des monocytes intermédiaires, puis des monocytes non classiques pouvant alors être recrutés dans les tissus périphériques.

Chez la souris, les monocytes sont classés selon deux catégories. Les monocytes non classiques $\text{Ly6C}^{\text{low}} \text{CCR2}^- \text{CX3CR1}^{\text{high}}$, aussi appelés circulants et d'une durée de vie de 48h dans la circulation sanguine, et les monocytes classiques $\text{Ly6C}^{\text{high}} \text{CCR2}^+ \text{CX3CR1}^{\text{int}}$, aussi appelés inflammatoires, pouvant être recrutés au sein des tissus périphériques et d'une durée de vie de 20h en moyenne (Geissmann et al., 2003; Yona et al., 2013). Chez l'Homme, les monocytes classiques sont majoritaires dans la circulation sanguine tandis que chez la souris les deux types de monocytes sont présents de façon égalitaire.

Chez la souris comme chez l'Homme, la sortie des monocytes inflammatoires de la moelle osseuse est dépendante des niveaux d'expression du récepteur CXCR4 (C-X-C motif chemokine receptor 4, CD184) et du récepteur CCR2 (C-C chemokine receptor type 2) en leur surface cellulaire (Shi and Pamer, 2011), ainsi que de l'expression de leurs ligands respectifs CXCL12, CCL2 et CCL7 produits par les cellules qui composent la niche hématopoïétique (Serbina et al., 2008; Tsou et al., 2007) (Figure 6). Plus précisément, la différenciation des cMoP en monocytes matures au sein de la moelle osseuse dépend d'étapes intermédiaires générant des pré-monocytes à fort pouvoir prolifératif et caractérisés par l'expression du récepteur CXCR4. Puis la différenciation des pré-monocytes en monocytes inflammatoire est accompagnée d'une augmentation de l'expression du récepteur CCR2 et d'une diminution de l'expression de CXCR4 (Chong et al., 2016) (Figure 6). De façon très intéressante, il a récemment été mis en évidence que la sortie des monocytes de la moelle osseuse est rythmée de façon circadienne (Nguyen et al., 2013) et que cette sortie dépend notamment des niveaux d'expression du récepteur CXCR4 (Chong et al., 2016). Ce récepteur contribue également au *homing* des monocytes classiques et non classiques, c'est à dire leur retour sur le site de leur production que sont la moelle osseuse ou la rate (Chong et al., 2016; Varol et al., 2007). Ainsi, une simplification peut être faite liant CXCR4 à la rétention des monocytes au sein de la moelle osseuse quand CCR2 est associé à leur sortie vers la circulation sanguine (Serbina and Pamer, 2006).

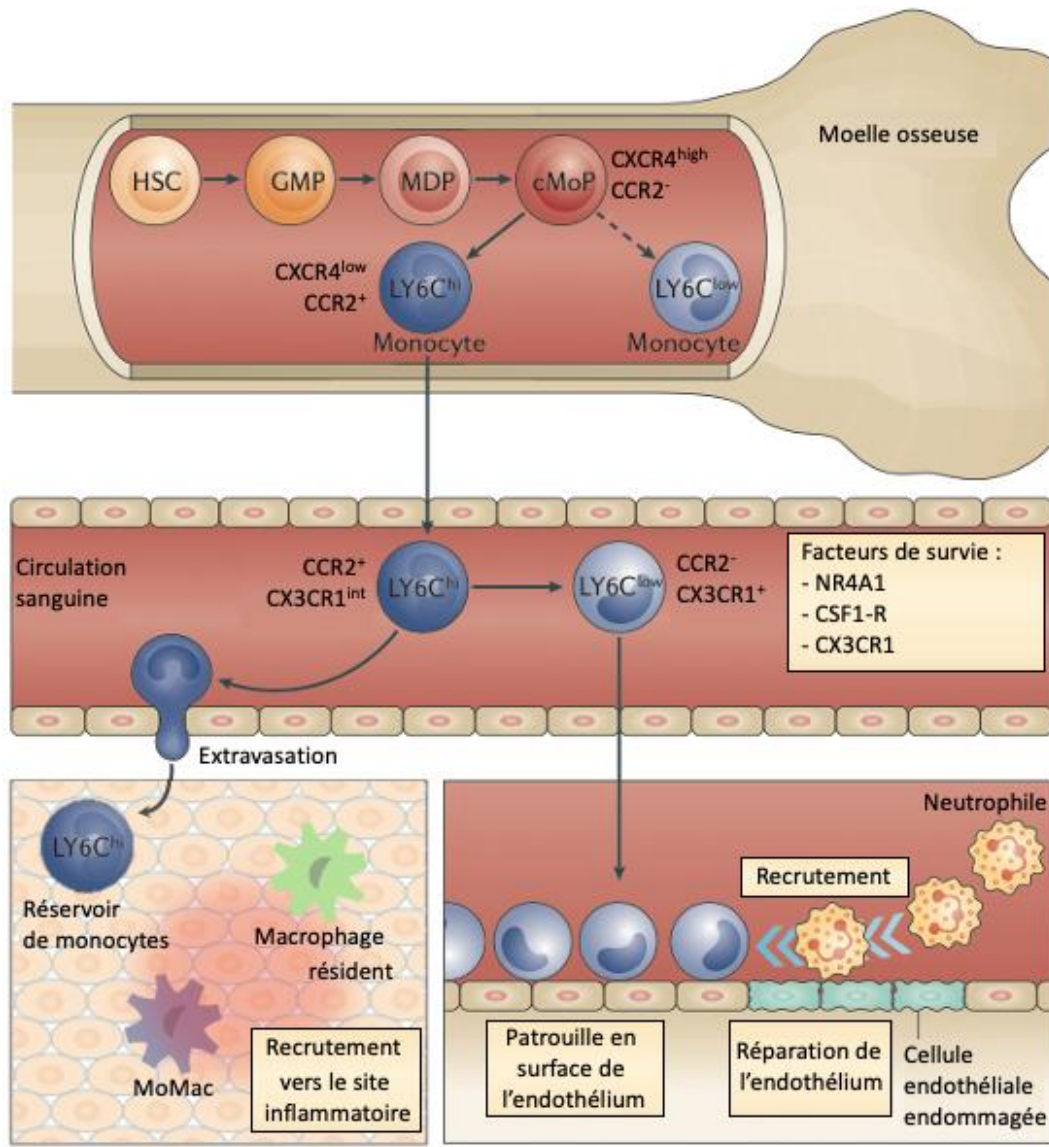


Figure 6. Représentation schématique de la mobilité monocytaire murine.

Les monocytes inflammatoires (Ly6C^{high}) produits dans la moelle osseuse à travers l'hématopoïèse expriment le marqueur de surface CCR2. La liaison de ce récepteur aux chimiokines avec son ligand CCL2 entraîne la sortie des monocytes de moelle osseuse vers la circulation sanguine. En condition physiologique, les Ly6C^{high} perdent peu à peu l'expression du marqueur Ly6C pour devenir des monocytes circulants (Ly6C^{low}). Ces monocytes patrouillent la circulation sanguine et interviennent dans la réparation de l'endothélium en cas de dommage cellulaire. Dans ce contexte, les monocytes Ly6C^{low} possèdent la capacité de recruter des neutrophiles au site endommagé pour éliminer les débris cellulaires et contribuer ainsi à la résolution des dommages. En cas de contexte inflammatoire, les Ly6C^{high} sont quant à eux recrutés sur le site de l'inflammation où ils se différencient en macrophages (Mo-Mac) pour aider les macrophages résidents dans la résolution de l'inflammation. Adapté de (Ginhoux and Jung, 2014).

ii. *Devenir des monocytes*

De par leurs différences de niveaux d'expression des récepteurs aux chimiokines et molécules d'adhésion, il est aisé d'appréhender la dichotomie de rôle et de dynamique qui existe entre les monocytes inflammatoires et les monocytes circulants.

- Les monocytes inflammatoires

Suite à leur génération dans la moelle osseuse, les monocytes classiques inflammatoires entrent dans la circulation sanguine (Figure 6). Ces cellules sont des cellules assez larges et granuleuses capables d'être recrutées dans la majorité des tissus périphériques en condition pathologique comme en condition physiologique. Dans le sang, les monocytes inflammatoires ont une durée de vie moyenne de 20h et sont capables ensuite soit de se différencier en monocytes circulants (Patel et al., 2017; Yona et al., 2013), soit d'être recrutés au sein des tissus périphériques (Figure 6). La conversion des monocytes inflammatoires en monocytes circulants est un processus qui dépend de l'expression de DLL1 (Delta-Like 1) par les cellules endothéliales. L'interaction de DLL1 avec le récepteur Notch2 (Neurogenic locus notch homolog protein 2), exprimé sur la surface des monocytes inflammatoires, facilite alors leur conversion (Gamrekelashvili et al., 2016). Cette conversion entraîne notamment la surexpression de Nr4a1 (Nur 77), un facteur de transcription impliqué dans la survie et la prolifération des monocytes circulants (Hanna et al., 2011).

Cependant en condition physiologique, la majorité des monocytes inflammatoires sont préférentiellement recrutés vers les tissus périphériques. Au sein des tissus, les monocytes inflammatoires peuvent soit conserver leurs caractéristiques et constituer ainsi un réservoir de monocytes *in situ* (Swirski et al., 2009), soit se différencier en macrophages et participer au repeuplement du stock de macrophages résidents des tissus (Bain et al., 2014; Calderon et al., 2015; Jakubzick et al., 2013; Molawi et al., 2014) (Figure 6). De façon intéressante dans certains tissus, le renouvellement du stock de macrophages résidents par la différenciation des monocytes inflammatoires induit leur remplacement progressif (Hoeffel et al., 2015; Molawi et al., 2014). De façon très intéressante, la différenciation des monocytes inflammatoires en macrophages entraîne une modification de leur signature transcriptionnelle, induite par leur nouvel environnement, similaire à celle des macrophages résidents (Lavin et al., 2014) mais la question de l'adoption d'une éventuelle capacité d'auto-renouvellement par ces monocytes-macrophages (Mo-Mac, Ly6C^{low} F4/80⁺) reste en suspens. Ainsi, les macrophages nouvellement formés adoptent certaines fonctions des macrophages résidents tout en

conservant leur identité (Cronk et al., 2018). L'implication des monocytes dans le renouvellement des macrophages résidents sera abordée dans le chapitre suivant.

◆ Le contexte inflammatoire

Les monocytes inflammatoires jouent un rôle essentiel dans le contrôle de l'homéostasie tissulaire et de la réponse immunitaire en cas d'infection (Kratofil et al., 2017). En effet, l'activation de TLR4 par injection de LPS entraîne une sortie accrue des monocytes de la moelle osseuse vers le sang, à travers l'augmentation de l'expression de CCR2 en leur surface cellulaire, augmentant ainsi le nombre de monocytes inflammatoires dans la circulation (Shi and Pamer, 2011). D'autre part, la conversion des monocytes inflammatoires en monocytes circulants est exacerbée par l'injection d'un peptide bactérien (peptidoglycan muramyl dipeptide) à travers sa reconnaissance par le récepteur NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain 2) (Lessard et al., 2017). Les monocytes inflammatoires sont donc des acteurs essentiels pour une réponse immunitaire rapide et efficace.

Cependant, ces monocytes peuvent également être responsables de la progression et de l'aggravation de certaines pathologies chroniques telles que l'obésité ou encore l'athérosclérose, associé au développement de plaques constituées de lipides dans la paroi interne des artères. Dans cette pathologie, les monocytes inflammatoires adhèrent préférentiellement aux cellules endothéliales activées produisant du TNF- α . Ils sont ensuite recrutés au sein de la plaque à travers les récepteurs CCR2, CCR5, et CX3CR1 et phagocytent les lipides oxydés qui s'y trouvent (Tacke et al., 2007; Woollard and Geissmann, 2010). Cela induit leur différenciation en Mo-Mac, contribuant ainsi au développement de l'inflammation (Combadière et al., 2008; Swirski et al., 2007). Malgré des caractéristiques fonctionnelles similaires aux macrophages résidents, les Mo-Mac recrutés en contexte inflammatoire présentent une signature transcriptionnelle qui leur est propre permettant de les différencier (Cronk et al., 2018).

Les monocytes inflammatoires semblent également jouer le rôle de cellules présentatrices d'antigène. *In vitro*, il a été mis en évidence que l'IL-4 et le CSF2 induisent chez les monocytes murins une capacité de présentation d'antigène (Briseño et al., 2016). *In vivo*, dans la rate et lors de l'inflammation du colon, les monocytes inflammatoires semblent également jouer un rôle de présentation d'antigène aux cellules T suite à la phagocytose de cellules apoptotiques de façon similaire aux cellules dendritiques (Peng et al., 2009; Zigmund et al., 2012). Ces monocytes seraient capables de se différencier en cellules similaires aux cellules dendritiques (Mo-DC) exprimant de façon importante PDL1 (programmed death ligand 1) contribuant à

limiter la réponse des lymphocytes T et à induire une auto-tolérance (Geissmann et al., 2008; Peng et al., 2009). Cependant, le marqueur de surface Zbtb46, un des marqueurs identifié comme spécifique des cellules dendritiques (Satpathy et al., 2012), ne semble pas être exprimé par les monocytes inflammatoires et les macrophages (Wu et al., 2016). Ainsi, il semble que la capacité de présentation d'antigène soit un caractère attribuable aux monocytes et remet en cause l'idée d'une différenciation de ces cellules en Mo-DC.

- Les monocytes circulants

Dans le sang, les monocytes non classiques circulants sont des cellules de petite taille (Geissmann et al., 2003) qui patrouillent et rampent le long de l'endothélium des vaisseaux sanguins à une vitesse de 12µm/min, garantissant ainsi son intégrité. Cette fonction repose notamment sur l'expression du récepteur aux chimiokines CX3CR1 sur la surface des monocytes (Figure 6) ainsi que la production de l'intégrine LFA-1 (Lymphocyte Function Associated antigen-1) et de la molécule d'adhésion ICAM (InterCellular Adhesion Molecule) (Carlin et al., 2013). En cas de dommage sur les cellules endothéliales, les monocytes circulants ont la capacité d'être mobilisés rapidement par extravasation et d'initier la réponse inflammatoire plusieurs heures avant les monocytes classiques inflammatoires (Auffray et al., 2007; Thomas et al., 2015). En parallèle, les cellules endothéliales endommagées produisent des signaux de danger conduisant à la séquestration des monocytes circulants ainsi mobilisés à travers l'expression du récepteur TLR7. Les monocytes contribuent alors à éliminer les débris cellulaires et à la résolution de l'inflammation. De façon intéressante, les monocytes circulants ainsi mobilisés sont également capables de recruter les neutrophiles dans le but d'éliminer les cellules endommagée (Carlin et al., 2013) (Figure 6). Ainsi, les monocytes circulants jouent essentiellement un rôle de phagocytes résidents de la circulation sanguine et régulent l'inflammation de l'endothélium vasculaire. Cependant, leur rôle précis en contexte inflammatoire reste à déterminer. Des études montrent que les monocytes circulants seraient également capables d'interagir avec les cellules tumorales métastatiques permettant ainsi l'élimination de ces dernières ainsi que le recrutement et l'activation des cellules NK (Hanna et al., 2015). En 2013, Michaud *et coll.* ont mis en évidence l'implication des monocytes circulants dans l'élimination des dépôts de peptide β -amyloïde ($A\beta$) responsables de la dégénérescence neuronale dans la maladie d'Alzheimer (AD) par l'utilisation de modèles murins déficients pour Nr4A1 (Michaud et al., 2013). Cependant, ces résultats sont sujets à débat puisque le facteur de transcription Nr4A1 est également exprimé par les monocytes inflammatoires dans le cadre d'un infarctus du myocarde par exemple (Hilgendorf et al., 2014)

empêchant d'attribuer ces observations au rôle spécifique des monocytes circulants. Les monocytes circulants participent également à la progression du développement de l'athérosclérose par leur infiltration dans les plaques d'athérome, de façon dépendante du récepteur CCR5 (Tacke et al., 2007). De plus, une élégante étude menée par Quintar *et coll.* a permis de caractériser les monocytes circulants au sein des vaisseaux sanguins et de mettre en évidence leur expression lors du développement de l'athérosclérose contribuant ainsi au maintien de l'intégrité de l'endothélium (Quintar et al., 2017).

	<i>Ly6C^{high}</i>	<i>Ly6C^{low}</i>	<i>Références</i>
<i>Marqueurs</i>	CD45 ⁺ CD11b ^{high} CD11c ^{low} CD11a ⁺ CD43 ^{low} CX3CR1 ^{int} CCR2 ⁺ LyC6 ^{high} CD31 ^{high} CD49b ⁺ CD26L ⁺ CD115 ^{high} CD116 ^{high} F4/80 ⁺ 7/4 ⁺ MHC II ⁻	CD45 ⁺ CD11b ^{high} CD11c ⁺ CD11a ^{high} CD43 ⁺ CX3CR1 ^{high} CCR2 ⁻ Ly6C ^{low} CD31 ⁺ CD49b ⁻ CD26L ⁻ CD115 ^{high} CD116 ⁺ F4/80 ⁺ 7/4 ⁻ MHC II ⁻	(Gordon and Taylor, 2005)
<i>Durée de vie</i>	20h	48h	(Geissmann et al., 2003; Yona et al., 2013)
<i>Origine</i>	Précurseurs de la moelle osseuse Ou hématopoïèse extra-médullaire	Dérivent des Ly6C ^{high} dans la circulation sanguine	(Gamrekelashvili et al., 2016)
<i>Fonctions</i>	Se différencient en Ly6C ^{low} dans la circulation sanguine Réservoir de monocytes dans les tissus Se différencient en macrophage durant l'inflammation Libération de signaux pro- inflammatoires tels que TNF- α et IL-1 β pour le recrutement d'autres cellules immunitaires Présentation d'antigènes	Patrouillent le vaisseau sanguin Contribue à l'intégrité de l'endothélium Capables de recruter des neutrophiles Capables d'être recrutés au site inflammatoire durant l'athérosclérose	(Geissmann et al., 2003; Patel et al., 2017; Peng et al., 2009; Quintar et al., 2017; Swirski et al., 2009; Yona et al., 2013)

Tableau 1. Tableau comparatif des monocytes murins.

Chapitre 4. Les macrophages

a. Introduction

Depuis la description du système des phagocytes mononuclés par Van Furth en 1972 (van Furth et al., 1972), les monocytes ont longtemps été considérés comme les acteurs perpétuels et obligatoires du renouvellement du stock de macrophages résidents dans les tissus. Cependant, avec l'avènement des nouvelles technologies à disposition de la recherche, cette vision exclusive a considérablement évolué. Non-seulement les macrophages tissulaires diffèrent des monocytes par leur origine embryonnaire, mais ils ont également une capacité d'auto-renouvellement par prolifération à l'âge adulte, indépendante du recrutement et de la différenciation des monocytes (Sieweke and Allen, 2013). Dans ce chapitre nous détaillerons le rôle des macrophages tissulaires ainsi que la part jouée par les monocytes dans leur renouvellement à travers trois exemples précis : le cerveau, l'intestin et le foie.

b. Développement des macrophages tissulaires

Les macrophages tissulaires prennent leur origine au stade embryonnaire au niveau des îlots sanguins du sac vitellin pour devenir des macrophages primitifs essentiellement impliqués dans le peuplement du cerveau où ils sont appelés microglie. Dans un second temps, les EMP se développent dans la vasculature et donnent naissance aux macrophages « définitifs » persistant à l'âge adulte dans la majorité des organes (Hashimoto et al., 2013). De façon intéressante, l'expression du facteur de transcription c-Myb est essentielle au développement des macrophages définitifs. En effet, chez la souris, l'inhibition spécifique de ce facteur empêche leur développement dans les tissus (Mucenski et al., 1991). Cependant, l'inhibition de c-Myb n'impact pas le développement des macrophages d'origine primitive (Schulz et al., 2012; Sumner et al., 2000). De plus, les macrophages primitifs sont retrouvés en quantité variable dans de nombreux tissus tels que la rate, le pancréas, les reins, les poumons, le cœur ou encore le foie, y compris chez les souris déficientes pour c-Myb (Schulz et al., 2012). De façon générale, tous les macrophages résidents participent au maintien de l'homéostasie et contribuent à la réponse inflammatoire innée au sein des tissus (Wynn et al., 2013), mais exercent également une fonction spécifique selon leur origine et le tissu qu'ils occupent (Gautier et al., 2014; Kohyama et al., 2009).

i. La microglie

Comme évoqué précédemment, une partie des macrophages primitifs formés à partir de précurseurs dans le sac vitellin migrent directement vers le cerveau pour contribuer à la formation du système nerveux central (SNC) sans passer par la circulation sanguine (Kurz and Christ, 1998). Dans le cerveau, les macrophages primitifs prolifèrent et donnent naissance à la totalité des cellules composant la microglie à l'âge adulte (Ajami et al., 2007; Ginhoux et al., 2010). Ainsi, les macrophages microgliaux sont essentiels au développement neuronal et sont impliqués dans la neurogenèse et la formation synaptique à l'âge adulte (Shemer et al., 2015; Wu et al., 2015). Par ailleurs, la contribution des monocytes dans le maintien du stock de macrophages du cerveau est minime (Ajami et al., 2011; Kennedy and Abkowitz, 1997; Priller et al., 2001). En effet, le maintien des macrophages de la microglie en condition physiologique repose essentiellement sur leur capacité d'auto-renouvellement (Ginhoux et al., 2010). Cependant, les mécanismes sous-jacents restent à éclaircir. Chez des souris adultes op/op, l'absence de production de CSF-1 n'impacte pas le développement des macrophages de la microglie. En revanche, l'absence de son récepteur CSF-1R mène à la perte de la microglie (Elmore et al., 2014). En effet, le récepteur CSF-1R peut également être activé par l'IL-34. Cette interleukine est abondamment exprimée par les neurones et joue un rôle essentiel dans le maintien de la microglie (Wang et al., 2012). Cependant chez l'embryon, l'inhibition d'IL-34 n'impacte pas le développement des macrophages microgliaux (Greter et al., 2012). Le développement et le maintien du stock des macrophages au sein du cerveau dépendent donc de l'interaction complémentaire de l'IL-34 et du CSF-1 sur leur récepteur. De façon intéressante, Elmore *et coll.* ont mis en lumière l'existence potentielle d'un précurseur des cellules microgliales chez l'adulte dépendant de l'expression du CSF-1R supportant le renouvellement des macrophages *in situ* (Elmore et al., 2014). Des études supplémentaires sont donc nécessaires pour comprendre les mécanismes requis lors du maintien de la microglie. Comme nous l'avons vu précédemment, les cellules immunitaires composant les tissus disposent d'une signature transcriptionnelle qui leur est propre, dictée par leur environnement (Gosselin et al., 2014; Lavin et al., 2014). Parmi les gènes exprimés spécifiquement par les macrophages composant la microglie (Butovsky et al., 2014; the Immunological Genome Consortium et al., 2012), le gène *Sall1* (Spalt Like Transcription Factor 1) est particulièrement surexprimé (Koso et al., 2016). De façon intéressante, son expression est spécifique des macrophages microgliaux et est absente chez les macrophages dérivés des monocytes recrutés en cas de déplétion de la microglie (Buttgereit et al., 2016). Ainsi, *Sall1* possède un rôle prépondérant dans l'expression

de la signature transcriptionnelle des macrophages microgliaux. Son inhibition entraîne la sous-expression de nombreux gènes spécifiques de la microglie tels que P2ry12 (Purinergic Receptor P2Y12) ou Slc2a5 (Glut5), et entraîne l'expression de gènes spécifiques d'autres organes tels que la rate ou les poumons chez ces macrophages dans le cerveau (Buttgereit et al., 2016). Sall1 est donc essentiel pour le développement et le maintien des caractéristiques propres aux macrophages de la microglie. De façon très intéressante, l'expression de la protéine TMEM119 (Transmembrane Protein 119) est également spécifique des macrophages de la microglie chez l'Homme comme chez la souris (Bennett et al., 2016). De par sa stabilité d'expression dans le temps, TMEM119 offre de nouvelles possibilités dans l'exploration et la compréhension du développement de la microglie. Notamment, dans cette étude, Bennett *et coll.* mettent en évidence une capacité de prolifération associée à la maturation de la microglie jusqu'à l'âge de 14 jours chez la souris, suivie de sa stabilisation (Bennett et al., 2016). Ainsi, la découverte de ces marqueurs offre de nouvelles perspectives de recherche dans la compréhension et l'étude du développement microgliale.

A l'âge adulte en cas de perturbation de l'homéostasie, les macrophages ont ainsi la capacité de proliférer et de repeupler le cerveau de façon indépendante de la circulation sanguine (Ajami et al., 2007; Mildner et al., 2007). De ce fait, la contribution des monocytes au repeuplement de la microglie se fait à titre exceptionnel comme dans le cas de pathologies neurodégénératives ou de blessures. Dans un modèle murin de parabiose les systèmes sanguins de deux souris sont interconnectés. Suite à l'irradiation d'une des deux souris, la contribution des monocytes de la seconde à la reconstitution de la microglie de la première est minime (Hashimoto et al., 2013). La microglie est donc essentielle pour la protection du SNC et le maintien de son homéostasie. Ainsi, des altérations ou modifications au niveau du cerveau entraînent des modifications fonctionnelles et morphologiques des macrophages traduisant un état activé. Dans le cas de pathologies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, l'activation de la microglie entraîne le développement de l'inflammation ainsi qu'un défaut dans leur fonction phagocytaire. Dans les stades avancés de l'AD, la microglie ne parvient pas à éliminer les dépôts d'A β qui s'accumulent (Colonna and Butovsky, 2017; Fiala et al., 2005). Ce phénomène induit l'activation des monocytes présents dans la circulation sanguine (Saresella et al., 2013). En effet, les monocytes sont capables de traverser la barrière hémato-encéphalique (BBB) de façon CCR2 dépendante, de se différencier en macrophages et d'éliminer ainsi les dépôts d'A β (Zuroff et al., 2017). La délétion spécifique de CCR2 associée à l'inhibition de l'infiltration des monocytes dans le cerveau de souris modèles de l'AD entraîne l'amélioration de leurs fonctions

cognitives. En revanche, la phosphorylation de la protéine Tau, responsable du développement de maladies neurodégénératives, est accrue dans ces conditions (Gyoneva et al., 2015), suggérant un effet double de l'infiltration des monocytes. Ainsi, le rôle précis de ces derniers sur le maintien de l'homéostasie du cerveau reste à déterminer.

ii. Les macrophages de l'intestin

Les macrophages de la muqueuse intestinale participent à la régulation du microbiote intestinal. Au contraire de la microglie, les macrophages intestinaux sont continuellement renouvelés par les monocytes sanguins à l'âge adulte pour permettre le maintien de l'homéostasie tissulaire (Bain et al., 2014). En 2014, les travaux de Bain *et coll.* ont permis de mettre en évidence les caractéristiques des macrophages embryonnaires en comparaison avec les macrophages adultes de l'intestin. Ainsi, lors du développement de la souris, les macrophages embryonnaires F4/80^{high} CX3CR1^{high} MHCII⁺ CD11b⁺ CD64⁺ (FcγR1) qui peuplent l'intestin sont caractérisés par la production d'IL-10 et de TNF-α à l'état physiologique et présentent un pouvoir prolifératif important contrairement aux macrophages identifiés chez l'adulte. De façon très intéressante, ces derniers sont incapables de s'auto-renouveler en cas d'inflammation, et le maintien de l'homéostasie du tissu repose uniquement sur le recrutement des monocytes inflammatoires depuis la circulation sanguine. Dès l'âge d'une semaine, les macrophages murins embryonnaires sont ainsi progressivement remplacés par les macrophages dérivés des monocytes inflammatoires (Bain et al., 2014). De plus, les souris adultes déficientes pour CCR2, essentiel à la migration des monocytes, présentent un défaut du nombre de macrophages intestinaux (Bain et al., 2013). Au contraire, l'injection de monocytes entraîne leur différenciation immédiate en macrophages (Zigmond et al., 2012) traduisant leur importante efficacité lors du repeuplement du tissu. De même que leurs homologues embryonnaires, les Mo-Mac intestinaux produisent du TNF-α et de l'IL-10, sont insensibles à l'activation des TLR, et présentent une importante activité phagocytaire (Bain et al., 2013; Rivollier et al., 2012). Dans l'intestin, la voie de signalisation de l'IL-10 est essentielle au maintien de l'homéostasie et à la prévention du développement de nombreuses pathologies telles que l'inflammation du colon. Bien que la production d'IL-10 semble être plus importante chez les Mo-Mac, son inhibition spécifique n'entraîne pas d'altération de l'homéostasie de l'intestin. En revanche, l'inhibition spécifique de son récepteur IL-10R sur les Mo-Mac entraîne un défaut de leur programmation intestinale ainsi que le développement de l'inflammation du colon (Zigmond et al., 2014a). De façon intéressante, les macrophages présentent différentes fonctions et niveaux d'expression du marqueur de surface CD11c selon

leur localisation dans l'intestin. En effet, les macrophages de la *lamina propria* (CD11c⁺) possède une forte activité phagocytaire et participent au maintien de la barrière épithéliale. Les macrophages de la *muscularis externa* (CD11c^{-/low}) contribuent quant à eux à la motilité des muscles intestinaux (Figure 7) et permettent la communication avec le système nerveux sympathique (Muller et al., 2014). Ces résultats mettent en évidence le rôle déterminant que jouent les macrophages intestinaux dans la régulation de la digestion et notamment le rôle des monocytes permettant leur renouvellement constant.

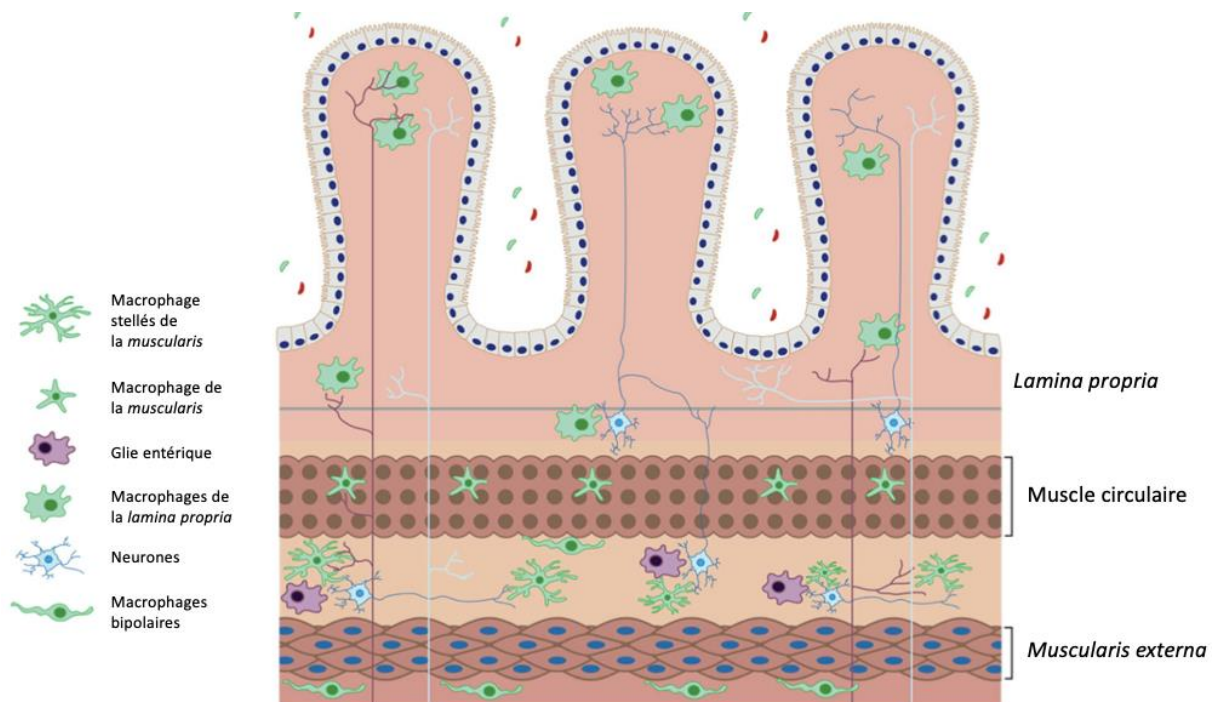


Figure 7. Représentation schématique de la distribution intestinale des macrophages.

Adapté de (Wehner and Engel, 2017)

iii. Les cellules de Kupffer

Le foie est un très bon exemple de l'hétérogénéité des macrophages résidents qui composent le tissu. En effet, deux populations coexistent : les cellules de Kupffer, identifiées en 1876 par Von Kupffer (Von Kupffer, 1876), et les macrophages dérivés des monocytes Mo-Mac (Sakai et al., 2019; Scott et al., 2016). Les macrophages du foie sont essentiels au maintien de l'homéostasie tissulaire, sont les garants du bon fonctionnement du tissu et permettent d'assurer l'élimination des bactéries et microbes issus de l'intestin qui migrent à travers la veine porte (Davies et al., 2013; Tran et al., 2020).

Les cellules de Kupffer prennent leur origine dans le foie fœtal et dérivent ainsi des macrophages définitifs (Hashimoto et al., 2013). Une fois dans le foie, l'expression du facteur de transcription ID3 (inhibitor of DNA binding 3) permet aux cellules de Kupffer de proliférer et de s'auto-renouveler au sein du tissu (Mass et al., 2016) de façon dépendante de l'expression du récepteur CSF-1R en leur surface (Gomez Perdiguero et al., 2015). L'expression spécifique des marqueurs de surface Clec4F (C-Type Lectin Domain Family 4 Member F) et Tim4 (T-cell immunoglobulin domain and mucin domain-4) permet de les différencier des Mo-Mac (Sakai et al., 2019; Scott et al., 2016). Par ailleurs, l'administration d'IL-4 entraîne chez la souris une accumulation et une prolifération accrue des macrophages dans le foie (Jenkins et al., 2011; Milner et al., 2010).

De façon surprenante chez l'Homme, les macrophages issus du recrutement des monocytes dérivent essentiellement des monocytes intermédiaires CD14⁺ CD16⁺. En effet, ces derniers sont majoritaires dans le foie en condition physiologique et pathologique (Liaskou et al., 2013). Chez la souris, les Mo-Mac peuplant le foie sont issus des monocytes inflammatoires Ly6C^{high} (Dal-Secco et al., 2015) et sont capables d'adopter les caractéristiques fonctionnelles des cellules de Kupffer en cas de déplétion de ces dernières (Beattie et al., 2016; Sakai et al., 2019). De façon très intéressante, les macrophages de la cavité péritonéale semblent également capables de migrer vers le foie contribuant au repeuplement du stock de macrophages et participant à la réponse inflammatoire. En effet, en réponse à une brûlure, des macrophages matures F4/80^{high} GATA6⁺ migrent directement de la cavité péritonéale vers le foie, de façon dépendante de CD44 et des signaux de danger DAMP (Damage Associated Molecular Pattern), où ils adoptent un profil anti-inflammatoire et contribuent à l'élimination des cellules apoptotiques (Wang and Kubes, 2016). Ces données mettent en lumière le rôle décisif de l'environnement du tissu sur le destin des macrophages peuplant le foie indépendamment de leur origine.

Au sein du tissu, cellules de Kupffer et Mo-Mac exercent des fonctions bien distinctes (Zigmond et al., 2014b). Les cellules de Kupffer sont essentiellement tolérogènes. Elles contribuent au maintien de l'auto-tolérance à travers notamment l'induction des Treg (You et al., 2008). Au contraire, les Mo-Mac sont essentiellement immunogènes et contribuent au développement de la réponse inflammatoire. En condition physiologique, les Mo-Mac participent à la régulation du métabolisme du cholestérol et du fer (Theurl et al., 2016). En cas d'inflammation, ils ont la capacité d'adopter un phénotype pro-inflammatoire ou anti-inflammatoire selon les signaux environnementaux (Xue et al., 2014). Ainsi, les différents types de macrophages peuplant le foie sont complémentaires et contribuent aussi bien à la réponse pro-inflammatoire qu'à la résolution de l'inflammation (Guillot and Tacke, 2019).

c. Conclusion

Nous avons vu dans ce chapitre l'importance des monocytes dans le maintien de l'homéostasie des tissus de l'organisme. Ils sont les piliers d'une réponse immunitaire innée efficace et apportent un soutien essentiel aux macrophages résidents des tissus périphériques lorsque leur prolifération *in situ* est insuffisante notamment lors du vieillissement ou dans les pathologies chroniques. La proportion des monocytes varie selon le type de tissu et les signaux environnementaux auxquels ils sont exposés. Par ailleurs, l'origine des macrophages tissulaires détermine leurs cinétiques de différenciation, à l'exemple de la microglie originaire du sac vitellin qui dispose d'une très forte capacité d'auto-renouvellement, et au contraire des macrophages intestinaux remplacés dès la première semaine post-natale. Cependant, malgré les nombreuses avancées faites dans la compréhension de l'implication des monocytes au sein des différents tissus de l'organisme, la contribution des monocytes dans le maintien de l'homéostasie des tissus adipeux et la réponse inflammatoire dans les pathologies cardio-métaboliques telles que l'obésité reste à éclaircir.

	<i>Microglie</i>	<i>Macrophages Intestinaux</i>	<i>Cellules de Kupffer</i>	<i>Macrophages Alvéolaire</i>	<i>Macrophages Péritonéaux (LPM)</i>
<i>Marqueurs</i>	CD163 HLA-DR CD68 MSR-A CD64 CD32 CD16 CD206 Fizz1 CD14/TLR4	CD45 ⁺ CD11b ⁺ CD11c ⁺ CD64 ⁺ CD14 ⁺ F4/80 ^{high} CCR7 ⁻ Ly6C ⁻ CX3CR1 ^{high} MHCII ^{high}	CD45 ⁺ CD11b ^{low} CD11c ⁻ F4/80 ^{high}	CD45 ⁺ CCR2 ⁺ CD64 ⁺ MerTK ⁺ CD200 ^{high}	F4/80 ^{high} CD11b ^{high} CD11c ^{low} MHCII ^{low} GR1 ^{low} Ly6C ⁻ CD62L ⁻ Dectin1 ^{low} DCsign ⁻ TLR4 ⁺ CD80 ⁺ CD86 ^{high} CD40 ⁺ Tim4 ^{low}
<i>Origine</i>	Précurseurs primitifs du sac vitellin	Précurseurs du foie fœtal, puis uniquement monocytes à l'âge adulte	Précurseurs du foie fœtal et monocytes	Absents à la naissance, dérivent des monocytes	Précurseurs du foie fœtal
<i>Facteurs de transcription</i>	Sall1, Tmem119, Fcrgs, SiglecH	IL-10, TNF- α	TGF- β , ID3 Clec4f, Tim4, Spi-C	PU.1, Car4, Cybb	Cybb, Gata6, TGF β 2
<i>Fonctions</i>	Développement du SNC Auto-renouvellement, prolifération Inflammation et réponse immunitaire Transports lipidiques vers les neurones	Homéostasie tissulaire Essentiellement anti-inflammatoires Production d'IL-10 Très forte capacité phagocytaire Remodelage tissulaire	Régulation des fonctions neuronales et de la motilité gastro-intestinale Maintien de l'homéostasie du tissu	Homéostasie du tissu Réponse à l'inflammation	Homéostasie du tissu Réponse à l'inflammation Forte capacité phagocytaire Disparaissent en cas d'inflammation
<i>Recrutement des monocytes</i>	Uniquement en cas d'inflammation	Dès de la 1 ^{ère} semaine post-natale	Oui	En cas d'inflammation	En cas d'inflammation et se différencient en SPM
<i>Références</i>	(Boche et al., 2013)	(Bain et al., 2014) (Cerovic et al., 2014)	(Movita et al., 2012; Sakai et al., 2019; Scott et al., 2016)	(Lavin et al., 2014; Morales-Nebreda et al., 2015)	(Cassado et al., 2015)

Tableau 2. Tableau comparatif des macrophages résidents tissulaires.

(LPM : larges peritoneal macrophages ; SPM : small peritoneal macrophages)

Chapitre 5. Les tissus adipeux

a. Introduction

Le tissu adipeux (AT) est le lieu principal du stockage de l'énergie nécessaire au fonctionnement de l'organisme mais est également un organe qualifié d'endocrine par sa capacité à communiquer avec son environnement (Kershaw and Flier, 2004). C'est un tissu hétérogène composé d'adipocytes matures et d'une fraction vasculaire stromale (SVF) qui contient les cellules immunitaires (Han et al., 2015). Chez les mammifères, le tissu adipeux est classé en deux grandes catégories ayant une origine développementale et des caractéristiques métaboliques distinctes : le tissu adipeux blanc, le plus abondant, jouant un rôle de stockage de l'énergie et le tissu adipeux brun, responsable de la dissipation de l'énergie sous forme de chaleur (Esteve Ràfols, 2014). Un dérèglement des mécanismes de stockage ou de déstockage des graisses dans ces tissus est à l'origine du développement de nombreuses pathologies cardio-métaboliques telles que l'obésité ou le diabète de type 2. Dans ce chapitre nous détaillerons l'importance et la complexité des différentes fonctions adipocytaires sur l'homéostasie de l'organisme ainsi que leurs implications dans le développement des pathologies.

b. Distribution des tissus adipeux

Les tissus adipeux sont localisés par dépôts à travers l'organisme (Figure 8). La fonction exercée par ces différents dépôts dépend de leur localisation et de leur taille, mais également de l'âge, du sexe et du statut nutritionnel de l'individu.

i. Le tissu adipeux blanc

- Généralités

Le tissu adipeux blanc (WAT) est le tissu adipeux le plus abondant chez les mammifères à l'âge adulte. En condition physiologique chez l'Homme, le WAT représente en moyenne 20% du poids corporel (Hausman et al., 2001). Il s'agit d'un tissu hétérogène composé majoritairement d'adipocytes blancs capables d'une grande extensibilité lui permettant de s'adapter aux besoins de stockage de l'organisme en cas d'apport excessif d'énergie. Chez les mammifères, le WAT existe majoritairement sous deux types. Le WAT viscéral (VAT), principalement présent au niveau de l'abdomen dans la cavité péritonéale, et le WAT sous-cutané (SCAT) (Figure 8). Cependant, le WAT est aussi rencontré en moindre quantité dans la zone péricardique, péri-vasculaire, rétro-orbitale et intramusculaire (Figure 8) (Esteve Ràfols,

2014). Cette diversité de localisation reflète les différences métaboliques et fonctionnelles des différents dépôts.

◆ Le tissu adipeux blanc viscéral : le VAT

Le tissu adipeux blanc viscéral comprend les dépôts péri-gonadiques, rétro-péritonéaux, mésentériques et de l'omentum (Figure 8). La particularité du VAT est sa connexion directe avec le foie à travers la veine porte. Il joue ainsi un rôle essentiel dans le contrôle des taux de TG et de cholestérol dans la circulation sanguine, mais également dans la tolérance au glucose (Goossens, 2008). Par ailleurs, une diminution de la proportion de VAT entraîne une meilleure sensibilité à l'insuline (Goodpaster et al., 1999). Le VAT est également plus sensible à la perte de poids et est métaboliquement plus actif que le SCAT (Choe et al., 2016; Guo et al., 2018; Serra et al., 2017).

◆ Le tissu adipeux blanc sous-cutané : le SCAT

Les dépôts de tissu adipeux blanc sous-cutané sont plus épars dans l'organisme (Figure 8) et leur fonction est spécifique de leur localisation. En effet, les dépôts associés aux muscles abdominaux, fessiers, et fémoraux sont essentiellement responsables du stockage de l'énergie à travers la voie de l'insuline (Choe et al., 2016). Les dépôts situés autour des glandes mammaires, aussi appelés tissu adipeux rose, sont capables de se trans-différencier en cellules responsables de la lactation lors d'une grossesse puis de se différencier en adipocytes à la fin de la période de lactation (Cinti, 2018). Enfin, le SCAT situé au niveau de la peau sert essentiellement de soutien au renouvellement des follicules pileux (Alexander et al., 2015; Luong et al., 2019).

ii. Le tissu adipeux brun

Le tissu adipeux brun (BAT) est responsable de la régulation de la température du corps par un processus appelé thermogenèse permettant de libérer l'énergie stockée sous forme de chaleur. Chez l'Homme, le BAT est essentiellement rencontré chez le fœtus et le nouveau-né. Il se concentre principalement autour des reins et dans les régions axillaire et cervicale (Figure 8) (Cannon and Nedergaard, 2004) puis se réduit considérablement à l'âge adulte. La persistance du BAT chez l'adulte n'a été découverte que très récemment. En effet, la technique d'imagerie par PET-Scan a permis de mettre en évidence des zones d'activité métabolique importante dans les régions supra-claviculaire, cervicale, axillaire et para vertébrale (Figure 8) (Cypess et al., 2009; Virtanen et al., 2009). Chez les rongeurs, le BAT se concentre essentiellement dans la zone inter-scapulaire, entre les omoplates et dans la région axillaire (Bal et al., 2012).

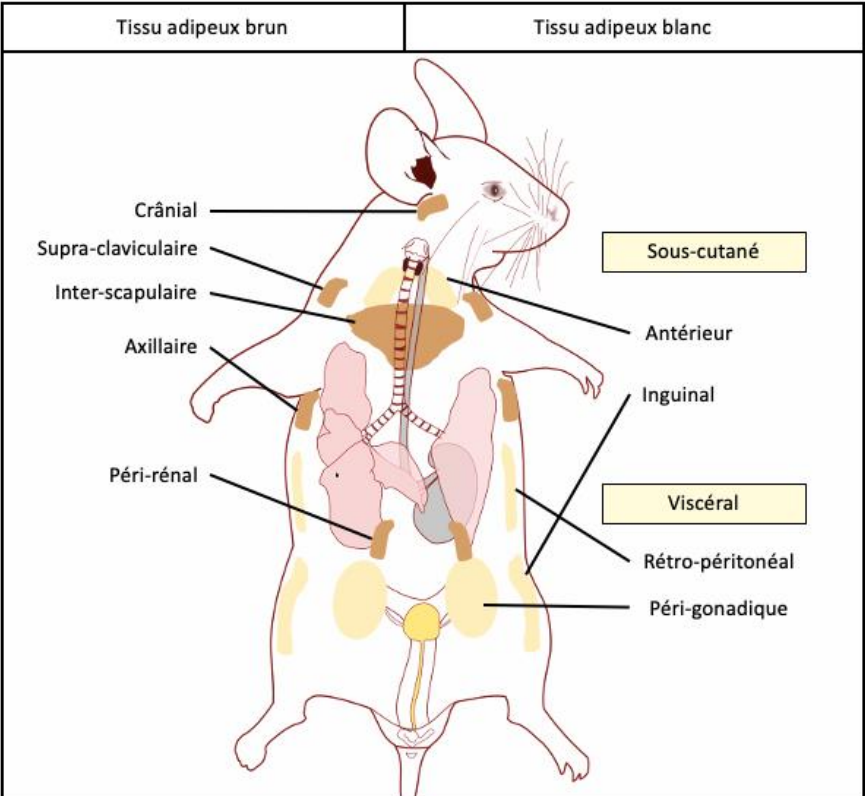
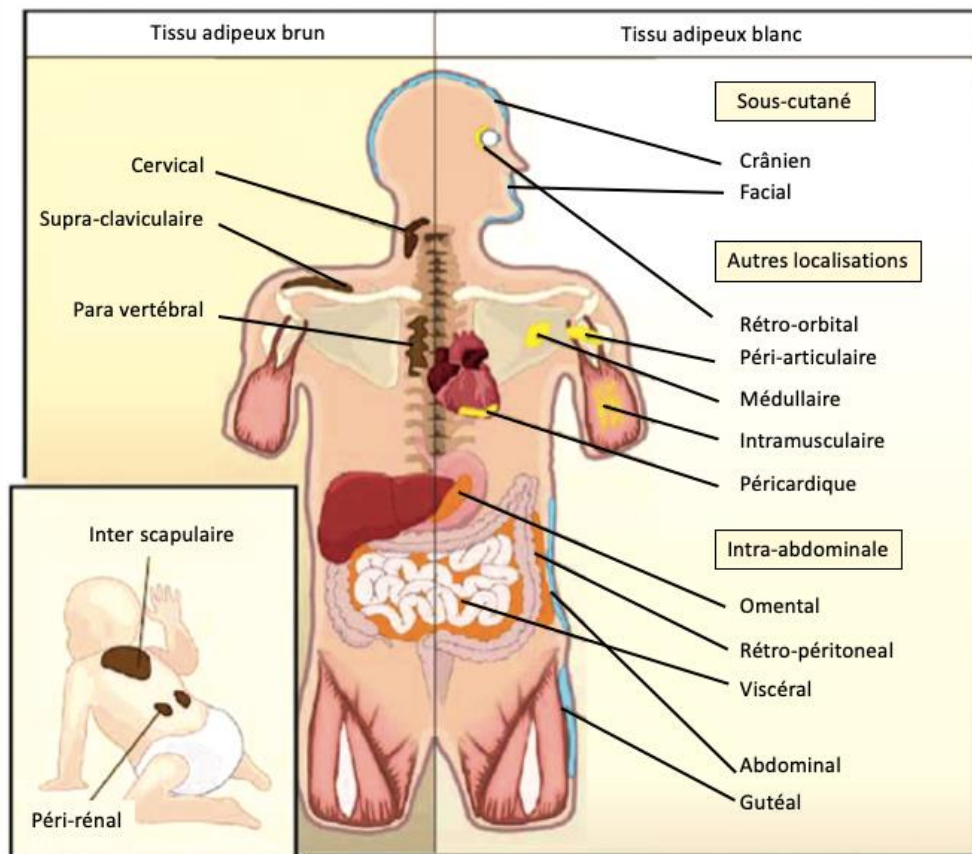


Figure 8. Répartition des différents dépôts de tissu adipeux chez l'Homme.

Adapté de (Esteve Ràfols, 2014; Schoettl et al., 2018) et « Anatomie d'une souris » Cjl.d - Wikimedia Commons (Creative Commons Attribution-Share Alike 4.0 International).

iii. Particularité : Le tissu adipeux de la moelle osseuse

Le tissu adipeux de la moelle osseuse (BMAT) est un tissu particulier qui intervient dans le maintien de l'hématopoïèse médullaire. De façon très intéressante, les os et le BMAT sont dérivés d'un même précurseur, les MSC, exprimant le facteur de transcription osterix (Sp7) responsable de la formation des ostéoblastes et des cellules osseuses (Cawthorn et al., 2014). A la différence des adipocytes périphériques, les adipocytes de la moelle osseuse expriment faiblement le facteur de transcription PPAR γ (Peroxisome proliferator-activated receptor), spécifique des adipocytes matures, mais expriment fortement des marqueurs précoces de leur différenciation tels que C/EBP β (Liu et al., 2013). La synthèse et la sécrétion d'hormones telles que la leptine et de facteurs de transcription comme PPAR γ déterminent par la suite la différenciation spécifique des MSC en adipocytes. Dans la période post-natale, la moelle osseuse est composée principalement de tissu hématopoïétique, lui donnant une couleur rouge, nécessaire au peuplement de la moelle osseuse en HSC et précurseurs de l'hématopoïèse (Kricun, 1985). En parallèle, le BMAT se développe de façon exponentielle pour atteindre près de 70% du volume de la moelle osseuse à l'âge adulte (Fazeli et al., 2013). Cette dernière prend alors progressivement une couleur jaune liée à sa densité adipocytaire. Au sein de la moelle osseuse, le BMAT agit comme régulateur de l'hématopoïèse (Horowitz et al., 2017; Naveiras et al., 2009), et permet l'approvisionnement des ostéoblastes en AG pour leur renouvellement (Maridas et al., 2019). Au sein de la moelle osseuse on distingue le BMAT constitutif (cBMAT) du BMAT régulé (rBMAT). Le cBMAT est présent dès la naissance et est localisé au niveau des os distaux tels que la cavité médullaire des os longs. Ce tissu a une faible activité hématopoïétique et est composé de larges adipocytes. Le rBMAT est quant à lui localisé dans la moelle épinière et les os proximaux où l'hématopoïèse est importante et se développe plus tard lors de la croissance (Hafidi et al., 2019; Maridas et al., 2019; Suchacki and Cawthorn, 2018).

c. Les adipocytes

- Les adipocytes blancs

Les adipocytes blancs sont des cellules qui possèdent une importante extensibilité, nécessaire pour s'adapter aux demandes de stockage et déstockage énergétique de l'organisme. Cette extensibilité est rendue possible par la présence d'une unique vacuole, appelée gouttelette lipidique, pouvant représenter jusque 95% du volume de l'adipocyte. Les AG sont ainsi stockés dans la gouttelette lipidique sous forme de lipides neutres. De par le volume important de cette

gouttelette, le cytoplasme des adipocytes blancs est réduit et comprend peu de mitochondries (Bielczyk-Maczynska, 2019).

◆ La gouttelette lipidique

La particularité physique qui définit les adipocytes blancs est la présence de cette unique vacuole ou gouttelette lipidique qui occupe 95% de l'espace intracellulaire. La gouttelette lipidique est le lieu de stockage de l'énergie sous forme de lipides neutres tels que les triglycérides (TG) et les esters de cholestérol. Mais elle est également un soutien dynamique dans la capacité d'extension des adipocytes blancs de par sa contribution dans les échanges de lipides avec le réticulum endoplasmique, la mitochondrie et la membrane plasmique (Schuldiner and Bohnert, 2017). La gouttelette lipidique est entourée d'une membrane composée d'une unique couche de phospholipides constituant la barrière hydrophobe permettant de contenir les lipides neutres en son sein (Walther et al., 2017). Par ailleurs, le soutien structurel de la gouttelette est permis par l'expression de protéines telles que les perilipines en sa surface. De façon importante, les perilipines participent également à la régulation de la lipolyse du tissu adipeux (Sztalryd and Brasaemle, 2017). Ce processus sera détaillé plus bas dans le manuscrit.

• Les adipocytes beiges

Le WAT est un tissu doué d'une grande plasticité lui permettant de s'adapter aux signaux environnementaux. Les adipocytes blancs sont notamment capables de se trans-différencier en adipocytes beiges ayant des caractéristiques particulières. Les adipocytes beiges sont rencontrés aussi bien au sein du WAT que dans le BAT. Ils participent au stockage et au déstockage de l'énergie en cas de nécessité, comme le font les adipocytes blancs (Jankovic et al., 2015), mais sont également caractérisés par une importante masse mitochondriale et une fonction thermogénique semblable aux adipocytes bruns (Castro et al., 2017). Les adipocytes beiges semblent être capables de prendre leur origine aussi bien dans les adipocytes blancs que dans les adipocytes bruns de façon indifférente. Cependant, ces adipocytes sont rencontrés uniquement à l'âge adulte et ont un profil d'expression génique bien spécifique (Jankovic et al., 2015). L'adipokine irisine, obtenue à partir du clivage de la protéine FNDC5 (Fibronectin type III domain-containing protein 5) lors d'un exercice physique, semble notamment être exprimée lors de la transition des adipocytes blancs en adipocytes beiges, appelée *browning* (Farmer, 2019). L'hormone *metorine-like* (Metrnl) contribue également au *browning* des adipocytes. Cette hormone est libérée à partir du muscle squelettique vers la circulation suite à un exercice physique, ou depuis le tissu adipeux suite à une exposition au froid (Rao et al., 2014). Cette

trans-différenciation permet donc à l'organisme de s'adapter aux variations de son environnement comme lors d'une exposition à une faible température, une diminution des apports caloriques, une stimulation des neurones adrénergiques, ou encore suite à un exercice physique (Boström et al., 2012; Corrales et al., 2019; Vitali et al., 2012).

- Les adipocytes bruns

D'un point de vue morphologique, le BAT est un tissu très vascularisé, composé en quasi-totalité d'adipocytes bruns de petite taille, eux-mêmes constitués de multiples petites vacuoles contenant les lipides neutres. La particularité des adipocytes bruns réside dans leur importante masse mitochondriale, responsable de la couleur particulière de ce tissu, et dans la multitude de vacuoles permettant ainsi une mobilisation rapide des TG qui seront utilisés ensuite par les mitochondries pour la production de chaleur (Cannon and Nedergaard, 2004).

Pendant de nombreuses années, la communauté scientifique attribuait au WAT et au BAT une origine commune dans le mésoderme. Cependant, en 2006, Atit *et coll.* ont proposé l'idée d'une origine commune des adipocytes bruns avec les cellules musculaires (Atit et al., 2006). En effet, lors de l'embryogenèse, les cellules du dermomyotome issu de la division du mésoderme en sclérotome et dermomyotome, donnent naissances à la fois aux cellules musculaires et aux adipocytes bruns. De plus, l'expression spécifique de Myf5, un facteur responsable du développement des cellules musculaires, par les adipocytes bruns et non par les adipocytes blancs, semble confirmer l'hypothèse de cette origine commune avec les cellules musculaires (Seale et al., 2008). Cependant, ces résultats n'excluent pas l'existence d'une lignée indépendante de Myf5. De plus, la stimulation β -adrénergique par une faible température, induit la génération d'adipocytes bruns n'exprimant pas le marqueur Myf5. A la différence des adipocytes bruns Myf5⁺, ces adipocytes sont situés au sein du WAT et correspondent aux adipocytes beiges (Seale et al., 2008).

d. Fonctions métaboliques des tissus adipeux

Selon leur localisation et leur origine, les AT exercent différentes fonctions pour participer au maintien de l'homéostasie de l'organisme. Lors de la prise alimentaire, l'apport énergétique en excès, que ce soit le glucose ou les lipides, sont stockés dans le AT à travers le processus de lipogénèse. En revanche, à distance des repas, cette énergie possède la capacité d'être à nouveau mobilisée à travers la lipolyse. Enfin, le BAT est un tissu spécialisé dans l'utilisation de l'énergie pour la production de chaleur dans le but de garantir une température interne stable à travers le processus de thermogénèse. Dans cette partie nous détaillerons ces différents

mécanismes afin de mieux comprendre l'importance des AT dans le maintien de l'homéostasie de l'organisme.

i. Le stockage de l'énergie

- La lipogenèse

La fonction principale du AT est le stockage des AG au sein des gouttelettes lipidiques. Ce mécanisme permet d'éviter la lipotoxicité induite par un excès d'AG dans la circulation sanguine, qui pourrait éventuellement conduire à une résistance à l'insuline, impliquée dans le développement de pathologies cardio-métaboliques telles que le diabète de type 2 ou l'obésité. Chez l'Homme et les rongeurs, les TG stockés dans les gouttelettes lipidiques des adipocytes proviennent majoritairement des AG circulants issus de l'hydrolyse des lipides par le système digestif. Les AG sont constitués d'une chaîne aliphatique composée d'un nombre variable de carbones et peuvent être saturés ou insaturés. On distingue ainsi trois types d'AG dépendamment de leur structure et du nombre de carbones dont ils sont composés : les AG à chaîne courte (SCFA) possédant une chaîne aliphatique de moins de six carbones, les AG à chaîne moyenne (MCFA) et les AG à chaîne longue (LCFA), composé d'une chaîne d'au moins 12 carbones (Alvarez-Curto and Milligan, 2016).

L'entrée dans les tissus des AG à longue chaîne issus de la digestion se fait par l'intermédiaire de transporteurs spécifiques appartenant à la famille des FATP (Fatty acid transport protein, SLC27). Plus spécifiquement FATP1 est responsable de l'entrée des AG au sein des adipocytes (Fisher and Gertow, 2005; Schaffer and Lodish, 1994; Stahl, 2004). Suite à leur transport dans le cytoplasme adipocytaire, les AG sont liés à la coenzyme A (Co-A) par l'enzyme acyl-CoA synthétase (ACS) (Figure 9). Les FATP semblent également contribuer à l'activation des AG par la Co-A (Coe et al., 1999). L'acyl-CoA ainsi formé est alors successivement transformé en phosphatidate, en diacylglycérol (DG) puis en TG. Les TG sont enfin stockés dans les gouttelettes lipidiques des adipocytes (Barbosa and Siniouoglou, 2017) (Figure 9).

Lors d'un régime riche en lipides, l'intestin et le foie libèrent également des lipoprotéines riches en TG, les chylomicrons et les VLDL respectivement. Une fois dans la circulation sanguine, ces molécules sont hydrolysées par la lipoprotéine lipase (LPL), associées aux cellules endothéliales (Olivecrona, 2016). Les AG ainsi générés sont captés par l'adipocyte à travers le récepteur CD36 en leur surface cellulaire puis utilisés pour former des TG qui seront stockés dans la gouttelette lipidique de l'adipocyte (Su and Abumrad, 2009).

- Métabolisme du glucose

Le stockage des TG par les adipocytes est également possible à travers le métabolisme du glucose. En effet, l'augmentation des niveaux glucidiques dans la circulation sanguine (i.e. hyperglycémie) suite à la prise alimentaire par exemple, induit une cascade de signaux qui permettent de réguler la glycémie par l'entrée du glucose dans les adipocytes. Ces derniers expriment en leur surface cellulaire le récepteur à l'insuline (IR) qui permet de détecter les variations des niveaux d'insuline produite par le pancréas. L'activation de ce récepteur sur les adipocytes induit à son tour l'activation du transporteur du glucose GLUT4, également exprimé en leur surface cellulaire. Le glucose est ainsi transporté vers le cytoplasme de l'adipocyte. Celui-ci est ensuite utilisé par la glycolyse pour la production de pyruvate qui peut intégrer le TCA (ou cycle de Krebs) au sein de la mitochondrie sous forme d'Acétyl-CoA pour générer du citrate et de l'ATP, nécessaire au fonctionnement cellulaire. Le citrate est alors transformé en acyl-CoA par l'ACS (Figure 9). De même que pour les lipides, l'acyl-CoA ainsi produit est utilisé pour la synthèse des TG à travers la lipogenèse.

De façon intéressante dans les adipocytes bruns, le glucose est préférentiellement utilisé pour la lipogenèse et la production d'ATP quand les AG sont privilégiés pour la thermogenèse (Hankir and Klingenspor, 2018) (Figure 10). De plus, la captation du glucose par les adipocytes bruns semble contribuer à la régulation du métabolisme global glucidique de l'organisme (Matsushita et al., 2014).

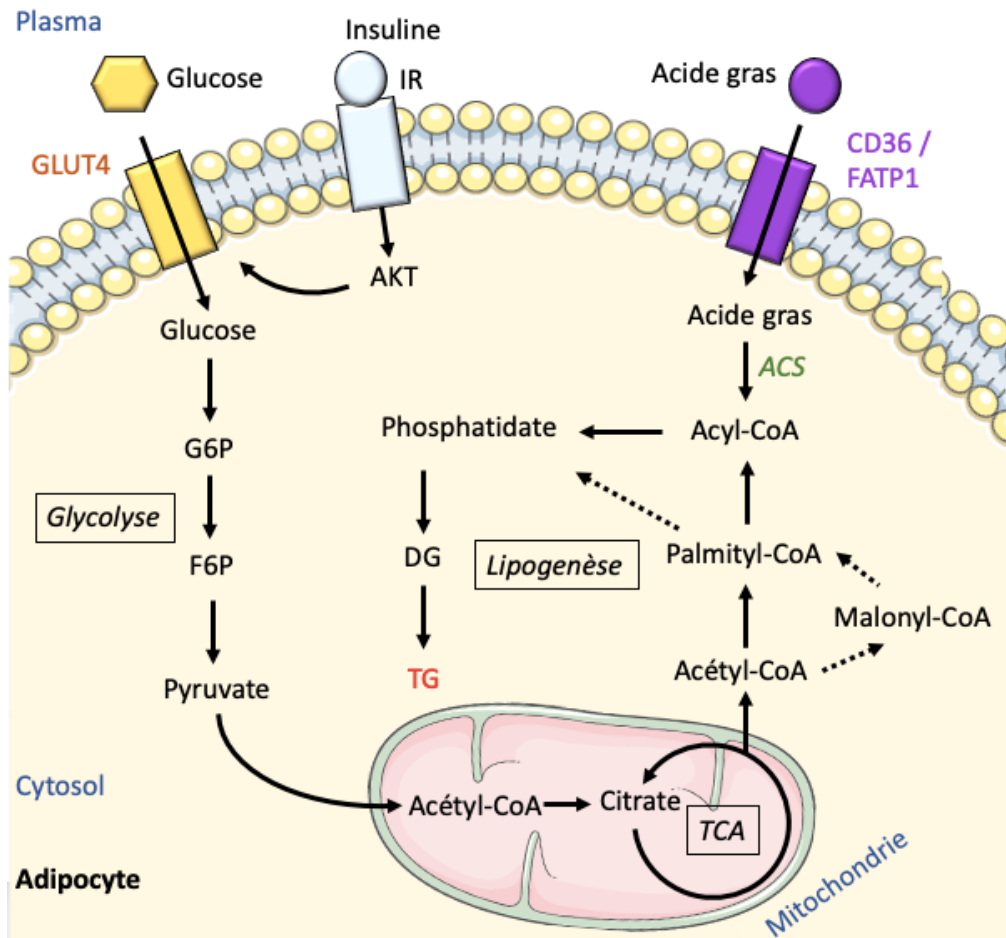


Figure 9. Représentation schématique du stockage de l'énergie par le tissu adipeux.

Lors d'un apport de glucose dans la circulation sanguine suite à la digestion d'un repas par exemple, l'insuline est sécrétée par le pancréas pour réguler l'homéostasie glucidique. L'insuline se fixe sur son récepteur spécifique (IR) et active alors la voie de signalisation de l'AKT, qui phosphoryle et active à son tour le récepteur au glucose GLUT4 en surface des adipocytes qui déclenche l'entrée du glucose dans la cellule. Le glucose est transformé en glucose-6-phosphate (G6P), puis en fructose-6-phosphate (F6P) et enfin en pyruvate. Ce processus est appelé glycolyse. Le pyruvate est transporté au sein de la mitochondrie pour être transformé en Acétyl-CoA puis en citrate pour la génération d'énergie sous forme d'ATP dans le cycle de Krebs (TCA). L'acétyl-CoA qui en résulte retourne dans le cytoplasme où il sera transformé ou non en malonyl-CoA puis en palmitoyl-CoA. Le palmitoyl-CoA sert ensuite de substrat à l'ACS (Acyl-CoA synthase) pour la synthèse de l'acyl-CoA. Ce dernier participe à la génération de phosphatidate qui sera transformé en diacylglycérol (DG) puis hydrolysé en triacylglycérol (TG) pour être stocké dans la gouttelette lipidique du tissu adipeux. Les acides gras (AG) quant à eux sont captés par la cellule à travers l'expression des transporteurs CD36 ou FATP. Les AG sont ensuite hydrolysés en Acyl-CoA pour être également stockés sous forme de TG.

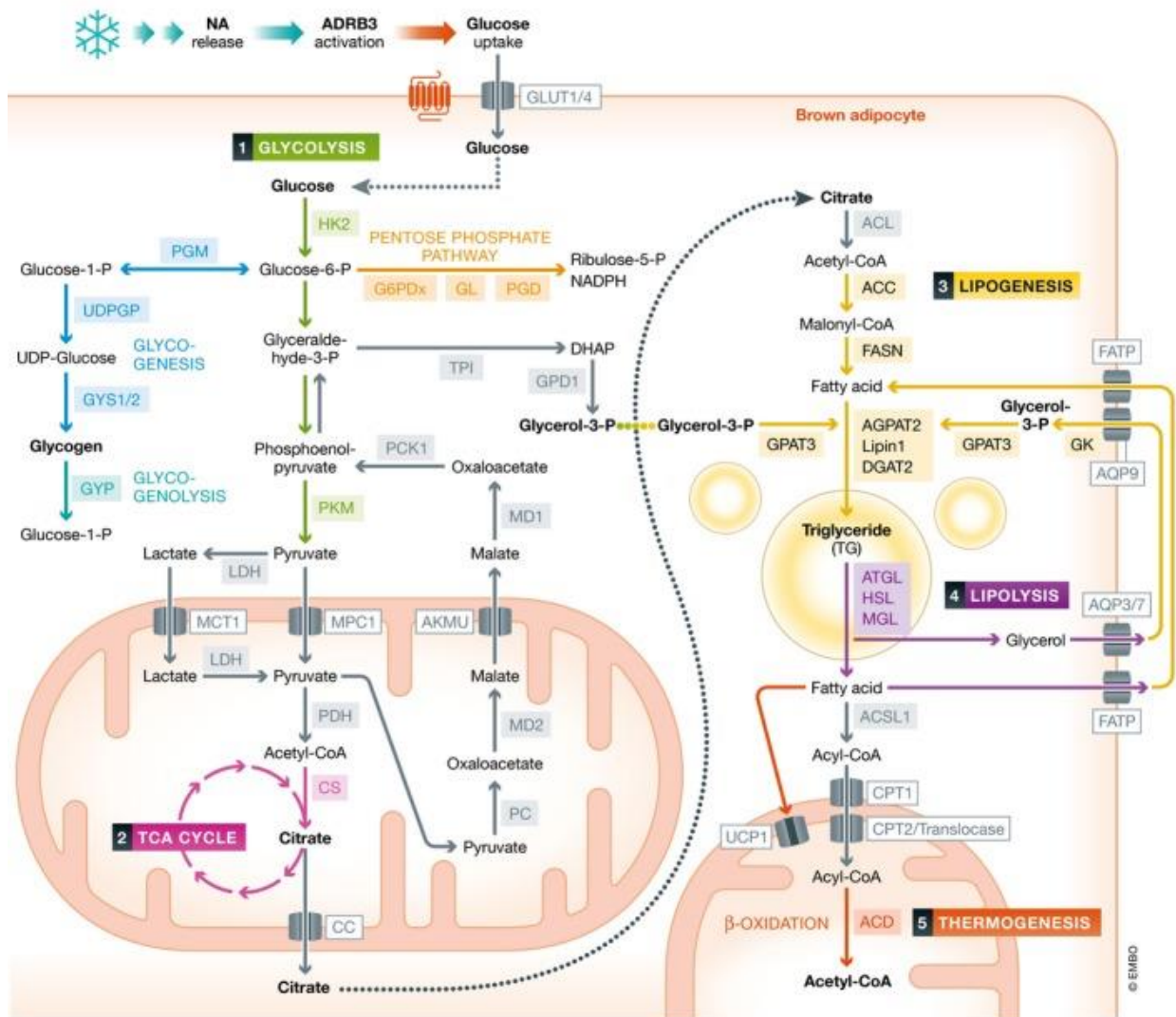


Figure 10. Importance du métabolisme dans le tissu adipeux brun.

Le glucose est utilisé par l'adipocyte brun pour l'alimentation du cycle de Krebs (TCA) dans le but de produire de l'ATP et du citrate. Le citrate est ensuite utilisé pour la lipogenèse et la génération des triglycérides (TG) qui seront stockés dans les gouttelettes lipidiques. La lipolyse des TG et l'entrée des acides gras (AG) par les transporteurs CD36 et FATP permet leur utilisation pour la génération de chaleur à travers la thermogénèse et l'activation de la protéine UCP1. (Hankir and Klingenspor, 2018).

ii. La lipolyse

A distance des repas ou suite à une stimulation adrénérgique, les AT ont la capacité de restituer l'énergie stockée dans les gouttelettes lipidique à travers l'hydrolyse des TG en AG. Ce processus s'appelle la lipolyse du tissu adipeux (Figure 11). Cette réaction est catalysée par trois enzymes : l'hydrolyse des TG stockés dans les gouttelettes lipidiques des adipocytes se fait essentiellement par l'action de l'enzyme ATGL (Adipose triglyceride lipase). Cette dernière permet la génération de DG et d'un AG et catalyse ainsi la première étape de lipolyse du tissu adipeux. Le DG est ensuite hydrolysé en monoacylglycérol (MG) et AG par l'enzyme HSL (hormone-sensitive lipase). En cas de défaut de fonctionnement de l'enzyme ATGL, il a été montré que la HSL pouvait prendre le relais pour palier partiellement à ce dysfonctionnement (Schweiger et al., 2006). Ainsi, plus de 90% des TG sont hydrolysés par l'ATGL et la HSL (Schweiger et al., 2006). Finalement, une dernière enzyme, la monoacylglycérol lipase (MGL), vient catalyser la troisième étape de la lipolyse du tissu adipeux. Celle-ci hydrolyse le MG en glycérol et AG (Duncan et al., 2007).

- ATGL, l'étape initiale

La contribution de l'enzyme ATGL à la lipolyse du tissu adipeux a été décrite pour la première fois en 2004 (Jenkins et al., 2004). Elle fait partie de la famille des protéines à domaine patatine qui comprend neuf membres chez l'Homme, et huit chez la souris et est codée par le gène PNPLA2 (Patatin-like phospholipase domain-containing protein 2). La protéine humaine est localisée principalement dans le tissu adipeux mais également à des niveaux plus faibles dans d'autres tissus tels que le muscle squelettique, le cœur et le foie (Schreiber et al., 2019). L'enzyme ATGL est composée de 504 acides aminés et possède un site catalytique (Ser-47 et Asp-166) au sein du domaine patatine (Rydel et al., 2003). La partie COOH- terminale possède une fonction majoritairement régulatrice et contient une région hydrophobe de fixation à la gouttelette lipidique (Duncan et al., 2010; Schweiger et al., 2008). En effet, l'ATGL est localisée sur la membrane de la gouttelette lipidique de l'adipocyte. La régulation de son expression et de son activité est particulièrement complexe. En effet, son expression dépend de l'état énergétique de l'organisme. Ainsi, l'expression de l'enzyme ATGL est diminuée en cas de prise alimentaire, en présence d'insuline ou par la voie de signalisation dépendante du complexe mTORC1 (mechanistic target of rapamycin (mTOR) complex 1) (Chakrabarti et al., 2013), un complexe protéique sensible aux niveaux énergétiques cellulaires et impliqué dans la synthèse protéique et de nombreux processus cellulaires tels que la prolifération, la croissance et la survie (Kim et al., 2002; Wullschleger et al., 2006). En revanche, l'ATGL est surexprimée

en cas de jeûne, en présence de glucocorticoïdes ou encore d'agonistes du récepteur PPAR γ (Lass et al., 2011), impliqué notamment dans la transcription des gènes du métabolisme (Mirza et al., 2019). Chez la souris, l'AMPK (AMP-activated protein kinase) est capable de phosphoryler la sérine S406 de l'enzyme ATGL augmentant ainsi son activité. En revanche, le rôle de l'AMPK sur la lipolyse reste controversé (Gaidhu et al., 2009; Gauthier et al., 2008).

Chez l'Homme comme chez la souris, l'activité de l'enzyme ATGL est stimulée par sa liaison avec le co-activateur appelé CGI-58 (comparative gene identification-58 ou ABHD5, α/β -fold domain-containing protein 5) (Lass et al., 2006). A l'état basal, l'ATGL, son co-activateur et la perilipine A sont localisés à la surface de la gouttelette lipidique (Girousse and Langin, 2012). Le co-activateur CGI-58 se lie et interagit de manière réversible avec la perilipine A, le rendant inactif et limitant ainsi l'hydrolyse des TG au sein de la gouttelette lipidique (Subramanian et al., 2004). En cas de stimulation, l'activation de la voie de signalisation de la PKA (protein kinase A) entraîne la phosphorylation de la perilipine A permettant ainsi la libération du co-activateur CGI-58, le rendant disponible pour son interaction avec l'ATGL ce qui a pour effet d'accentuer l'hydrolyse des TG au sein de la gouttelette lipidique (Schweiger et al., 2006) (Figure 11). Chez la souris, l'inhibition pharmacologique de l'enzyme *Atgl* par injection intrapéritonéale du composé ATGListatine conduit à la diminution de la libération des AG par le tissu adipeux, ainsi que des niveaux d'AG circulants (Schweiger et al., 2017). L'inhibition totale de l'enzyme *Atgl*, par une approche génétique, conduit à la diminution de la lipolyse du tissu adipeux ayant pour conséquence l'augmentation du poids des souris associée à de plus larges dépôts adipeux, mais également un défaut important de la thermogénèse du BAT ainsi qu'une obésité légère (Haemmerle, 2006). En comparaison, l'inhibition spécifique de l'enzyme *Atgl* dans le tissu adipeux *via* l'expression de l'enzyme cre recombinase sous le contrôle spécifique du gène de l'adiponectine, exprimée en surface des adipocytes, entraîne comme attendu l'altération de la lipolyse du WAT, une trans-différenciation des adipocytes bruns en adipocytes similaires aux adipocytes blancs, appelée *whitening*, ayant une importante et unique gouttelette lipidique, ainsi que l'altération de la thermogénèse du BAT. En revanche, ces souris ne présentent pas de modification de masse corporelle et ont une meilleure tolérance à l'insuline et au glucose (Schoiswohl et al., 2015). Chez l'Homme la déficience en ATGL mène à une pathologie de stockage des lipides neutres accompagnée de myopathie (NLSDM) et conduit à un phénotype similaire à celui observé chez la souris déficiente pour l'*Atgl* (Natali et al., 2013).

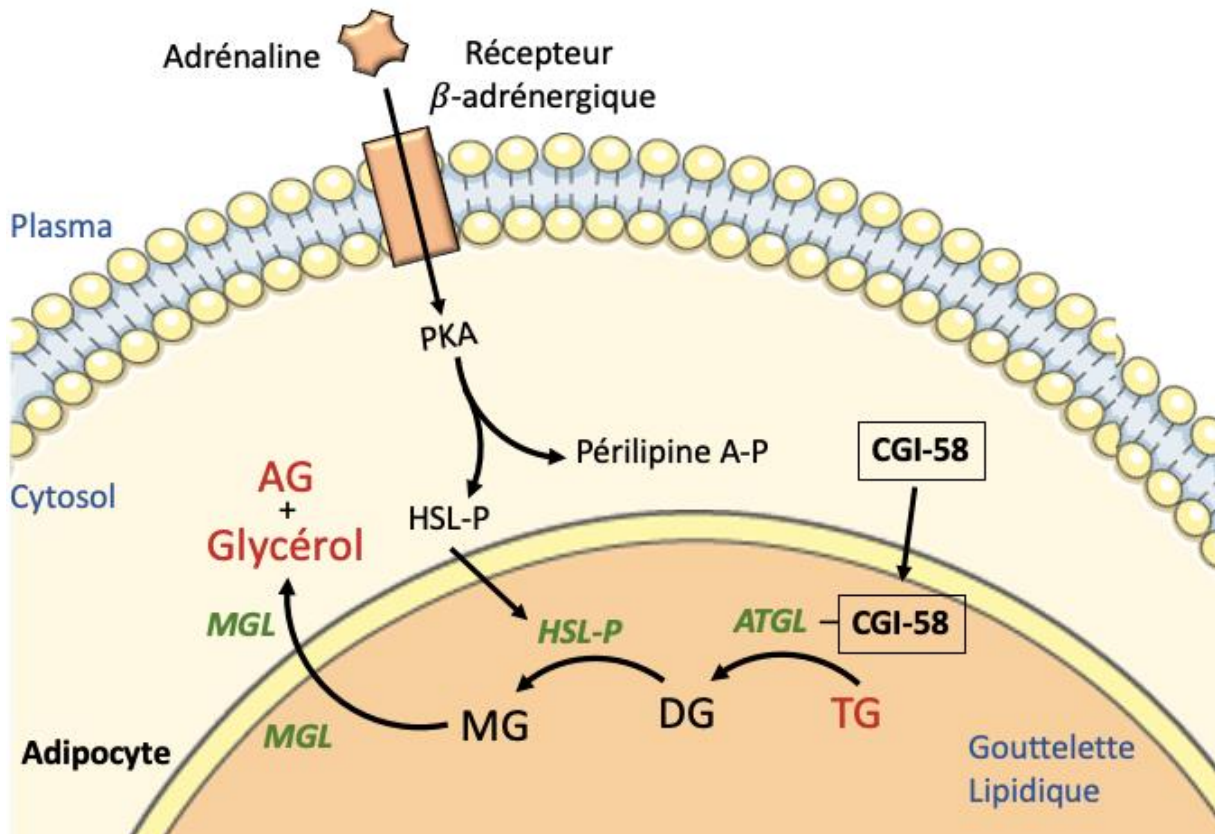


Figure 11. Représentation schématique de la lipolyse du tissu adipeux.

La lipolyse du tissu adipeux permet la mobilisation des acides gras à travers l'hydrolyse des triglycérides (TG) au sein de la gouttelette lipidique. La stimulation de la lipolyse est dépendante des signaux de l'environnement et notamment de la stimulation des récepteurs β -adrénergiques. Leur stimulation entraîne l'activation de la voie des PKA, entraînant la phosphorylation de la perilipine A et de la HSL (hormone sensitive lipase). La perilipine se dissocie alors du co-activateur de l'ATGL (adipose triglyceride lipase), CGI-58, permettant l'activation de l'ATGL et l'hydrolyse des TG, initiant ainsi la première étape de la lipolyse du tissu adipeux. La HSL phosphorylée entre dans la gouttelette lipidique et hydrolyse ensuite le diacylglycérol (DG) en monoacylglycérol (MG). Enfin, la MGL (monoacylglycerol lipase) catalyse la dernière réaction de la lipolyse conduisant à l'hydrolyse du MG en acide gras (AG) et glycérol. La MGL est présente à la fois dans la gouttelette lipidique et dans le cytosol de l'adipocyte.

- HSL, l'étape intermédiaire

La seconde étape de la lipolyse du tissu adipeux est catalysée par l'enzyme HSL. Cette enzyme a été identifiée et caractérisée pour la première fois en 1964 (Vaughan et al., 1964). Bien que capable d'hydrolyser les TG et les MG, la HSL est essentiellement impliquée dans l'hydrolyse du DG. Longtemps pensée comme étant l'enzyme limitante de la lipolyse du tissu adipeux, cette vision a dû être révisée (Osuga et al., 2000). En effet, les souris déficientes pour la HSL sont capables d'hydrolyser les TG de façon efficace mais présentent également une forte augmentation des niveaux de DG (Haemmerle et al., 2002) confirmant la forte affinité de la HSL pour les DG et son implication dans la seconde étape de la lipolyse du tissu adipeux.

A l'état basal, la HSL est localisée dans le cytosol de l'adipocyte. Lors de la stimulation de la lipolyse, l'activation de la voie de la PKA entraîne également la phosphorylation de la HSL, puis sa translocation au sein de la gouttelette lipidique. La HSL est alors capable d'agir en synergie avec l'ATGL, ayant pour effet d'augmenter l'efficacité de la lipolyse du tissu adipeux (Schweiger et al., 2006) (Figure 11). Par ailleurs, la liaison de la HSL à l'adipokine et protéine chaperonne intracellulaire FABP4 (Fatty acid binding protein 4, aP2) optimise son efficacité (Hotamisligil and Bernlohr, 2015; Shen et al., 2001; Smith et al., 2004).

- MGL, l'étape finale

La dernière étape de l'hydrolyse des TG est catalysée par l'enzyme MGL (Figure 11). Cette enzyme est spécifique de l'hydrolyse des MG issus de l'activité de la HSL et est localisée à la fois dans le cytosol de l'adipocyte et en surface de la gouttelette lipidique (Karlsson et al., 1997). Les MG sont ainsi hydrolysés en AG et glycérol par la MGL (Ahmadian et al., 2010; Bézaire and Langin, 2009). De façon intéressante, l'inhibition de la MGL n'altère pas l'efficacité de la lipolyse du tissu adipeux malgré une augmentation des niveaux de MG dans la gouttelette lipidique, mais semble au contraire être responsable de l'activation de la lipogenèse (Tardelli et al., 2019). En effet, la perte de la MGL est partiellement compensée par l'action de la HSL (Taschler et al., 2011) ce qui explique en partie l'intégrité du mécanisme de la lipolyse chez ces souris.

iii. La thermogenèse

Le processus de thermogenèse traduit la formation de chaleur à partir de l'énergie fournie par les substrats métaboliques au sein de la mitochondrie des adipocytes bruns et beiges (Wu et al., 2012). Ces adipocytes participent à la régulation thermique de l'organisme à l'état physiologique et en condition de stimulation. La libération de chaleur par les adipocytes est conditionnée par la respiration mitochondriale et plus précisément par l'implication de la chaîne

respiratoire. Ainsi, la majeure partie de l'énergie utilisée par les nombreuses mitochondries de ces adipocytes est libérée sous forme de chaleur (Nedergaard et al., 1977). La thermogenèse est notamment caractérisée par l'implication de la protéine UCP1 (uncoupling protein 1) localisée dans la membrane interne de la mitochondrie des adipocytes bruns et beiges, participant au découplage de la respiration mitochondriale, aussi appelé fuite de proton (Jacobsson et al., 1985; Nicholls, 2017; Smith et al., 1966). Dès les années 1960, les AG et les purines ont été identifiés comme régulateurs d'UCP1. *In vitro*, l'augmentation des niveaux d'AG du milieu de culture entraîne l'activation de UCP1 au sein des mitochondries des adipocytes bruns (Hittelman et al., 1969; Locke et al., 1982; Rafael et al., 1969). Cependant, la déplétion des AG du milieu entraîne l'absence totale de découplage des protons par UCP1. (Fedorenko et al., 2012; Shabalina et al., 2010). Les AG jouent donc un rôle activateur sur la fonction d'UCP1. Les purines ont au contraire un rôle d'inhibition du fonctionnement d'UCP1 qui est atténué en présence d'AG à longues chaînes (Fedorenko et al., 2012).

De façon intéressante, les animaux déficients pour UCP1 ne présentent pas de modification métabolique ou thermique en comparaison avec les animaux contrôles en condition basale. En revanche, l'exposition à une faible température entraîne chez les souris déficientes pour UCP1 une incapacité de régulation de leur température (Golozoubova et al., 2001; Lowell et al., 1993). De plus chez l'Homme comme chez le rongeur, le froid induit l'activation des neurones adrénergiques du système nerveux sympathique entraînant la stimulation de l'utilisation des AG pour l'activation d'UCP1 et la thermogenèse. En effet, la norépinephrine (NE), un agoniste des récepteurs β -adrénergiques exprimés sur la surface cellulaire, induit l'hydrolyse des TG stockés dans les nombreuses gouttelettes de l'adipocyte brun ou beige, permettant la mobilisation rapide des AG nécessaires au processus de thermogenèse à travers UCP1 (Harms and Seale, 2013; Heeren and Scheja, 2018; Huttunen et al., 1981; Li et al., 2014; Ouellet et al., 2012). Ainsi, la respiration mitochondriale et l'activation de UCP1 reposent sur l'oxydation des AG au sein de la mitochondrie (Bertholet and Kirichok, 2017) (Figure 10). De façon très intéressante, les substrats énergétiques issus de la nutrition sont également impliqués dans le contrôle de la thermogenèse à travers l'activation des récepteurs β -adrénergiques. En effet, un régime riche en graisse induit l'activation de la thermogenèse (Bachman, 2002; Lowell et al., 1993). Par ailleurs, les animaux génétiquement prédisposés à développer une obésité présentent une altération de leur capacité de régulation de la thermogenèse en comparaison aux souris contrôles (Jung et al., 1979). Ainsi, les récepteurs adrénergiques sont au cœur de la régulation thermique et semblent prévenir le développement de l'obésité et du diabète (Ouellet et al., 2011;

Saito et al., 2009; Yoneshiro et al., 2013). De ce fait, de nombreuses recherches thérapeutiques sont menées en ce sens mais n'ont à ce jour pas donné de résultats satisfaisants au regard des nombreux effets secondaires sur le système cardiovasculaire de par la présence des récepteurs β -3 adrénergiques dans le cœur et le muscle lisse (Arch, 2011; Cypess et al., 2012, 2015). Par ailleurs, de récentes études montrent qu'une augmentation de l'activité des adipocytes beiges entraîne au contraire des effets délétères associés au développement de cancers (Kir et al., 2014; Petruzzelli et al., 2014), compliquant d'autant plus la découverte de traitements pour les pathologies cardio-métaboliques.

De façon intéressante chez l'Homme, une exposition brève et régulière au froid entraîne une activation importante du BAT associée à une augmentation de la dépense énergétique et à une perte de masse grasse (Yoneshiro et al., 2013). En revanche chez la souris, la thermogénèse induite par le froid ne semble pas dépendre de l'hydrolyse des TG au sein des adipocytes bruns (Schreiber et al., 2017; Shin et al., 2017). De plus, les souris déficientes pour UCP1 acquièrent progressivement une capacité d'adaptation au froid permettant de compenser son absence (Golozoubova et al., 2001; Lowell et al., 1993). Ainsi, ces résultats suggèrent l'existence d'un ou plusieurs mécanismes responsables d'une thermogénèse indépendante de l'activité d'UCP1. Dans les adipocytes beiges, la thermogénèse est notamment assurée par le cycle du calcium et le cycle de la créatine (Ikeda et al., 2017; Kazak et al., 2015). De façon intéressante, le cycle du calcium repose non pas sur le métabolisme des AG mais sur le métabolisme du glucose. En effet, chez les souris déficientes pour UCP1, l'entrée de calcium dans la mitochondrie entraîne la surexpression de l'enzyme pyruvate déshydrogénase (PDH), ce qui induit la transformation du glucose en pyruvate qui sera ensuite lui-même transformé en acétyl-CoA pour être utilisé par la mitochondrie. La créatine quant à elle, induit l'hydrolyse de l'ATP en ADP associée à une augmentation de la production d'ATP par la mitochondrie ayant pour conséquence une respiration mitochondriale accrue (Kazak et al., 2015). Enfin, le recyclage du glycérol libéré à travers la lipolyse en TG semble également contribuer à la production de chaleur, bien que l'expression de l'enzyme responsable de ce recyclage, la glycérol kinase (GyK), semble être induite par des gènes inhibiteurs de la thermogénèse (Guan et al., 2002; Kiskinis et al., 2014). Ensemble ces données présentent la grande complexité des mécanismes de régulation de la thermogénèse mais offrent également de nouvelles pistes thérapeutiques prometteuses contre le développement des pathologies métaboliques qui nécessitent encore de plus amples investigations.

e. Régulations des tissus adipeux

i. Mécanismes de l'adipogenèse

Chaque année à l'état basal, environ 10% des adipocytes sont renouvelés par la différenciation des pré-adipocytes en adipocytes matures par le processus appelé adipogenèse (Spalding et al., 2008). De façon intéressante chez l'Homme sain, le nombre d'adipocytes matures au sein des différents tissus adipeux est déterminé dès la naissance et ne varie quasiment pas au cours de la vie (Spalding et al., 2008). Des études *in vitro*, ont permis d'identifier différentes étapes successives lors de la différenciation des pré-adipocytes en adipocytes matures (Esteve Ràfols, 2014). Ainsi, l'expansion clonale des pré-adipocytes entraîne une première différenciation dite précoce, caractérisée par l'expression de marqueurs spécifiques des jeunes adipocytes tels que C/EBP β et C/EBP δ , et par l'initiation du stockage des lipides neutres. Enfin, la différenciation des pré-adipocytes en adipocytes matures dépend de l'expression de facteurs de transcription tels que PPAR γ (Rosen and MacDougald, 2006) et la famille des C/EBP (Farmer, 2006). Les adipocytes ainsi différenciés expriment finalement les marqueurs spécifiques des adipocytes matures C/EBP α , C/EBP β , PPAR γ et RXR α (Rosen and Spiegelman, 2000). Par ailleurs, l'expression de PPAR γ est nécessaire au maintien des adipocytes matures au sein du tissu (Rosen and MacDougald, 2006).

Les tissus adipeux sont les lieux privilégiés du stockage de l'énergie. Comme nous l'avons vu précédemment, la gouttelette lipidique des adipocytes blancs permet au tissu adipeux une importante capacité d'extension appelée hypertrophie. Cependant, cette capacité est limitée et l'accumulation excessive des TG est toxique pour la cellule. En effet, cette accumulation entraîne l'activation de l'inflammasome NLRP3 menant à son apoptose (Giordano et al., 2013). Ainsi, afin de lutter contre cette lipotoxicité les pré-adipocytes présents dans le tissu adipeux se différencient en adipocytes matures à travers l'adipogenèse augmentant leur nombre et la capacité de stockage du tissu. Ce processus est appelé hyperplasie. Ainsi, l'hyperplasie est le reflet de la balance qui existe entre la prolifération et la différenciation des pré-adipocytes, et l'apoptose des adipocytes matures. De façon intéressante, cette balance varie selon le type de tissu adipeux et sa localisation (Joe et al., 2009). Ainsi, le tissu adipeux dispose de mécanismes qui permettent de protéger l'organisme du développement de pathologies métaboliques.

ii. Communication avec l'organisme

Les mécanismes de stockage et de libération de l'énergie par les tissus adipeux permettent une régulation fine des niveaux de glucose et d'AG circulants et nécessitent une communication constante avec leur environnement. De ce fait, le tissu adipeux est capable d'induire et répondre

à des stimulations à la fois hormonales (i.e. insuline, leptine) et sympathiques (i.e. adrénergique) (Coelho et al., 2013).

A travers ses caractéristiques physiques, le WAT a longtemps été décrit comme étant un simple réservoir de l'énergie. Cependant, dans les années 80, plusieurs études ont mis en lumière l'existence d'un lien entre cancer des voies génitales chez la femme et régime alimentaire (Cohen et al., 1981; Hankin and Rawlings, 1978) indiquant un effet à travers les fonctions endocrines du WAT (Siiteri, 1987). C'est en 1994, avec la découverte et la caractérisation de la leptine, hormone de la satiété, par l'équipe du Dr Friedman (Zhang et al., 1994), que le WAT est définitivement considéré comme un organe endocrine. De façon intéressante, la production de leptine par le WAT présente un rythme circadien ayant un pic de production la nuit chez l'Homme (Sinha et al., 1996) et est proportionnelle à la taille des adipocytes, reflétant leur contenu lipidique (Frederich et al., 1995; Zhang et al., 2002). Ainsi, la sécrétion de leptine est stimulée lors de l'activation de la voie de l'insuline (Barr et al., 1997) et de l'entrée de glucose au sein de l'adipocyte (Mueller et al., 1998). La leptine entraîne alors la sécrétion d'adrénaline et de noradrénaline au niveau des terminaisons nerveuses du tissu adipeux induisant l'activation des récepteurs β -adrénergiques sur les adipocytes pour finalement activer la lipolyse et la thermogénèse respectivement dans le WAT et le BAT (Scarpace and Matheny, 1998; Shen et al., 2007) entraînant une boucle de régulation (Buettner et al., 2008; Scarpace and Matheny, 1998). A l'image de la leptine, les adipocytes du WAT sont en effet capables de synthétiser et sécréter des hormones ainsi que des cytokines, appelées adipokines dans le tissu adipeux, agissant de façon autocrine/paracrine, c'est à dire sur eux-mêmes et leurs voisins, et endocrine, à travers l'organisme (Kershaw and Flier, 2004). Le WAT participe ainsi au maintien de l'homéostasie du glucose, au métabolisme des lipides mais également à l'angiogenèse et à l'inflammation. Outre les adipocytes, la SVF, constituée des précurseurs des adipocytes (Prunet-Marcassus et al., 2006; Rodriguez et al., 2005), de cellules immunitaires, telles que les monocytes, neutrophiles (Elgazar-Carmon et al., 2008), macrophages (Bornstein et al., 2000) et lymphocytes T et B (Winer et al., 2011; Wu et al., 2007; Ying et al., 2017), de cellules endothéliales et de fibroblastes, permet de garantir l'homéostasie du tissu et joue un rôle essentiel dans ces processus (i.e. angiogenèse et inflammation) (Esteve Ràfols, 2014; Ivanov et al., 2018).

iii. Macrophages du tissu adipeux

Au sein du tissu adipeux, les macrophages (ATM) jouent un rôle essentiel dans l'élimination des cellules apoptotiques, mais également dans l'équilibre lipidique et l'angiogenèse (Schipper

et al., 2012). Les ATM se différencient à partir des pré-adipocytes du tissu (Charrière et al., 2003), et semblent également capables de se différencier à nouveau en pré-adipocytes (Chazenbalk et al., 2011). Ils sont ainsi caractérisés par une importante plasticité. Les ATM prennent leur origine dans le sac vitellin et sont capables d'auto-renouvellement à l'âge adulte à l'état physiologique (Hassnain Waqas et al., 2017). De façon générale, on définit deux états d'activation des macrophages : l'état pro-inflammatoire ou classique (M1), et l'état anti-inflammatoire ou alternatif (M2) (Gordon and Taylor, 2005). Dans le tissu adipeux d'une personne mince, les macrophages expriment majoritairement un profil anti-inflammatoire M2 (Figure 12). Ils sont responsables de l'angiogenèse et contribuent au maintien et à la survie des adipocytes à travers la production de signaux tels que le TGF- β et la protectine (Ramon et al., 2016; Sorisky et al., 2013). De plus, la production d'IL-10 par les macrophages M2 contribue à la sensibilité à l'insuline, nécessaire pour la régulation de la glycémie (Osborn and Olefsky, 2012). Dans le tissu adipeux brun, les macrophages M2 sont également impliqués dans le processus de thermogenèse à travers l'induction de l'expression de UCP1 (van den Berg et al., 2017). En revanche, lors du développement de l'obésité, les macrophages M2 modifient leur signature transcriptionnelle et métabolique pour adopter un profil pro-inflammatoire (Lumeng et al., 2007) (Figure 12). Une des caractéristiques principales des ATM M1 est leur capacité d'internalisation des lipides (Hill et al., 2018) par un processus appelé lipophagie, associée à la lipolyse de ces derniers par l'enzyme LAL (lysosomal acid lipase) au sein de lysosomes (Ouimet et al., 2011; Singh et al., 2009). Cette capacité permet de limiter la lipotoxicité induite par la présence des lipides au sein du tissu adipeux mais ne semble pas indispensable à son homéostasie (Grijalva et al., 2016). Récemment, les travaux de Silva et coll. ont permis de préciser l'existence de populations distinctes d'ATM (Silva et al., 2019). En effet, certains macrophages résidents du tissu adipeux sont également associés aux cellules endothéliales des vaisseaux sanguins qui irriguent le tissu à l'état physiologique et sont identifiés comme les VAM (vasculature-associated macrophages). Ces macrophages sont caractérisés par leur proximité physique avec les vaisseaux sanguins, mais également par une importante capacité endocytaire traduisant leur profil anti-inflammatoire. Durant l'obésité, les ATM sont capables de produire du CCL2 jouant un rôle dans l'auto-renouvellement des macrophages *in-situ*, contribuant à l'inflammation du tissu (Amano et al., 2014) (Figure 12). Cependant, l'implication de CCL2 dans le recrutement des monocytes indique également que l'inflammation repose sur le recrutement de ces derniers et leur différenciation en macrophages inflammatoires (Figure 12). En effet, une troisième population de macrophages a été identifiée

dans le tissu adipeux. Ces macrophages sont dérivés des monocytes présents dans la circulation sanguine, expriment fortement le récepteur CCR2 et se différencient en macrophages pro-inflammatoires M1. Le recrutement de ces nouveaux macrophages est également associé à la perte des VAM, contribuant ainsi à l'inflammation du tissu.

De façon surprenante, la production de cytokines inflammatoires par les ATM induit l'activation de la lipolyse et de la dépense énergétique. Les souris déficientes pour la production de ces cytokines présentent en effet une diminution de leur dépense énergétique et développent une obésité (Ye and McGuinness, 2013). Au contraire, des niveaux élevés d'IL-6 sont associés à une dépense énergétique accrue, et à une protection contre le développement de l'obésité (Tang et al., 2010). L'inflammation dans le tissu adipeux semble donc associée à un effet protecteur. *In vitro*, les macrophages humains ont la capacité de phagocyter des fragments d'adipocytes, mécanisme appelé trogocytose (Sárvári et al., 2015). Cette capacité est déclenchée par l'interaction des macrophages avec les adipocytes environnants, induisant leur phagocytose. Dans ce contexte, les macrophages produisent alors de l'IL-6 de façon dépendante de la voie de signalisation de NF- κ B, impliquée dans l'augmentation de la dépense énergétique et à la protection contre l'obésité. La production d'IL-6 est également associée à une diminution de la production de TNF- α (Sárvári et al., 2015) expliquant la caractéristique protectrice des macrophages M1 dans le développement de l'obésité. Cependant, les macrophages M1 sont également impliqués dans la résistance à l'insuline, caractéristique des maladies cardio-métaboliques (Shoelson et al., 2007). *In vitro*, la production de TNF- α par les macrophages suite à leur co-culture en présence d'adipocytes entraîne l'inhibition de la voie de signalisation du récepteur à l'insuline associée à l'augmentation de l'activité basale lipolytique dans le tissu adipeux ayant pour conséquence la synthèse accrue d'acides gras. La lipolyse accrue induit alors une stimulation chronique des ATM menant à l'inflammation du tissu adipeux mettant en place un cercle vicieux (Suganami et al., 2005; Uysal et al., 1997). De façon très intéressante, le TNF- α n'est pas produit par les adipocytes du SCAT. Au contraire, ces derniers produisent de l'IL-6 responsable de l'inhibition de la production de TNF- α (Tilg et al., 1994). Ces résultats mettent en évidence la dichotomie qui existe entre les différents dépôts adipocytaires à travers l'organisme face à l'inflammation. Les ATM sont ainsi le support de l'équilibre entre inflammation et homéostasie du tissu (Ivanov et al., 2018; Russo and Lumeng, 2018; Thomas and Apovian, 2017). La réponse inflammatoire du tissu adipeux est donc un mécanisme très complexe qui dépend non seulement du type de tissu adipeux mais qui repose également sur la capacité d'auto-renouvellement des macrophages et sur le recrutement des monocytes

inflammatoires issus de la circulation sanguine (Silva et al., 2019). Ensemble, ces données suggèrent l'existence d'un lien étroit entre la régulation de la lipolyse du tissu adipeux et la réponse inflammatoire menant au développement des pathologies métaboliques. De ce fait, la libération des acides gras issus de la lipolyse du tissu adipeux dans la circulation sanguine pourrait également jouer un rôle essentiel dans la communication endocrine du tissu adipeux avec l'ensemble de l'organisme et la réponse inflammatoire périphérique à travers le recrutement spécifique des monocytes et leur métabolisme.

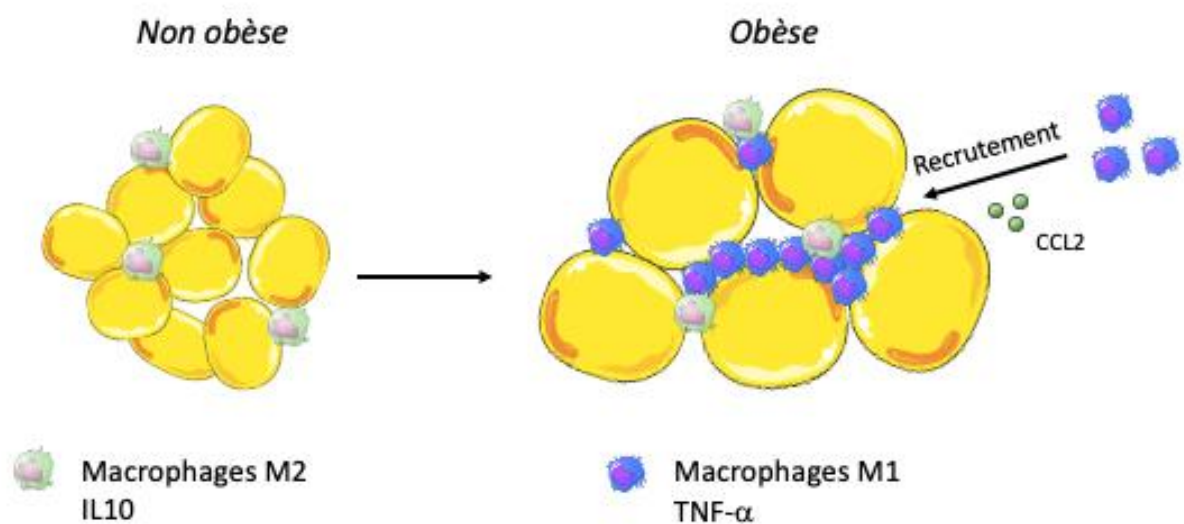


Figure 12. Les macrophages du tissu adipeux.

A l'état physiologique, les macrophages du tissu adipeux (ATM) non obèse présentent une signature et un état d'activation anti-inflammatoire M2 et sécrètent essentiellement l'interleukine IL-10 responsable de la sensibilité à l'insuline contribuant à l'homéostasie glucidique. Dans le cas de l'obésité, les macrophages M2 se différencient en macrophages M1 et adoptent ainsi une signature pro-inflammatoire. La production de TNF- α par ces macrophages contribue à la progression de l'inflammation. Les macrophages M1 produisent également du CCL2 qui entraîne leur auto-renouvellement et le recrutement de nouveaux macrophages M1 dérivés des monocytes de la circulation sanguine.

Chapitre 6. Le métabolisme des cellules myéloïdes

a. Introduction

Dans les années 1930, le Dr Otto Warburg mettait en évidence l'importance du métabolisme dans la fonction cellulaire des cellules cancéreuses et leur capacité à changer ce métabolisme en fonction de leurs besoins (Warburg, 1956). Depuis, les recherches menées dans le domaine du contrôle des cellules immunitaires par le métabolisme ont permis de mettre en lumière le caractère essentiel de celui-ci notamment dans la survie, la prolifération et la fonction des cellules myéloïdes (Ganeshan and Chawla, 2014). C'est la naissance de « l'immunométabolisme » (O'Neill et al., 2016). Ces processus reposent sur la production d'énergie sous forme d'ATP à partir de substrats métaboliques tels que le glucose, les acides aminés ou encore les AG (Vander Heiden et al., 2009). Ainsi, les cellules myéloïdes présentent un métabolisme différent en fonction de leur étape de différenciation et de leur environnement. Dans cette partie nous développerons la contribution du glucose, des acides aminés et des AG dans le développement, le maintien et la fonction des cellules myéloïdes.

b. Le glucose

Le glucose est un métabolite clé dans la production d'énergie dans la majorité des cellules vivantes et notamment chez les cellules à fort pouvoir prolifératif. Son catabolisme au travers de la glycolyse permet également la production d'intermédiaires nécessaires à de nombreuses voies métaboliques utilisées par la cellule. La première étape de la glycolyse induit la production de glucose-6-phosphate (G6P) nécessaire à la voie des pentoses phosphates (PPP) pour la production de NADPH (Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) utilisé par d'autres processus métaboliques tels que l'oxydation des AG (FAO). A l'état physiologique, le glucose est essentiellement utilisé par les cellules immunitaires à travers la glycolyse pour la production de pyruvate. Ce pyruvate sert ensuite de substrat au TCA au sein de la mitochondrie puis à la phosphorylation oxydative (OXPHOS) pour la production d'ATP et la respiration mitochondriale. En condition anaérobie, le pyruvate issu de la glycolyse est réduit en lactate par la lactate-déshydrogénase (LDH) à travers le processus de fermentation (Figure 13).

i. Métabolisme des HSC

La niche artériolaire, au centre de la moelle osseuse (Figure 4), est un environnement dit hypoxique, à faible teneur en oxygène (Parmar et al., 2007). En conséquence, les HSC qui y sont présents possèdent une faible masse mitochondriale associée à une utilisation majoritaire

du glucose dans la voie de la glycolyse anaérobie (Miharada et al., 2011) au détriment de l'OXPPOS qui a lieu habituellement dans les cellules de l'organisme (Yu et al., 2013). Cependant, la glycolyse anaérobie est un processus qui semble peu avantageux pour la cellule puisqu'elle ne permet la libération que de 2 molécules d'ATP par molécule de glucose contre 36 ATP en condition aérobie (Lunt and Vander Heiden, 2011). De façon intéressante, la production de lactate par la glycolyse anaérobie et par conséquent l'inhibition de l'OXPPOS permet de limiter la production de ROS, délétères pour les HSC (Suda et al., 2011). L'utilisation du glucose à travers la glycolyse anaérobie permet également l'inhibition de la différenciation des HSC et le maintien de leur état de quiescence. Au contraire, une diminution de la glycolyse entraîne une perte de la capacité de renouvellement des HSC (Takubo et al., 2013). D'autre part, l'activité du facteur HIF-1 α (hypoxia-inducible factor 1 alpha) et de sa voie de signalisation souligne la faible teneur en oxygène de la niche hématopoïétique (Takubo et al., 2010) et semble être déterminant dans la survie et la fonction des précurseurs des HSC (Morikawa and Takubo, 2016).

Une fois dans la niche sinusoïdale (Figure 4), où les niveaux d'oxygène sont plus importants, les HSC initient la production de ROS à travers l'activation de l'OXPPOS et du TCA, et vont ainsi pouvoir entrer en prolifération et se différencier (Kopp et al., 2005; Simsek et al., 2010). En effet, le marquage spécifique des ROS sur les HSC de la moelle osseuse a permis de mettre en évidence le lien qui existe entre la production de ROS et l'état prolifératif des cellules (Jang and Sharkis, 2007). Ainsi, la quiescence et le maintien du potentiel prolifératif des HSC sont dépendants de la glycolyse anaérobie quand l'entrée en cycle cellulaire et la différenciation des HSC dépendent de l'activation de l'OXPPOS et du TCA.

ii. Métabolisme des monocytes et macrophages

Parmi les cellules myéloïdes, le métabolisme du glucose chez les macrophages est l'un des plus étudiés (Newsholme et al., 1986). De façon artificielle, l'état d'activation pro-inflammatoire des macrophages est obtenu notamment par l'administration de LPS, ligand spécifique du TLR4. Au contraire, l'état d'activation anti-inflammatoire est obtenu en présence d'IL-4. Chez l'Homme, la captation du glucose par les macrophages est permise à travers l'expression de transporteurs de glucose de la famille des GLUT (SLC, solute carrier). De façon spécifique, les macrophages expriment majoritairement en leur surface les transporteurs GLUT1 (SLC2a1) et GLUT3 (SLC2a3) (Freemerman et al., 2014). Lors de l'activation des macrophages inflammatoires murins par le LPS, la surexpression de Glut1 est associée à une augmentation de l'utilisation de la voie de la glycolyse anaérobie ainsi qu'à une diminution de

l'activité mitochondriale (OXPHOS et TCA) (Nishizawa et al., 2014). Par ailleurs, la surexpression spécifique de Glut1 sur les macrophages entraîne l'augmentation de l'utilisation de la voie de la glycolyse ainsi que du PPP qui conduit à la libération de signaux inflammatoires tels que le TNF- α et l'IL-6 (Freemerman et al., 2014) (Figure 13). *In vitro*, la culture de monocytes en présence de LPS induit également la surexpression du transporteur GLUT1 (Wang et al., 2018). Chez des patients infectés par le HIV, la surexpression de GLUT1 est également associée à une augmentation de l'activité glycolytique des monocytes inflammatoires (Palmer et al., 2014). De façon intéressante, l'hyperglycémie entraîne la production des cellules myéloïdes par les HSC dans la moelle osseuse augmentant par conséquent le nombre de monocytes dans la circulation sanguine et plus particulièrement les monocytes inflammatoires (Flynn et al., 2020).

Par opposition, l'administration d'IL-4 entraîne l'utilisation de la glycolyse aérobie à travers l'activation des voies de signalisation de l'AKT et de mTORC1 (Covarrubias et al., 2016). Ainsi, le pyruvate puis l'acétyl-CoA qui en résultent sont utilisés par la mitochondrie dans le TCA et l'OXPHOS et augmentent la capacité respiratoire mitochondriale contribuant à la résolution de l'inflammation (O'Neill, 2016; Tan et al., 2015; Van den Bossche et al., 2015) (Figure 13). Par ailleurs, l'administration *in vitro* et *in vivo* de glucose non-métabolisable (2-deoxyglucose, 2DG) chez les macrophages et les monocytes, entraînant l'inhibition de la glycolyse, semble empêcher d'une part leur activation et le développement de l'inflammation (Hamilton et al., 1986; Michl et al., 1976), et inhiber d'autre part la production de TNF- α par les monocytes (Dietl et al., 2010). Cependant, l'utilisation de 2-DG est également associée à une diminution de la production d'ATP (Dennis, 2001), nécessaire au bon fonctionnement de la cellule et aux processus immunitaires qui en découlent. Les résultats obtenus sur le statut inflammatoire des macrophages dans ce contexte ne peuvent donc pas être attribués spécifiquement à l'inhibition de la glycolyse mais peuvent être la conséquence d'une moindre disponibilité de l'ATP.

Des expériences menées *in vitro* ont également permis de mettre en évidence une plus forte adhésion des monocytes humains (THP-1) sur les cellules endothéliales ainsi qu'une migration accrue en milieu riche en glucose (i.e. hyperglycémie) (Nandy et al., 2011). Par ailleurs, l'inhibition spécifique de Glut1 dans les cellules myéloïdes par une approche génétique entraîne une diminution de l'utilisation de la glycolyse et du PPP par les macrophages mais n'altère pas leur capacité de production de cytokines (Freemerman et al., 2019). Ces résultats indiquent que l'expression de Glut1 est essentielle pour la glycolyse mais que l'altération de son expression

n'induit que des modifications mineures à l'état physiologique, suggérant des mécanismes de compensation.

Une des principales fonctions des macrophages à travers l'organisme est de participer à l'élimination des cellules apoptotiques. Cette fonction est appelée efferocytose et est effectuée par les macrophages anti-inflammatoires (Gaber et al., 2017; Kelly and O'Neill, 2015). De façon surprenante, l'efferocytose repose cependant sur la glycolyse et induit l'expression des gènes responsables du métabolisme du glucose au détriment de l'OXPPOS (Morioka et al., 2018). En effet, le processus d'efferocytose repose en premier lieu sur la captation du glucose par Glut1 pour pouvoir détecter la cellule apoptotique et la phagocyter. Le transporteur du glucose Slc16a1 est ensuite surexprimé par le macrophage ce qui induit l'augmentation de la production de lactate contribuant à la mise en place d'un contexte anti-inflammatoire (Morioka et al., 2018). Ainsi, le métabolisme du glucose semble être un élément clef dans la réponse inflammatoire des cellules immunitaires et leur activation. Cependant, de plus amples études *in vivo* sont nécessaires pour mieux comprendre les tenants et aboutissants de ces modifications métaboliques notamment dans les monocytes.

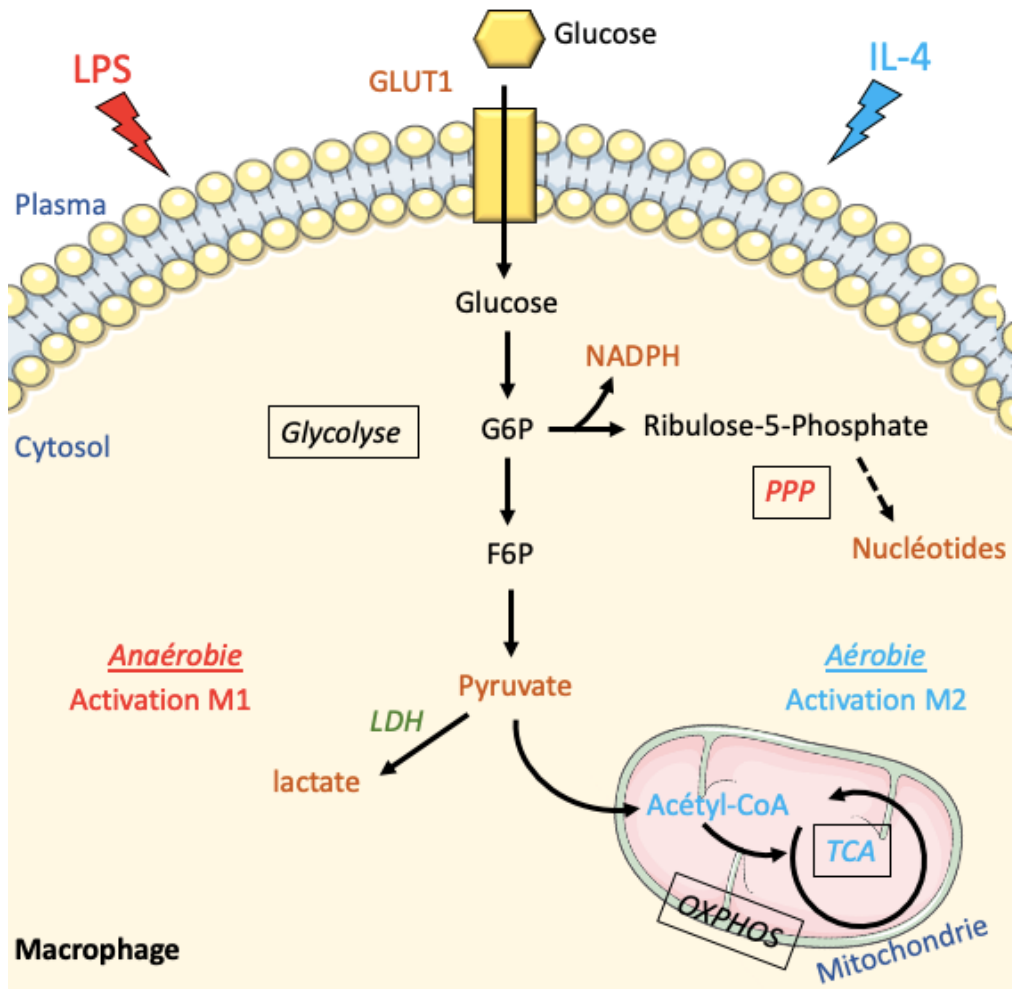


Figure 13. Métabolisme du glucose dans les macrophages.

L'administration de LPS induit l'expression de GLUT1 en surface des macrophages. Le glucose est alors hydrolysé Glucose-6-phosphate (G6P) qui sera utilisé par la voie des pentoses phosphates (PPP) pour la production de NADPH et de nucléotides, nécessaire à la production d'ATP. Le G6P est ensuite hydrolysé en Fructose-6-phosphate (F6P) puis en pyruvate à l'issue de ce processus de glycolyse. L'activation des macrophages par le LPS induit l'utilisation du pyruvate ainsi formé à travers le processus de fermentation pour la production de lactate.

L'activation des macrophages anti-inflammatoire par l'administration de l'IL-4 induit au contraire la transformation du pyruvate issu de la glycolyse en Acétyl-CoA. L'acétyl-CoA est ensuite utilisé par la mitochondrie à travers le cycle de Krebs (TCA) et la phosphorylation oxydative (OXPHOS) pour la production d'ATP.

c. Les acides aminés

Parmi les acides aminés (AA), la glutamine, l'arginine ou encore les *branched-chain amino acids* (BCAA) sont les plus étudiés. La glutamine est l'AA le plus abondant dans la circulation. Elle est impliquée dans de nombreux processus cellulaires tels que l'apport d'énergie à travers la production d'ATP, la synthèse des nucléotides, ainsi que la résistance au stress oxydatif, mais peut également être utilisée pour la synthèse des AG (Metallo et al., 2012). L'arginine quant à elle, joue un rôle pivot dans la production de monoxyde d'azote (NO) et dans la régulation de l'activation des macrophages en cas d'inflammation. Le groupe des BCAA est composé de la leucine, l'isoleucine et la valine. Ces trois AA sont dits essentiels chez l'Homme, car non-synthétisés par l'organisme. Les BCAA contribuent notamment à la production d'autres métabolites comme le glucose et les AG, essentiels aux cellules de l'organisme. De façon intéressante, un changement du taux d'un des BCAA, est accompagné d'un changement chez les deux autres, indiquant leur implication dans les mêmes processus métaboliques (Sivanand and Vander Heiden, 2020). La transamination des BCAA par les transaminases BCAT1 et BCAT2, dans le cytosol et la mitochondrie respectivement, permet l'utilisation de l'azote associé à l' α -ketoglutarate (α -KG) pour la synthèse de glutamine (Harper et al., 1984). Plus particulièrement, la leucine est l'AA majoritaire lors des apports de protéines par de la nutrition (Kamphorst et al., 2015), et permet notamment à la cellule de détecter les niveaux intracellulaires de BCAA. Sa liaison à la Sestrine 2 entraîne l'activation du complexe mTORC1 responsable entre-autre de la croissance cellulaire et du contrôle de leur métabolisme (Saxton and Sabatini, 2017; Wolfson et al., 2016). D'autre part, seule l'oxydation de l'isoleucine et de la valine permet de fournir les carbones nécessaires à la synthèse du glucose (Sivanand and Vander Heiden, 2020). Ainsi, l'oxydation des BCAA permet d'alimenter le TCA et l'OXPHOS des mitochondries, et informe la cellule de son état nutritionnel. Dans cette partie, nous verrons le rôle particulier que jouent ces différents AA dans la régulation des HSC, monocytes et macrophages.

i. Métabolisme des HSC

Au sein de la moelle osseuse, la concentration en AA est cent fois plus importante que dans la circulation sanguine suggérant son importance dans le contrôle des HSC (Taya et al., 2016). La glutamine est notamment impliquée dans l'engagement des HSC vers la lignée des cellules érythroïdes (Oburoglu et al., 2014). Dans la cellule, la glutamine est en premier lieu hydrolysée en glutamate, puis transformé en α -KG pour être utilisé à travers le TCA pour la production d'ATP (Liu et al., 2017; Ward et al., 2010). Des recherches *in vitro* montrent que la valine, joue

également un rôle dans la prolifération cellulaire des HSC. *In vivo*, elle est nécessaire au repeuplement de la moelle osseuse et au maintien des HSC *in situ* (Taya et al., 2016). Les études menées sur le métabolisme des AA dans les cellules immunitaires sont très récentes et nécessitent d'être approfondies pour déterminer le rôle des autres AA dans la fonction des HSC et sur les cellules de la niche hématopoïétique.

ii. *Métabolisme des monocytes et macrophages*

- La glutamine

L'accès des cellules immunitaire à la glutamine repose uniquement sur sa disponibilité dans la circulation sanguine et reflète directement les fluctuations dues à la nutrition (Ardawi and Newsholme, 1983). Son utilisation par les macrophages est essentielle pour leur apport énergétique mais également pour la synthèse des lipides membranaires (Curi et al., 1999). L'entrée de la glutamine dans ces cellules se fait notamment à travers l'expression du transporteur SLC1A5 solute carrier family 1 member 5) en leur surface. Une fois internalisée, la glutamine est hydrolysée en glutamate par l'enzyme glutaminase 1 (GLS1). Le glutamate peut alors soit être excrété, soit être hydrolysé en oxoglutarate pour être utilisé par le TCA pour la production d'ATP (Curi et al., 2017). Par ailleurs, lors d'une stimulation des macrophages au LPS, la voie mTOR, responsable de la détection des niveaux d'AA intracellulaires, induit l'expression du transporteur du glucose GLUT1, confirmant l'existence d'un lien étroit entre métabolisme du glucose et métabolisme des acides aminés (Nicklin et al., 2009). Dans ce contexte, l'entrée de la glutamine induit la production d'IL-1 β par les macrophages M1 (Wallace and Keast, 1992). Au contraire, lors d'une stimulation par l'IL-4, la glutamine est majoritairement utilisée à travers le TCA suggérant son implication dans l'activation des macrophages M2 (Jha et al., 2015). De plus, un déficit de l'apport de glutamine induit une altération de la polarisation de ces derniers (Liu et al., 2017).

Le glutamate est également un neurotransmetteur excitateur essentiel au fonctionnement neuronal. Au même titre que leurs homologues périphériques, les macrophages de la microglie sont capables d'hydrolyser la glutamine en glutamate par l'intermédiaire de GLS1 (Baglietto-Vargas et al., 2004; Huang et al., 2011). De façon intéressante dans le cerveau, la surexpression de Gls1 associée à une production de glutamate accrue entraîne des déficits cognitifs associés à une neuro-inflammation chez la souris (Wang et al., 2017b). Par ailleurs, l'activation des macrophages de la microglie par le TNF- α entraîne la surexpression de Gls1 associée à une synthèse accrue de glutamate (Wang et al., 2017a). L'inhibition de Gls1 dans ces cellules

entraîne également une diminution de la production des ROS suggérant un rôle essentiel de Gls1 dans la réponse au stress et à l'inflammation (Wu et al., 2018).

Le métabolisme de la glutamine semble également avoir un impact sur la fonction des monocytes. *In vitro*, les monocytes humains cultivés en présence de faibles concentrations de glutamine présentent une altération de leur capacité phagocytaire associée à une modification de l'expression des marqueurs de surface impliqués dans la phagocytose (Spittler et al., 1995). De plus, en 1986, Malone *et coll.* ont pu mettre en évidence le rôle potentiel que joue le kaïnate, un analogue cyclique du glutamate, dans l'attraction chimiotactique spécifique des monocytes humains. Cependant le glutamate ne semble pas avoir d'effet sur ce paramètre (Malone et al., 1986). A l'heure actuelle, très peu de données sont disponibles pour confirmer ces résultats et tout reste à faire dans l'étude du rôle du métabolisme des AA sur les monocytes.

- Les *branched-chain amino acids*

Les BCAA semblent être un facteur important dans la détection du développement des pathologies cardio-métaboliques (Batch et al., 2013; Shah et al., 2010; Wang et al., 2011). En effet, les BCAA ne sont pas métabolisés par le foie de par l'absence d'expression des BCAT dans cet organe. Ainsi, les niveaux de BCAA dans la circulation sanguine reflètent directement le statut nutritionnel de l'organisme (Brosnan, 2003). De plus, les BCAA jouent un rôle dans la régulation de la production de l'insuline et influencent ainsi le métabolisme du glucose (Newgard et al., 2009). Une étude récente publiée en 2018 par Yoon *et coll.* a permis de mettre en évidence l'implication particulière de la leucine dans le contrôle du métabolisme et de l'activation des monocytes et des macrophages *in vitro*. La leucine est transportée au sein de les cellules par le transporteur SLC7A5, connu majoritairement pour son implication dans les cellules tumorales hautement prolifératives et les cellules T (Ren et al., 2017; Sinclair et al., 2013). L'expression de SLC7A5 dans les monocytes et macrophages humains entraîne ainsi l'entrée de leucine dans les cellules menant à l'activation du complexe mTORC1 et de la glycolyse (Yoon et al., 2018), entraînant ainsi l'activation des macrophages M1 (Linke et al., 2017; Moon et al., 2015). Par ailleurs, l'augmentation des niveaux des produits intermédiaires de l'hydrolyse des BCAA, appelés *branched-chain ketoacids* (BCKA) entraîne une diminution de la capacité phagocytaire des macrophages (Silva et al., 2017). De façon intéressante, l'inhibition du transporteur des BCAA, CD98hc, dans les monocytes intestinaux entraîne une altération de leur différenciation en macrophages matures, associée à une expression accrue des gènes apoptotiques (Swiss IBD Cohort Investigators et al., 2020).

- L'arginine

Plus récemment, l'importance de l'arginine dans le processus d'efférocytose effectué par les macrophages M2 a été mise en évidence par Yurdagul *et coll.* En effet chez la souris, suite à la phagocytose d'une première cellule apoptotique par le macrophage, l'oxydation de l'arginine provenant de la cellule apoptotique par l'enzyme arginase 1 (Arg1) en ornithine, puis en putrescine par l'ornithine décarboxylase, permet l'activation de Rac1, protéine responsable de la stabilisation des filaments d'actine afin de permettre la phagocytose de la cellule apoptotique suivante. De plus, l'inhibition génétique spécifique d'Arg1 chez les macrophages murins entraîne un défaut d'efférocytose associé à la progression de l'athérosclérose (Yurdagul *et al.*, 2020). Ainsi l'arginine est un acteur clef dans la résolution de l'inflammation et permet l'élimination continue des cellules apoptotiques de l'environnement cellulaire. Cependant chez l'Homme, l'expression de l'Arg1 est faible et son implication dans les macrophages reste à déterminer.

A l'inverse, dans les macrophages pro-inflammatoires M1 l'arginine est utilisée pour la production de NO par l'enzyme inductible iNOS (inducible nitric oxide synthase, NOS2). En effet à l'état physiologique, iNOS n'est pas exprimé par les cellules au repos. Son expression est induite de façon calcium-dépendante suite à l'activation des macrophages pro-inflammatoires due à l'administration de LPS ou d'IFN γ (MacMicking *et al.*, 1997; Nathan, 1992). Dans les macrophages, suite à l'induction par le LPS, le NO induit ainsi l'inhibition de la respiration mitochondriale traduite par un changement métabolique dirigé en faveur de la glycolyse (Baseler *et al.*, 2016; Clementi *et al.*, 1998). De façon intéressante, les macrophages générant du NO ont une captation accrue de l'arginine (Bogle *et al.*, 1992). Cette caractéristique semble permettre à la cellule de pallier les demandes liées à l'utilisation accrue du NO. Ainsi l'arginine joue un rôle majeur dans le contrôle métabolique des macrophages et détermine leur état d'activation selon la voie dans laquelle elle est utilisée (i.e. Arg1 ou iNOS).

d. Les acides gras

Les AG sont également un métabolite primordial pour le fonctionnement des cellules myéloïdes. Leur oxydation permet de générer de nombreuses molécules d'ATP, ce qui fait de la FAO une des voies métaboliques les plus efficaces en termes de rendement : environ cent molécules d'ATP sont générées à partir d'une molécule de palmitate (Darvey, 1998). Pour pouvoir être métabolisés, les AG à moyenne et longue chaîne sont en premier lieu activés par la Co-A dans le cytosol des cellules pour générer de l'acyl-CoA. L'acyl-CoA est ensuite couplé

à la carnitine par la carnitine palmitoyl transférase I (CPT1) pour pouvoir traverser la membrane mitochondriale. La carnitine palmitoyl transférase II (CPT2) intervient à son tour pour découpler la carnitine et donner à nouveau de l'acyl-CoA (Figure 14). Les AG à chaîne courte quant à eux peuvent diffuser de façon passive à travers la membrane mitochondriale (Schönfeld and Wojtczak, 2016). Ainsi, la β -oxydation de l'acyl-CoA au sein de la mitochondrie permet de produire du NADH (Nicotinamide adénine dinucléotide) et du FADH₂ (flavine adénine dinucléotide), tous deux utilisés par L'OXPHOS pour la production d'ATP, et de l'acétyl-CoA, utilisé dans le TCA (Figure 14) (Longo et al., 2016).

i. Métabolisme des HSC

Des études métaboliques ont permis de mettre en évidence l'implication de la FAO notamment dans le maintien des HSC. Chez la souris, l'inhibition de la FAO entraîne une division symétrique des HSC associée à leur prolifération (Ito et al., 2012) ainsi qu'une diminution du stock de HSC traduisant un défaut du maintien de ces cellules. De façon intéressante, les mêmes résultats sont obtenus lors de l'inhibition du facteur de transcription PPAR- δ , notamment responsable de la régulation du transport et de l'oxydation des AG à travers la FAO (Takahashi et al., 2007). De plus, la transplantation de moelle osseuse de souris déficientes pour PPAR- δ chez des souris contrôles entraîne un défaut de repeuplement des HSC. En revanche, leur traitement par un agoniste de PPAR- δ entraîne un meilleur maintien dans le temps et empêche ainsi l'épuisement du stock de HSC (Ito et al., 2012). Ainsi, la voie de la FAO contrôle le maintien des HSC à travers l'expression de PPAR- δ . Par ailleurs, l'activation de la voie de PPAR- δ reflète les résultats obtenus lors d'une activité physique par l'augmentation du nombre de fibres oxydatives associée à une FAO accrue. Ces résultats font de PPAR- δ une cible thérapeutique prometteuse pour le traitement de pathologies métaboliques telle que l'obésité (Narkar et al., 2008). Ainsi, au même titre que la glycolyse, la FAO tient une place prépondérante dans le contrôle et le maintien des HSC et des précurseurs myéloïdes au sein de la moelle osseuse.

ii. Métabolisme des monocytes et macrophages

L'absorption des AG à longue chaîne par les macrophages se fait par l'expression de CD36 et des FATP en leur surface et permet ainsi l'utilisation des AG par la FAO (Figure 14). Parmi la famille des FATP, FATP1 et FATP4 sont préférentiellement exprimés par les macrophages M1 tandis que FATP6 est exprimé par les macrophages M2 (Nishiyama et al., 2018). Ainsi, la surexpression de FATP1 chez les macrophage M1 entraîne la production de cytokines inflammatoires telles que le TNF- α et l'IL-6 (Johnson et al., 2016; Nishiyama et al., 2018)

indiquant l'implication de l'entrée des AG à travers FATP1 dans la réponse inflammatoire des macrophages M1.

Par ailleurs, l'administration d'IL-4 induit l'expression de CD36 (Su and Abumrad, 2009). Dans la circulation sanguine, les AG sont rencontrés soit sous forme de lipoprotéines riches en TG (VLDL-TG ou chylomicrons-TG), soit liés à l'albumine. Ainsi, les AG liés à l'albumine peuvent entrer directement dans le macrophage à travers le transporteur CD36 (Endemann et al., 1993). Les lipoprotéines riches en TG provenant de la circulation sont quant à elles internalisées au sein de lysosomes lors de l'activation des macrophages par l'IL-4. L'enzyme LAL, responsable de la lipolyse au sein des lysosomes, contribue ainsi à l'hydrolyse de ces lipoprotéines riches en AG pour alimenter la FAO et participer à l'activation des macrophages M2 (Huang et al., 2014) (Figure 14). De façon intéressante, LAL est également présente dans les monocytes humains THP-1 et est essentielle à leur différenciation (Ries et al., 1998). De plus, l'inhibition de CD36, comme l'inhibition de la lipolyse lysosomale, entraîne un défaut partiel d'activation des macrophages M2 (Huang et al., 2014) confirmant leur implication dans la FAO. Comme nous l'avons vu précédemment, l'entrée des AG à chaîne longue et moyenne dans la mitochondrie est dépendante de l'expression de CPT-1 et de CPT-2. *In vitro* dans les macrophages, la surexpression spécifique de CPT-1 entraîne une diminution des niveaux lipidiques dans le milieu, associée à une augmentation de la FAO, ainsi qu'à une diminution de l'expression des signaux inflammatoires (Malandrino et al., 2015). Cependant, malgré une altération de la FAO, l'inhibition spécifique de CPT-2 dans les macrophages n'entraîne pas d'altération de l'activation des macrophages M2 (Nomura et al., 2016). De plus chez l'Homme, l'inhibition de CPT-1 par l'étomoxir et donc de la FAO, ne semble pas altérer l'activation des macrophages anti-inflammatoires (Namgaladze and Brüne, 2014) faisant de la FAO un processus secondaire pour l'activation des macrophages anti-inflammatoires. Cependant, une récente étude menée par O'Connor *et coll.* ont mis en évidence un effet de l'étomoxir sur le métabolisme de la glutamine ainsi que sur la production de ROS mitochondriaux (O'Connor et al., 2018). De ce fait, les résultats obtenus lors de l'utilisation de l'étomoxir ne peuvent être attribué de façon définitive à l'inhibition spécifique de la FAO.

In vitro, le palmitate est impliqué dans l'activation de l'inflammasome NLRP3 par le biais de la production de ROS mitochondriaux (Wen et al., 2011). Ainsi, dans les macrophages, l'activation de l'inflammasome NLRP3 conduit à la production d'IL-1 β mature et fonctionnel responsable de la réponse inflammatoire (Bryant and Fitzgerald, 2009). Dans les monocytes, le palmitate entraîne la production de molécules d'adhésion telles que ICAM et l'E-selectin

traduisant une adhésion accrue des monocytes sur les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins, et pouvant ainsi faciliter leur extravasation vers les tissus périphériques (Shikama et al., 2015). Le palmitate induit également la production d'IL-1 β par les monocytes sanguins, capable de déclencher la réponse inflammatoire qui s'en suit dans les tissus périphériques (Shikama et al., 2015; Snodgrass et al., 2013). De façon intéressante, les adipocytes composant la moelle osseuse sont également connus pour être une source importante de production d'énergie pour les cellules qui s'y trouvent, mais également pour jouer un rôle dans l'activation et la différenciation des précurseurs myéloïdes en monocytes en cas d'inflammation (Johnson et al., 2012). FABP4 est également un des acteurs majeurs du transport intracellulaire des AG vers le RE ou la mitochondrie du macrophage (Furuhashi et al., 2011). Son expression est notamment induite par l'administration de LPS, mais aussi par l'insuline, les agonistes de PPAR γ , ainsi que par les AG (Fu et al., 2000; Kazemi et al., 2005; Pelton et al., 1999). En retour, FABP4 régule négativement l'expression de PPAR γ . Plus particulièrement, FABP4 possède une plus forte affinité pour les AG à longue chaîne que l'albumine et notamment pour l'acide linoléique et α -linoléique (Furuhashi, 2019; Furuhashi et al., 2016). Au contraire dans les macrophages, FABP5 (Mal1) semble avoir une action anti-inflammatoire notamment par le contrôle de la production des ROS (Gally et al., 2013).

De façon intéressante, les macrophages expriment également en leur surface des protéines capables de détecter les niveaux d'AG circulants appelées FFAR (Free fatty acid receptor, GPR). FFAR4 est sensible aux niveaux circulants des LCFA et est impliqué dans la réponse anti-inflammatoire des macrophages. En effet, son activation par les LCFA entraîne la diminution de l'expression des TLR (i.e. TLR2/3/4), associée à l'inhibition de l'inflammasome NLRP3 ainsi qu'à une diminution de la production du TNF- α et IL-1 β . FFAR2 et GPR109a sont impliqués dans la signalisation des SCFA chez les leucocytes. GPR109a est sensible essentiellement au butyrate (Thangaraju et al., 2009). Par ailleurs, les SCFA entraînent l'inhibition des histones déacétylases, importantes dans la régulation de l'expression génique, associée à une inhibition du profil pro-inflammatoire des macrophages (Chang et al., 2014). De ce fait les SCFA et plus particulièrement le butyrate, semblent avoir un effet anti-inflammatoire dans les macrophages. Enfin le récepteur aux MCFA, GPR84, est fortement exprimé par les macrophages inflammatoires (Wang et al., 2006). Lors d'une administration de LPS, GPR84 est surexprimé et induit la production d'IL-12 et de TNF- α par les macrophages M1 (Suzuki et al., 2013). Ainsi, contrairement au LCFA et SCFA, les MCFA semblent avoir un rôle pro-inflammatoire dans les macrophages.

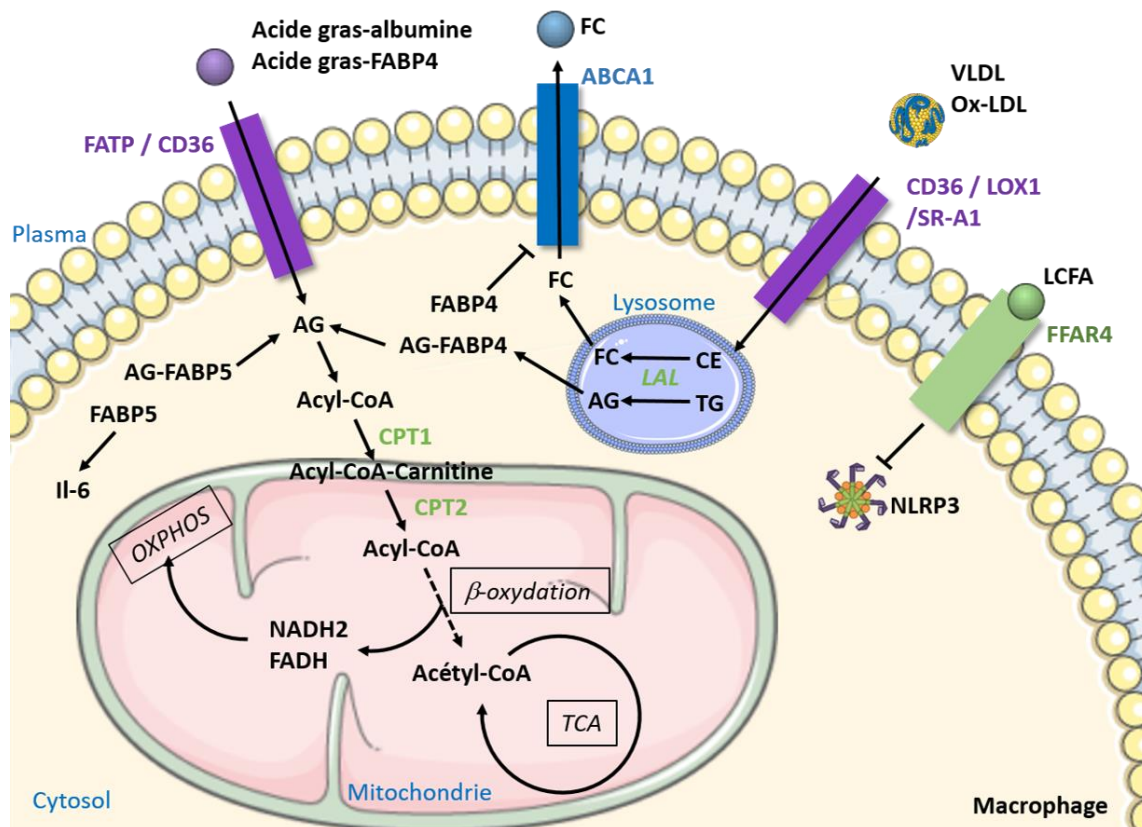


Figure 14. Métabolisme de l'oxydation des acides gras dans les macrophages.

Les acides gras (AG) de la circulation sanguine liés à l'albumine ou à la protéine FABP4 se fixent sur les récepteurs CD36 et FATP en surface du macrophage pour intégrer le cytoplasme de la cellule. Les lipides oxydés (Ox-LDL) et les lipoprotéines riches en TG (VLDL et chylomicrons) entrent dans le macrophage par les transporteurs CD36, LOX1 ou SR-A1 et sont internalisés dans un lysosome sous forme d'ester de cholestérol (CE). Les CE sont alors hydrolysés en cholestérol libre (FC) par l'enzyme LAL. Le FC est ensuite efflué par le macrophage à travers le transporteur ABCA1. Les lipoprotéines riches en TG sont également hydrolysés en AG par l'enzyme LAL au sein du lysosome. Dans le cytosol, les protéines chaperonnes FABP4 et FABP5 guident les acides gras vers les différents organelles. FABP4 est également impliqué dans l'inhibition du transporteur ABCA1 entraînant l'accumulation de cholestérol au sein du macrophage. FABP5 est responsable du phénotype pro-inflammatoire du macrophage notamment à travers la production d'IL-6. Les AG sont transformés dans le cytosol en Acyl-CoA. La protéine CPT1, exprimée sur la membrane externe de la mitochondrie, entraîne alors l'association de l'Acyl-CoA à la carnitine. L'Acyl-CoA-Carnitine peut ainsi entrer dans l'espace inter-membranaire. La protéine CPT2 exprimée sur la membrane interne de la mitochondrie dissocie la carnitine de l'Acyl-CoA, permettant son entrée au sein de la mitochondrie où il sera utilisé à travers la β -oxydation pour la production d'AcétylCoA, NADH₂ et FADH. Le NADH₂ et le FADH sont ensuite utilisés par la phosphorylation oxydative (OXPHOS). L'Acétyl-CoA entre dans le cycle de Krebs (TCA) pour la production d'ATP. Le récepteur aux acides gras FFAR4 détecte les niveaux d'acides gras à chaîne longue (LCFA) du milieu. Son activation entraîne l'inhibition de l'inflammasome NLRP3 liée à un phénotype anti-inflammatoire.

- L'exemple de l'athérosclérose

Dans les maladies cardio-métaboliques et tout particulièrement dans l'athérosclérose, le métabolisme des AG dans les macrophages est le mécanisme le plus étudié et le mieux compris. Dans cette pathologie, l'accumulation excessive de lipides oxydés et d'esters de cholestérol dans la circulation sanguine entraîne le développement de plaques d'athérome dans la paroi interne (*intima*) des vaisseaux de moyen et gros calibre et induit l'accumulation de cellules immunitaires telles que les macrophages dans la plaque. Les macrophages de la plaque phagocytent les lipides oxydés, ce qui induit leur différenciation en cellules spumeuses (Carpenter et al., 1995; Lusis, 2000). Les lipoprotéines riches sont en premier lieu hydrolysées en AG non-estérifiés dans la circulation par la LPL afin de pouvoir être captées par le macrophage. Une fois dans le macrophage, les AG sont soit directement utilisés par la FAO pour satisfaire les besoins métaboliques de la cellule spumeuse, soit stockés au sein de la gouttelette lipidique sous forme de TG. Cette estérification des AG en TG est dépendante de l'activité des ACS et permet ainsi d'éviter la lipotoxicité induite par l'accumulation des AG (Saraswathi and Hasty, 2009). Cependant, lorsque les lipides s'accumulent de façon excessive dans la cellule spumeuse, celle-ci entre en apoptose et libère son contenu au sein de la plaque aggravant le phénotype inflammatoire (Ghosh et al., 2010; Tabas and Bornfeldt, 2016; Unger and Orci, 2002). Plus particulièrement, l'absorption spécifique des AG insaturés tels que l'acide oléique, linoléique ou arachidonique par les macrophages *in vivo* entraîne la production d'IL-1 α puis de TNF- α pro-inflammatoires par les cellules spumeuses (Freigang et al., 2013). De façon très intéressante, à l'image des adipocytes, les cellules myéloïdes expriment également l'enzyme ATGL, responsable de la première étape de la lipolyse du tissu adipeux (Dichlberger et al., 2014; Lammers et al., 2011; Schlager et al., 2015), suggérant un rôle essentiel dans l'homéostasie lipidique. Plus particulièrement dans les macrophages murins, l'inhibition de l'ATGL entraîne une accumulation des TG dans leur gouttelette lipidique associée à une diminution de la production d'IL-6 pro-inflammatoire ainsi qu'à une diminution du nombre de macrophages au sein de la plaque (Lammers et al., 2011). Par ailleurs, l'absence de FABP4 chez des souris déficientes pour l'ApoE, responsable notamment de l'élimination du cholestérol au sein de cellules (Greenow et al., 2005), empêche le développement de l'athérosclérose (Makowski et al., 2001). Ces macrophages présentent une diminution du stock de cholestérol-ester au sein de leur gouttelette lipidique ainsi qu'une diminution de la production des cytokines inflammatoires. FABP4 joue ainsi un rôle essentiel dans la communication entre AG et macrophages pendant l'inflammation. Par ailleurs, l'activation de PPAR γ à travers l'inhibition

de FABP5 entraîne une diminution de l'expression de CCR2 en surface des monocytes associée à une diminution de leur infiltration au sein de la plaque d'athérome, mettant en lumière le rôle athérogène de FABP5 (Babaev et al., 2011).

- L'exemple de l'obésité

Dans le cas de l'obésité, le tissu adipeux est infiltré par les macrophages contribuant à l'inflammation chronique et aux modifications métaboliques (Hotamisligil et al., 1995). Chez un patient obèse, les macrophages représentent près de 50% des cellules immunitaires (CD45⁺) du tissu adipeux contre 15% chez un patient sain (Cinti et al., 2005). L'inflammation chronique qui a lieu dans le tissu adipeux des patients obèses est étroitement liée à l'interaction des adipocytes avec les macrophages (McNelis and Olefsky, 2014). En effet, dans les stades avancés de l'obésité, les adipocytes du WAT meurent par nécrose, provoquant la libération d'AG libres dans le tissu adipeux. Cette accumulation entraîne le regroupement des macrophages autour des adipocytes nécrotiques formant une couronne appelée *crown-like structure* (CLS) (Nishimura et al., 2007; Strissel et al., 2007). Plus spécifiquement, la libération d'AG libres saturés entraîne la production de TNF- α par les macrophages (Suganami et al., 2005). Le TNF- α induit alors l'activation de l'inflammasome NLRP3, menant à la production d'IL-1 β (Stienstra et al., 2010). En parallèle, les AG saturés activent également le TLR4 qui contribue à la progression de l'inflammation et au développement de la résistance à l'insuline (Nguyen et al., 2007; Suganami et al., 2005).

De façon très intéressante, la Resolvin E1 (RvE1), un dérivé des oméga-3, semble au contraire participer à la fonction des monocytes circulants dans les vaisseaux sanguins et contribue à l'amélioration du contrôle métabolique chez des sujets en surpoids (Shikama et al., 2017; Sima et al., 2018). Par ailleurs chez la souris, un régime riche en graisse entraîne une infiltration et une différenciation accrue des monocytes au sein des tissus adipeux menant à une résistance à l'insuline ainsi qu'à l'inflammation chronique du tissu (Nguyen et al., 2007). De plus, l'infiltration des monocytes vers les tissus adipeux dépend de l'expression du récepteur des AG FFAR4 en leur surface puisque son inhibition couplée à un régime riche en graisse entraîne une diminution de l'infiltration des monocytes dans le tissu adipeux (Oh et al., 2014).

Ensemble, ces résultats montrent que les AG et la FAO jouent un rôle pivot dans la réponse inflammatoire des monocytes et des macrophages et leur différenciation dans les tissus périphériques, et semblent être une cible thérapeutique prometteuse dans le traitement des pathologies métaboliques. A l'heure actuelle, les données disponibles sur le contrôle métabolique des monocytes par les AG sont très limitées et des études supplémentaires sont

encore nécessaires pour connaître les mécanismes intrinsèques qui s'opèrent lors de l'utilisation des AG à travers la FAO pour la survie, la fonction et la mobilité des monocytes à l'état physiologique comme en contexte inflammatoire.

Pour aller plus loin, nous avons également publié deux revues traitant de l'importance du métabolisme sur la réponse inflammatoire des cellules immunitaires ainsi que des signaux environnementaux dans la fonction des macrophages dans le contexte de l'athérosclérose (Stunault et al., 2018, 2020).

Reviews

Revue 1 :

Marion I. Stunault, Gaël Bories, Rodolphe R. Guinamard and Stoyan Ivanov - Metabolism Plays a Key Role during Macrophage Activation. *Mediators of inflammation*, 2018, Volume 2018, Article ID 2426138.

Revue 2 :

Marion I. Stunault*, Alexandre Gallerand*, Johanna Merlin*, Rodolphe R. Guinamard, Laurent Yvan-Charvet, Stoyan Ivanov. Myeloid Cell Diversity and Impact of Metabolic Cues during Atherosclerosis. *Immunometabolism*. 2020;2(4):e200028.

Review Article

Metabolism Plays a Key Role during Macrophage Activation

Marion I. Stunault, Gaël Bories, Rodolphe R. Guinamard, and Stoyan Ivanov 

Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire-Université Côte d'Azur-INSERM U1065, Team 13, France

Correspondence should be addressed to Stoyan Ivanov; stoyan.ivanov@unice.fr

Received 7 August 2018; Revised 16 October 2018; Accepted 22 October 2018; Published 10 December 2018

Academic Editor: Bernard Ryffel

Copyright © 2018 Marion I. Stunault et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Monocyte and macrophage diversity is evidenced by the modulation of cell surface markers and differential production of soluble mediators. These immune cells play key roles in controlling tissue homeostasis, infections, and excessive inflammation. Macrophages remove dead cells in a process named efferocytosis, contributing to the healthy tissue maintenance. Recently, it became clear that the main macrophage functions are under metabolic control. Modulation of glucose, fatty acid, and amino acid metabolism is associated with various macrophage activations in response to external stimuli. Deciphering these metabolic pathways provided critical information about macrophage functions.

1. Introduction

Monocytes and macrophages are part of the mononuclear phagocytic system and share multiple cell surface markers. Historically, monocytes were described as necessary precursors for tissue-resident macrophages. However, this concept has recently been challenged by the discovery of embryonically derived macrophage subsets in several tissues including those of the brain and heart [1–5]. The pool of embryonically derived macrophages renews via self-proliferation, independently from the pool of bone marrow-generated monocytes [6]. Another observation that defied the initial concept is the presence of monocytes in peripheral tissues, outside the blood vasculature [7]. A genome-wide transcriptional analysis of macrophages, isolated from a large pattern of tissues, revealed that each subset of tissue-resident macrophages has a unique transcriptional profile despite a conserved core signature. This suggests diversity in the pool of tissue-resident macrophages driven by their local environment [8]. Those observations were followed by the identification of transcription factors controlling the development and fate of a single population of tissue-resident macrophages [9–12]. For instance, tissue-specific signals induce a core signature refinement by signal-dependent transcription factors [13].

This allows macrophages to perform unique functions. For example, splenic macrophages are dependent on the transcription factor Spi-C regulated by heme concentrations. Red pulp splenic macrophage absence in Spi-C-deficient mice induces splenic iron accumulation due to impaired erythrocyte clearance [14]. Another example is the large peritoneal macrophage population that relies on dietary retinoic acid induction of the transcription factor Gata6 to develop and survive [11]. Macrophage plasticity with respect to environmental cues is supported by large peritoneal macrophage loss of phenotypic and transcriptional core-specific signature once transferred to a new environment or when Gata6 is genetically removed [11, 15]. However, comprehensive links between local microenvironmental cues and tissue-resident macrophage fate are still largely lacking.

Recently, macrophage modulation of metabolism emerged as a central player during their activation [16]. Nevertheless, to what extent does the wide transcriptional diversity of tissue-resident macrophages reflect on and to what extent is it driven by environmental and metabolic adaptations remain to be elucidated. The purpose of this manuscript is to review the metabolic demands of monocytes and tissue-resident macrophages.

2. Mononuclear Phagocytic Cells

2.1. Monocytes. Monocytes are generated in the bone marrow from progenitor cells during a process named myelopoiesis (for review, see [17]). Once these cells complete their maturation, they eventually egress to the blood circulation and peripheral tissues. Monocyte retention in the bone marrow and their entry into blood vessels are under the tight control of chemokine and chemokine-receptor interactions. For instance, the CXCR4-CXCL12 and CCR2-CCL2 axes have been implicated in this process [18–20]. The contribution of these pathways is illustrated through blood monocyte drop and bone marrow accumulation in genetic models where these pathways are ablated. Recently, metabolic factors have also been implicated in the control of monocyte pool in the bone marrow [21, 22].

Blood monocytes are easily separated into at least 2 subsets based on the expression of the cell surface marker Ly6C in mice. Using this criterion, classical/inflammatory monocytes are characterized by a high level of Ly6C, while nonclassical/patrolling monocytes are Ly6C^{low}. The latter subset is dependent on the transcription factor Nr4a1 (nuclear receptor subfamily 4 group A member 1), as demonstrated by their loss in Nr4a1-deficient mice [23]. Interestingly, Ly6C^{low} monocytes are resident of the blood vasculature where they play a critical role in vessel homeostasis eliminating stressed and dying endothelial cells [24]. Recently, it was also demonstrated that Ly6C^{low} monocytes detect metastatic cells inside blood vessels and, with the help of NK cells, protect mice against metastatic development [25]. As opposed to the resident nature of the Ly6C^{low} population, Ly6C^{high} monocytes leave the blood circulation to enter injury sites. Once more, the CCL2-CCR2 axis is critical for Ly6C^{high} monocyte peripheral tissue recruitment during infection and inflammation [19, 26]. Once monocytes infiltrate peripheral tissues, they can differentiate into inflammatory macrophages.

2.2. Macrophages. Macrophages are critical players in host defense against infections, during inflammation and in response to injury (for review, see [27]). Macrophages are highly specialized in phagocytosis contributing to tissue remodeling and to the removal of cellular debris. At a steady state, each organ independently regulates the size of its intrinsic macrophage pool. This implies lifelong residency of tissue macrophages and is probably responsible for the distinct transcriptional signature that each tissue macrophage population adopts [15, 28]. Interestingly, this specific signature also includes metabolic traits. A recent study that used metabolic transcriptional signature revealed, for example, that microglia, brain-resident macrophages, seem to have low steady-state metabolic demands [29]. We tried to illustrate the impact of organ cues on the transcriptional signature of metabolic genes by comparing 4 different macrophage populations, of which two populate the peritoneal cavity and the other two populate the intestine (Figure 1). Large and small peritoneal macrophages have a similar metabolic signature despite their different origins and transcriptional dependencies (Figure 1(a)) [9–11, 30]. The

same observation is also valid when two distinct populations of intestinal macrophages are compared to each other (Figure 1(b)). Nevertheless, when both peritoneal macrophages were compared to intestinal macrophages altogether, the number of metabolic pathways differentially expressed was much larger suggesting that changes in resources inside different environments could be the main metabolic challenge that tissue macrophages have to adapt to (Figure 1(c)). As it is now suggested that macrophage key functions such as cytokine release and phagocytosis are associated with singular metabolic signature [29], organ cues are probably major drivers of their functions as well. From organ cues and key transcriptional regulators, which prevail in defining macrophage function and responses, are and will be an exciting area of research. As an example in Figure 1 of such complex and recursive regulation, the metabolic differences between small and large peritoneal macrophages seem to be defined by the large peritoneal macrophage mandatory transcription factor GATA6, while GATA6 expression is driven on maturing macrophages by the availability of the key metabolite vitamin A [11]. Interestingly, intestinal macrophages and alveolar macrophages are predicted to rely on inositol and arachidonate pathways, respectively [29]. Beside adaptation to tissue cues, macrophage activation is also consubstantial with metabolic rewiring. This is illustrated during macrophage activation with canonical microbial compounds such as LPS (lipopolysaccharide), a specific TLR4 ligand (Toll-like receptor 4), leading to classically activated (M1) proinflammatory macrophage generation. This activation induces an increased glycolysis and a disrupted Krebs cycle, in order to supply cell metabolic adaptations and cytokine production. On the other hand, macrophage stimulation with IL-4 (interleukin 4) generates alternatively activated (M2) anti-inflammatory macrophages. In this case, cells rely on fatty acid oxidation (FAO) and oxidative phosphorylation to support the metabolic program initiated by IL-4.

A metabolic shift observed between macrophages from different tissues suggests that they adapt their metabolism to fit local resources. Metabolic adaptation might also be a way to vary functions and responses starting with the same resources. As an example, Gata6 deficiency beside its mandatory role for maintaining large peritoneal macrophages leads to an increased alternative polarization in the remaining large peritoneal macrophages associated with altered metabolism [9]. Here, we will discuss the metabolic pathways in macrophages at a steady state and during activation.

3. Metabolic Control of Monocyte and Macrophage Functions

3.1. Glucose. The proinflammatory versus anti-inflammatory (M1/M2) macrophage classification has been criticized as an oversimplification of a more complex reality. Indeed, it appears that the local tissue signaling leads to a much broader spectrum of macrophage phenotypes in tissues. How local microenvironment impacts macrophage metabolism and functions is still a field of intense research. M1/M2 classification has nevertheless allowed the demonstration of how

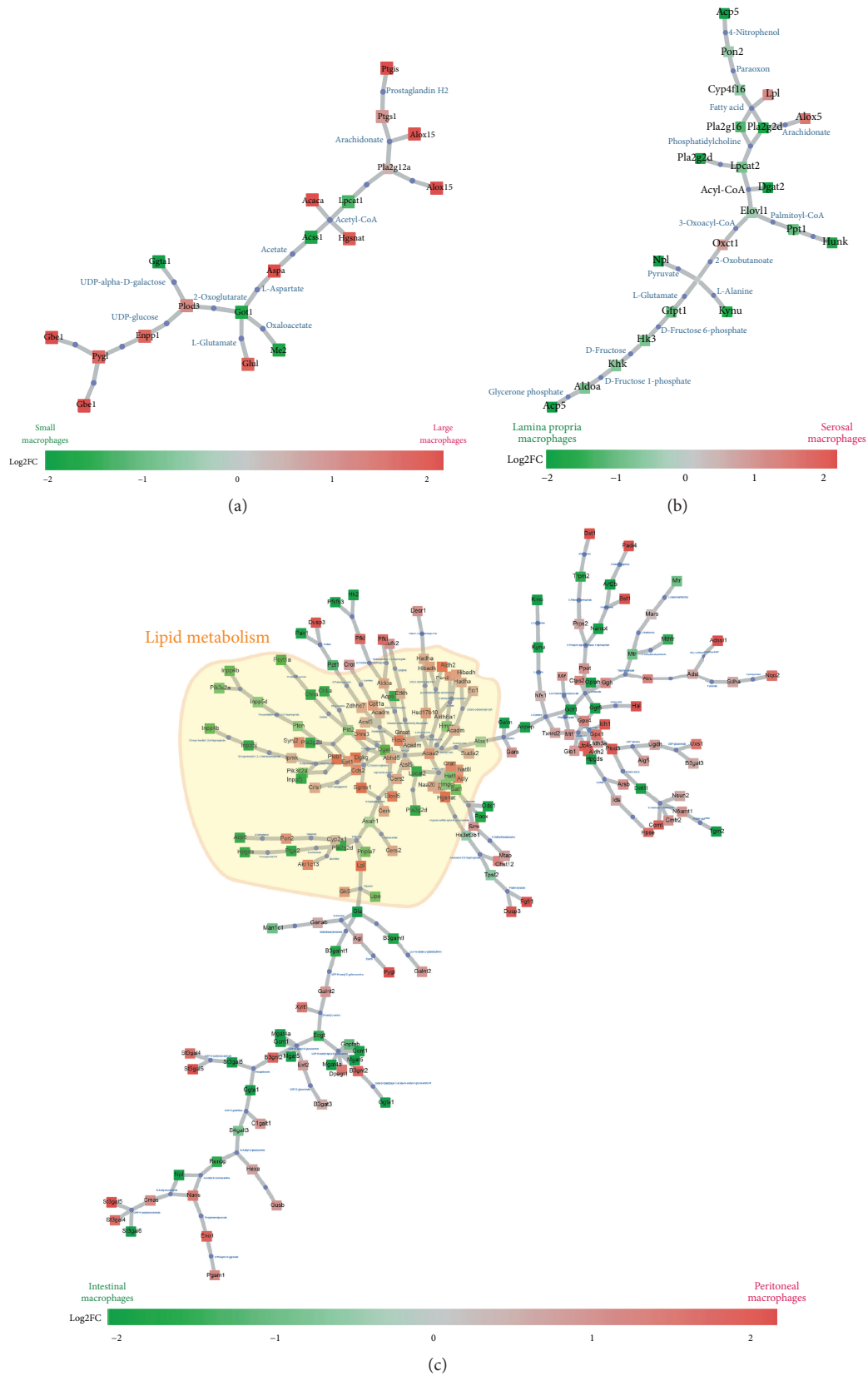


FIGURE 1: Metabo-transcriptional network representing differences between small and large peritoneal macrophages (a), serosal and lamina propria intestinal macrophages (b), and peritoneal (large and small) versus intestinal (serosal and lamina propria) macrophages (c). The analysis is based on the gene expression data from Immgen Consortium. Boxes are colored according to differential enzyme expression (green versus red) as indicated in the figure panels.

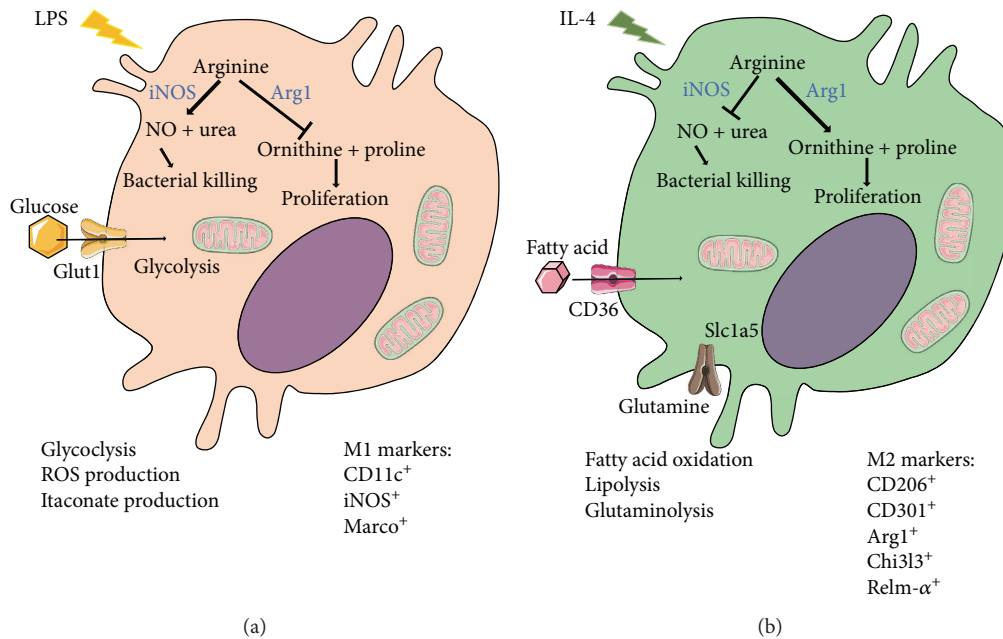


FIGURE 2: Schematic representation of M1 (a) and M2 (b) macrophage metabolic demands. Common M1 and M2 markers are indicated in (a) and (b), respectively.

metabolic plasticity is associated with and participates in macrophage polarization. A pioneering work demonstrated that LPS stimulation induces increased glucose uptake and glycolysis into macrophages (Figure 2(a)). Members of the Glut family mediate glucose uptake, and macrophages express high levels of Glut1 and Glut3 but lack Glut2 and Glut4 [31]. Among the members of the Glut family, Glut1 expression is upregulated following LPS exposure and is required for increased glucose uptake [31–33]. Furthermore, macrophage-specific Glut1 overexpression is associated with increased glycolysis and pentose phosphate pathway intermediates mirrored by the induction of proinflammatory mediators such as TNF α (tumor necrosis factor- α) and IL-6 [31]. This is also paralleled by increased ROS production that might drive the proinflammatory signature of Glut1-overexpressing macrophages. Nevertheless, another study documented that glycolysis is crucial for macrophage inflammatory cytokine production, whereas Glut1 overexpression has no detectable effect on this parameter [33]. This study revealed that increasing the macrophage glycolytic rate has no impact on cardiovascular disease and atherosclerosis and in particular on a plaque area [33]. This was quite surprising as macrophages are the main cell population composing the plaque. Recently, the use of 18F-fluorodeoxyglucose- (FDG-) positron emission tomography (PET) imaging, which provides a noninvasive measure of tissue glycolysis, demonstrated increased glucose uptake in plaque areas in cardiovascular disease-affected patients [34–36]. The biological significance of increased glucose incorporation in the atherosclerotic plaque still needs to be identified. One could speculate that this increase just reflects changes in cell populations that normally occupy the vessels or it could be a reflection of the hypoxic nature of plaques that favor glycolysis in multiple cell types. By contrast, in

hematopoietic tissues, enhanced glycolytic activity was also detected and could predict the production, differentiation, and activation of immune cells. Glut1 deficiency in hematopoietic precursor cells during atherosclerosis directly affects myelopoiesis and prevents disease outcome [21].

Glucose metabolism is also central during macrophage pathogen phagocytosis [37]. Nevertheless, the macrophage glucose dependence during microbial infections represents an opportunity for pathogens to defy the host immune system. Pathogens, such as *Candida albicans*, consume high amount of glucose and thus limit local glucose availability for immune cells and notably macrophages [38]. This dampens macrophage glucose uptake, decreases their phagocytic skills, and limits their survival during *C. albicans* infection [38]. The extent to which this competition affects infection outcome is an important question to solve in an already complex field. Thus, LPS induces an Hif1 α -dependent heightening of glycolysis in macrophages. Blocking glucose uptake early during LPS sepsis (in a sterile setup and therefore in the absence of bacterial glucose competition) has been shown to blunt inflammation and sepsis. That glycolysis impact is on macrophages is supported by similar protection and reduction of inflammation when using Hif1 α macrophage-deficient mice [39]. Nevertheless, inhibition of glycolysis later on, in an otherwise similar setup of LPS-induced sepsis, does not impact inflammation but is still protective. This protection is due to a modulation of nonimmune organ adaptation to stress imposed by inflammatory states, notably in the brain [40]. By contrast, blocking glycolysis is lethal during influenza virus infection [40]. Further analysis revealed that blocking glycolysis does not affect viral burden or immune cell infiltration. Interestingly, inflammation does not seem to account for the effect, and blocking glycolysis did not impact on the

lung tissue morphology in virus-infected animals. Blocking glycolysis during flu infection rather decreased critical vital processes such as body temperature and heart rate. With respect to glucose competition between immune cells and pathogens, it is quite fascinating that the lethality of multiple infections might be due to appropriate immune or nonimmune metabolic protection chosen in response to the first infection that was inappropriate and ultimately enhanced the competitive metabolic advantage or destructive power of the second infection. Such scenario could explain excess morbidity associated with influenza infection that is often observed during pneumococcal superinfection.

3.2. Fatty Acids. During alternative polarization in response to IL-4 stimulation, macrophages rewire their metabolic demands towards fatty acid oxidation into their mitochondria (Figure 2(b)) [41]. Alternative macrophage polarization relies on the transcription factors Ppar- γ (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma) and Ppar- δ , as well as on their coactivator PGC1 β , for an efficient metabolic reprogramming [42–44]. Indeed, this program promotes fatty acid oxidation and mitochondrial biogenesis. To fulfill their metabolic needs, alternatively activated macrophages have to generate or internalize fatty acids (FA).

3.2.1. Cell-Intrinsic Fatty Acid Metabolism. Free fatty acids (FFA) are released through lipolysis from triacylglycerol (TG). Lipolysis mostly occurs in adipocytes and participates in triacylglycerol stock mobilization during exercising, fasting, or adrenergic receptor stimulation. Adipocyte TGs are stored inside lipid droplets. The first enzyme that breaks triacylglycerol into diacylglycerol (DG) and a FA is named adipose triglyceride lipase (Atgl), encoded by the *Pnpla2* gene in mice. Secondly, the hormone-sensitive lipase (Hsl), encoded by the *Lipe* gene, uses DG as a substrate and transforms it into monoacylglycerol (MG) and releases one more FA. The final step during lipolysis is controlled by the monoacylglycerol lipase (Mgl) and by the breaking down of MG into FA and glycerol. Atgl expression is not strictly limited to adipocytes and, to a lesser degree, is also detected in cardiac and skeletal muscle cells, testis, and immune cells such as macrophages and neutrophils [45]. Metabolomic analysis of classically (M1) and alternatively (M2) activated macrophages revealed MG accumulation in M2 cells, suggesting increased lipolysis [41]. Nevertheless, Atgl^{-/-} peritoneal macrophages responded with the same magnitude to IL-4 stimulation and upregulated M2 cell surface markers to a similar extent as Atgl-sufficient control cells [41]. Interestingly, the activity of Lipa (lysosomal acid lipase), another enzyme that uses fatty material as a substrate, is increased in IL-4-stimulated macrophages [46]. Lipa inhibition leads to defective M2 polarization and decreased fatty acid oxidation [41]. Additionally, macrophage deletion of Ascl1 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 1), encoding for a key enzyme involved in fatty acid synthesis that catalyzes the thioesterification of fatty acids, is associated with diminished inflammatory cytokine (TNF α and IL-1 β) and chemokine (CCL2) production, pointing out the role of fatty acid synthesis during the proinflammatory

response [47]. Altogether, these data demonstrate that macrophage fatty acid metabolism supports the metabolic rewiring in response to external stimuli.

3.2.2. Cell-Extrinsic Fatty Acid Metabolism. Another option for alternatively activated macrophages to supply their metabolic needs is to internalize and incorporate metabolites from the local microenvironment. This requires cell surface receptors or transporters that recognize a specific metabolite combined with intracellular delivery to a precise organelle where this metabolite will eventually be included into macrophage metabolic circuits. During alternative macrophage polarization, it was recently demonstrated that fatty acid uptake via the cell membrane receptor CD36 plays a crucial role for their metabolic adaptation [41]. CD36-deficient macrophages have impaired alternative polarization suggesting that TG uptake and delivery into lysosomes, the place where Lipa is located, play an essential role in M2 polarization. However, macrophages deficient in Ldl receptor (Ldlr^{-/-}) do not have impaired alternative polarization suggesting that this receptor is not required for fatty acid uptake [41]. Finally, as much as 3×10^8 cells in our body die by apoptosis each hour, and CD36 together with integrins and the TAM/opsonin system participates in the uptake of apoptotic cells by tissue macrophages representing a tremendous source of metabolite input at a steady state and during apoptotic bursts associated with development or inflammation. This is strongly associated with metabolic changes in macrophages. For example, it has been shown that efferocytosis triggers mitochondrial uncoupling through the increased expression of uncoupling protein 2 (UCP2) [48]. Furthermore, an increase in FAO is also observed in macrophages during efferocytosis, which could be due to the excess of lipids brought by dead cell membranes [48]. Interestingly, an excess of glucose [48, 49] or changes in the environment modulating macrophage metabolism like inflammation [50] and oxidative stress [51] as well as oxidized LDL [52] and hypoxia [53] inhibit efferocytosis capacity, suggesting that the macrophage metabolic profile is intrinsically linked to its function [48, 49]. Moreover, it is well known that M2 macrophages are more efficient than M1 macrophages to perform efferocytosis, suggesting that different metabolic rewiring could determine the efferocytosis ability in macrophages [50, 54]. Efferocytosis, beside its metabolic input, directly regulates macrophage polarization toward an anti-inflammatory and prohomeostatic phenotype. This includes transcriptomic upregulation of lipid digestive and secretive capacity. Optimal efferocytosis also indirectly prevents inflammatory signals triggered by noningested apoptotic cells. Lipid efflux might also insure redistribution of lipids systemically via lipoprotein export and/or to the local tissue from which the apoptotic cell comes from.

3.3. Itaconate. In M1 macrophages, the TCA cycle is interrupted at two points. The first breaking point occurs at the level of isocitrate dehydrogenase 1 (Idh1), which is strongly inhibited in LPS-stimulated macrophages [55]. As a consequence, α -ketoglutarate levels are reduced whereas (iso)citrate accumulates and serves as a precursor for

itaconate synthesis. Itaconate is an antibacterial metabolite which is among the most highly induced metabolites in activated macrophages [55, 56]. Itaconate controls the second breakpoint by inhibiting succinate dehydrogenase (Sdh), which mediates oxidation of succinate into fumarate [55, 56]. As a consequence, malate accumulates, which is explained by the induction of the aspartate argininosuccinate shunt [55], which happens to be essential for the increase in nitric oxide (NO) production by activated macrophages [55]. Itaconate activity results in succinate accumulation and decreased oxygen consumption [56–58]. Surprisingly, itaconate exerts anti-inflammatory effects by limiting IL-1 β , IL-18, IL-6, and IL-12 expression and NO production [56, 58]. In mice that are deficient in aconitate decarboxylase 1 (Irg1), the enzyme which converts (iso)citrate into itaconate, an increase in mitochondrial respiration, a decrease in succinate accumulation due to an increase in its conversion into fumarate and malate, and an increase in proinflammatory gene and NO production are observed [56]. Thus, itaconate appears to be one of the master regulators of metabolic reprogramming and inflammation in macrophages [56].

Type I interferons, typically secreted during viral infection, induce Irg1 expression in macrophages and subsequent itaconate production [59]. The newly generated itaconate inhibits type I interferon immune response suggesting the existence of a negative feedback loop orchestrated by this compound. Recently, it was suggested that itaconate also activates the transcription factor Nrf2 (nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2), a key element of the anti-inflammatory response in macrophages [59]. Nrf2 activation follows itaconate alkylation of cysteine residues of KEAP1 (Kelch-like ECH-associated protein 1), a protein that normally associates and promotes the degradation of Nrf2. Nevertheless, it was elegantly demonstrated that itaconate additionally induces electrophilic stress targeting glutathione levels and affecting cellular oxidative stress. Itaconate inhibited late, but not initial, transcriptional response to LPS. One of these early responses includes the transcription factor I κ B ζ which is the major orchestrator of the secondary transcriptional response. Thus, itaconate did not affect I κ B ζ mRNA induction but affect I κ B ζ protein levels and the subsequent secondary response [60]. Interestingly, I κ B ζ protein regulation is Nrf2-independent and relies on the transcription factor ATF3 (activating transcription factor 3) [60]. Importantly, in vivo administration of cell-permeable derivatives of itaconate protects mice against psoriasis when challenged with a TLR7 agonist, demonstrating a novel potential therapeutic opportunity [60]. Further, myeloid cell-specific Irg1-deficient mice challenged with *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) showed an excessive accumulation of neutrophils associated with decreased survival rate [61]. This shows that Irg1 and endogenous itaconate play an important role in dampening inflammation during Mtb lung infection. Irg1 and itaconate are also induced in peritoneal macrophages in tumor-bearing mice [62]. Metabolic reprogramming of peritoneal macrophages and increased OXPHOS parallels this observation. Irg1 inhibition in peritoneal macrophages decreases tumor progression demonstrating that this pathway could also be of therapeutic interest

in cancer [62]. In humans, branched-chain amino acid (BCAA) catabolism has been shown to be involved in the IRG1/itaconate axis in activated macrophages [63]. In mice, branched-chain aminotransferase 1 (BCAT1) inhibition through the leucine analogue ERG240 administration decreases itaconate production and macrophage infiltration in nephrotic nephritis models pointing out to amino acids as participants in the pivotal itaconate control of macrophage function [63].

3.4. Amino Acids. Amino acids are key elements in immune cells for building proteins and nucleotides. They are also critical metabolic intermediates that participate in a variety of physiological processes [64]. A seminal work during the early 1980s demonstrated that macrophage activation stimulates amino acid utilization and glutamine in particular [65, 66]. Here, we will illustrate the involvement of amino acids in macrophage metabolic reprogramming by using two examples—glutamine and arginine.

3.4.1. Glutamine. Glutamine is the most abundant amino acid in the plasma and is internalized in macrophages via the membrane transporter Slc1a5 (solute carrier family 1 member 5) (Figure 2(b)). In macrophages, glutamine is converted into glutamate by the enzyme glutaminase 1 (Gls1). Glutamate is then converted into oxoglutarate to be incorporated in the TCA cycle in the mitochondria [67]. Glutamine is involved in multiple physiological functions including energy supply, nucleotide biosynthesis, and resistance against oxidative stress. At a transcriptional level, glutamine metabolism is highly associated with alternative macrophage polarization upon IL-4 stimulation [55]. Short-term glutamine deprivation of macrophages blunts, at least partially, the increased expression of M2 markers following IL-4-induced activation [55, 68]. This validates the involvement of glutamine metabolism in M2 macrophage metabolic adaptation. Glutamine is essential for the biosynthesis of UDP-GlcNAc which is required for the glycosylation of lectin or mannose receptors that are required for pathogen recognition [55]. Glutamate is also used by M2 macrophages to feed the TCA cycle since more than 30% of the TCA cycle intermediates come from glutamine [55]. Therefore, whereas glutamine is used differently in M1 and M2 macrophages, it appears to be a key resource to support polarization and function of both M1 and M2 macrophages.

Glutaminolysis controls macrophage M2 polarization by regulating epigenetically the transcriptional activity of key genes [68]. Indeed, glutamine supports alternative polarization by favoring Jmjd3- (jumonji domain containing -3-) dependent demethylation on the promoters of M2-associated genes. Interestingly, Jmjd3 controls the activity of the transcription factor IRF4 (interferon regulatory factor 4), and retroviral expression of IRF4 in Jmjd3-deficient macrophages restored normal M2 marker expression [69]. In recent years, monocytes, macrophages, and NK cells have been shown to display a form of memory called trained immunity. Upon infection or vaccination, those cells display long-term changes in their functional programs that allow increased inflammatory response upon secondary response.

Glutaminolysis also controls the production of inflammatory cytokines by monocytes in the context of trained immunity, again by modulating gene methylation, a mechanism that seems suited for long-term control of this type of innate memory [70].

3.4.2. Arginine. Arginine is a substrate for nitric oxide synthase (NOS) and plays a key role during NO generation. Three different forms of NOS have been identified: NOS1 (expressed by neurons (nNOS)), NOS2 (inducible and expressed by immune cells (iNOS)), and NOS3 (expressed by endothelial cells (eNOS)). Macrophages express iNOS, and this enzyme is induced after LPS or IFN γ (interferon- γ) stimulation [71]. Classically activated macrophages convert arginine into NO and citrulline (Figure 2(a)). Interestingly, it was demonstrated recently that NO, through the inhibition of mitochondrial respiration [72, 73], played a key role in the LPS-induced shift from OXPHOS to glycolysis in macrophages [55, 74] (Figure 2(a)). Moreover, the newly generated NO contributes to macrophage killing of intracellular bacteria and host defense against infection. Nevertheless, excessive and uncontrolled NO production leads to cell toxicity and tissue damage. To avoid this scenario, redirecting arginine flux away from iNOS seems to be crucial. In alternatively activated macrophages, arginine is metabolized by the enzyme arginase 1 (Arg1) (Figure 2(b)). This reaction leads to the production of ornithine and urea. Ornithine is subsequently used to generate polyamines and proline. Proline is an important substrate for collagen synthesis and therefore plays a key role in wound healing while polyamines are used during cell proliferation [75, 76]. Thus, during parasite infection, characterized by the generation of M2 macrophages and wound healing, it was expected that macrophage-specific Arg1 deletion will play a detrimental role. Surprisingly, macrophage-specific deletion of Arg1 led to accelerated death during *Schistosoma mansoni* parasite infection [77]. This is not due to an increased susceptibility to infection but rather to excessive liver fibrosis. Interestingly, macrophage arginase 1 expression is required for the control of T cell activation and proliferation [77]. Therefore, arginine plays a key role during macrophage activation and, when it is used by iNOS or Arg1, determines the fate of the cell activation. Of interest, iNOS and Arg1 can be coexpressed and both have their own advantage over arginine processing, with the former having higher affinity while the later showing higher catalytic rate. Therefore, understanding this dual expression and the context in which binding versus activity prevails will certainly shed light on the direction of immune cell responses.

4. Conclusion and Future Directions

Metabolism controls key macrophage functions such as phagocytosis and efferocytosis contributing to healthy tissue homeostatic maintenance and protection against infection and inflammation. Diversity of macrophage functions and responses can be modulated through cell-intrinsic metabolic rewiring and/or cell-extrinsic environmental metabolite change. This led to the establishment of an oversimplified

but efficient macrophage classification into classically M1 versus alternatively M2 subsets. Nevertheless, this pattern is observed in tissue-resident macrophages at a steady state probably reflecting on their metabolism governed by each specific organ microenvironment. During tissue inflammation, for example, in the case of obese adipose tissue, a switch of macrophage markers towards a proinflammatory phenotype parallels tissue structure remodeling and metabolite availability in the local environment. Therefore, one is interested to control macrophage metabolic demands and maintain their tissue homeostatic role by blocking metabolites leading to a proinflammatory phenotype. This requires better understanding and characterization of tissue macrophage populations and whether conserved metabolic pathways are present and functional in both embryonically and monocyte-derived macrophages. Currently, with the emergence of omics approaches, this aim seems more and more realistic and promises that new metabolic targets used to limit inflammation related to macrophages shall soon be confirmed.

Abbreviations

Arg1:	Arginase 1
Ascl1:	Acyl-CoA synthetase long-chain family member 1
ATF3:	Activating transcription factor 3
Atgl:	Adipose triglyceride lipase
BCAA:	Branched-chain amino acids
BCAT-1:	Branched-chain aminotransferase 1
<i>C. albicans</i> :	<i>Candida albicans</i>
CCL2:	C-C chemokine ligand type 2
CCR2:	C-C chemokine receptor type 2
CD36:	Cluster of differentiation 36
CXCL12:	C-X-C motif chemokine ligand 12
CXCR4:	C-X-C motif chemokine receptor 4
DG:	Diacylglycerol
ERG240:	Leucine analogue
FA:	Fatty acid
FAO:	Fatty acid oxidation
FDG:	18F-Fluorodeoxyglucose
FFA:	Free fatty acid
Gata6:	GATA binding protein 6
Gls1:	Glutaminase 1
Glut:	Glucose transporter
Hif1 α :	Hypoxia-inducible factor 1 subunit alpha
Hsl:	Hormone-sensitive lipase
Idh1:	Isocitrate dehydrogenase 1
IFN γ :	Interferon-gamma
IkB ζ :	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B cell inhibitor
IL:	Interleukin
IRF4:	Interferon regulatory factor 4
Irg1:	Aconitate decarboxylase 1
Jmjd3:	Jumonji domain containing 3
KEAP1:	Kelch-like ECH-associated protein 1
Ldl:	Low-density lipoprotein
Ldlr:	Ldl receptor
Lipa:	Lysosomal acid lipase

<i>Lipe</i> :	Lipase E
LPS:	Lipopolysaccharide
Ly6C:	Lymphocyte antigen 6 complex, locus C1
M1:	Proinflammatory macrophage
M2:	Anti-inflammatory macrophage
MG:	Monoacylglycerol
Mgl:	Monoacylglycerol lipase
Mtb:	Mycobacterium tuberculosis
NK cells:	Natural killer cells
NO:	Nitric oxide
NOS:	Nitric oxide synthase
Nr4a1:	Nuclear receptor subfamily 4 group A member 1
Nrf2:	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2
OXPPOS:	Oxidative phosphorylation
PET:	Positron emission tomography
PGC1 β :	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 beta
Ppar:	Peroxisome proliferator-activated receptor
<i>Pnpla2</i> :	Patatin-like phospholipase domain containing 2
ROS:	Reactive oxygen species
SDH:	Succinate dehydrogenase
Slc1a5:	Solute carrier family 1 member 5
Spi-C:	Transcription factor Spi-C
TCA:	Tricarboxylic acid
TG:	Triacylglycerol
TLR:	Toll-like receptor
TNF α :	Tumor necrosis factor-alpha
UCP:	Uncoupling protein
UDP-GlcNAc:	Uridine diphosphate N-acetylglucosamine.

Conflicts of Interest

The authors declare that they do not have anything to disclose regarding conflict of interest with respect to this manuscript.

Acknowledgments

We apologize to colleagues whose works could not be cited due to space constraints. For additional lecture, please refer to the following list of reviews [16, 78–83]. RRG is supported by Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). SI is supported by Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale (INSERM) and Agence Nationale de la Recherche (ANR-17-CE14-0017-01).

References

- [1] C. Schulz, E. G. Perdiguero, L. Chorro et al., "A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells," *Science*, vol. 336, no. 6077, pp. 86–90, 2012.
- [2] E. Gomez Perdiguero, K. Klapproth, C. Schulz et al., "Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors," *Nature*, vol. 518, no. 7540, pp. 547–551, 2015.
- [3] G. Hoeffel, J. Chen, Y. Lavin et al., "C-Myb⁺ erythro-myeloid progenitor-derived fetal monocytes give rise to adult tissue-resident macrophages," *Immunity*, vol. 42, no. 4, pp. 665–678, 2015.
- [4] F. Ginhoux, M. Greter, M. Leboeuf et al., "Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages," *Science*, vol. 330, no. 6005, pp. 841–845, 2010.
- [5] S. Epelman, K. J. Lavine, A. E. Beaudin et al., "Embryonic and adult-derived resident cardiac macrophages are maintained through distinct mechanisms at steady state and during inflammation," *Immunity*, vol. 40, no. 1, pp. 91–104, 2014.
- [6] S. Epelman, K. J. Lavine, and G. J. Randolph, "Origin and functions of tissue macrophages," *Immunity*, vol. 41, no. 1, pp. 21–35, 2014.
- [7] C. Jakubzick, E. L. Gautier, S. L. Gibbings et al., "Minimal differentiation of classical monocytes as they survey steady-state tissues and transport antigen to lymph nodes," *Immunity*, vol. 39, no. 3, pp. 599–610, 2013.
- [8] E. L. Gautier, T. Shay, J. Miller et al., "Gene-expression profiles and transcriptional regulatory pathways that underlie the identity and diversity of mouse tissue macrophages," *Nature Immunology*, vol. 13, no. 11, pp. 1118–1128, 2012.
- [9] E. L. Gautier, S. Ivanov, J. W. Williams et al., "Gata6 regulates aspartoacylase expression in resident peritoneal macrophages and controls their survival," *The Journal of Experimental Medicine*, vol. 211, no. 8, pp. 1525–1531, 2014.
- [10] M. Rosas, L. C. Davies, P. J. Giles et al., "The transcription factor Gata6 links tissue macrophage phenotype and proliferative renewal," *Science*, vol. 344, no. 6184, pp. 645–648, 2014.
- [11] Y. Okabe and R. Medzhitov, "Tissue-specific signals control reversible program of localization and functional polarization of macrophages," *Cell*, vol. 157, no. 4, pp. 832–844, 2014.
- [12] A. Buttgerit, I. Lelios, X. Yu et al., "Sall1 is a transcriptional regulator defining microglia identity and function," *Nature Immunology*, vol. 17, no. 12, pp. 1397–1406, 2016.
- [13] E. Mass, I. Ballesteros, M. Farlik et al., "Specification of tissue-resident macrophages during organogenesis," *Science*, vol. 353, no. 6304, article aaf4238, 2016.
- [14] M. Kohyama, W. Ise, B. T. Edelson et al., "Role for Spi-C in the development of red pulp macrophages and splenic iron homeostasis," *Nature*, vol. 457, no. 7227, pp. 318–321, 2008.
- [15] Y. Lavin, D. Winter, R. Blecher-Gonen et al., "Tissue-resident macrophage enhancer landscapes are shaped by the local microenvironment," *Cell*, vol. 159, no. 6, pp. 1312–1326, 2014.
- [16] L. A. J. O'Neill and E. J. Pearce, "Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function," *The Journal of Experimental Medicine*, vol. 213, no. 1, pp. 15–23, 2016.
- [17] C. V. Jakubzick, G. J. Randolph, and P. M. Henson, "Monocyte differentiation and antigen-presenting functions," *Nature Reviews Immunology*, vol. 17, no. 6, pp. 349–362, 2017.
- [18] C. L. Tsou, W. Peters, Y. Si et al., "Critical roles for CCR2 and MCP-3 in monocyte mobilization from bone marrow and recruitment to inflammatory sites," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 117, no. 4, pp. 902–909, 2007.
- [19] N. V. Serbina and E. G. Pamer, "Monocyte emigration from bone marrow during bacterial infection requires signals mediated by chemokine receptor CCR2," *Nature Immunology*, vol. 7, no. 3, pp. 311–317, 2006.
- [20] S. Z. Chong, M. Evrard, S. Devi et al., "CXCR4 identifies transitional bone marrow premonocytes that replenish the mature monocyte pool for peripheral responses," *The Journal of Experimental Medicine*, vol. 213, no. 11, pp. 2293–2314, 2016.

- [21] V. Sarraza, M. Viaud, M. Westerterp et al., "Disruption of Glut1 in hematopoietic stem cells prevents myelopoiesis and enhanced glucose flux in atheromatous plaques of *ApoE*^{-/-} mice," *Circulation Research*, vol. 118, no. 7, pp. 1062–1077, 2016.
- [22] A. Trompette, E. S. Gollwitzer, C. Pattaroni et al., "Dietary fiber confers protection against flu by shaping Ly6c⁻ patrolling monocyte hematopoiesis and CD8⁺ T cell metabolism," *Immunity*, vol. 48, no. 5, pp. 992–1005.e8, 2018.
- [23] R. N. Hanna, L. M. Carlin, H. G. Hubbeling et al., "The transcription factor NR4A1 (Nur77) controls bone marrow differentiation and the survival of Ly6C⁺ monocytes," *Nature Immunology*, vol. 12, no. 8, pp. 778–785, 2011.
- [24] L. M. Carlin, E. G. Stamatiades, C. Auffray et al., "Nr4a1-dependent Ly6C^{low} monocytes monitor endothelial cells and orchestrate their disposal," *Cell*, vol. 153, no. 2, pp. 362–375, 2013.
- [25] R. N. Hanna, C. Cekic, D. Sag et al., "Patrolling monocytes control tumor metastasis to the lung," *Science*, vol. 350, no. 6263, pp. 985–990, 2015.
- [26] F. Tacke, D. Alvarez, T. J. Kaplan et al., "Monocyte subsets differentially employ CCR2, CCR5, and CX3CR1 to accumulate within atherosclerotic plaques," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 117, no. 1, pp. 185–194, 2007.
- [27] C. Varol, A. Mildner, and S. Jung, "Macrophages: development and tissue specialization," *Annual Review of Immunology*, vol. 33, no. 1, pp. 643–675, 2015.
- [28] D. Gosselin, V. M. Link, C. E. Romanoski et al., "Environment drives selection and function of enhancers controlling tissue-specific macrophage identities," *Cell*, vol. 159, no. 6, pp. 1327–1340, 2014.
- [29] M. N. Artyomov, A. Sergushichev, and J. D. Schilling, "Integrating immunometabolism and macrophage diversity," *Seminars in Immunology*, vol. 28, no. 5, pp. 417–424, 2016.
- [30] K. W. Kim, J. W. Williams, Y. T. Wang et al., "MHC II⁺ resident peritoneal and pleural macrophages rely on IRF4 for development from circulating monocytes," *The Journal of Experimental Medicine*, vol. 213, no. 10, pp. 1951–1959, 2016.
- [31] A. J. Freerman, A. R. Johnson, G. N. Sacks et al., "Metabolic reprogramming of macrophages: glucose transporter 1 (GLUT1)-mediated glucose metabolism drives a proinflammatory phenotype," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 289, no. 11, pp. 7884–7896, 2014.
- [32] M. Fukuzumi, H. Shinomiya, Y. Shimizu, K. Ohishi, and S. Utsumi, "Endotoxin-induced enhancement of glucose influx into murine peritoneal macrophages via GLUT1," *Infection and Immunity*, vol. 64, no. 1, pp. 108–112, 1996.
- [33] T. Nishizawa, J. E. Kanter, F. Kramer et al., "Testing the role of myeloid cell glucose flux in inflammation and atherosclerosis," *Cell Reports*, vol. 7, no. 2, pp. 356–365, 2014.
- [34] H. Emami, P. Singh, M. MacNabb et al., "Splenic metabolic activity predicts risk of future cardiovascular events: demonstration of a cardiopleenic axis in humans," *JACC: Cardiovascular Imaging*, vol. 8, no. 2, pp. 121–130, 2015.
- [35] A. M. F. Hag, S. F. Pedersen, C. Christoffersen et al., "¹⁸F-FDG PET imaging of murine atherosclerosis: association with gene expression of key molecular markers," *PLoS One*, vol. 7, no. 11, article e50908, 2012.
- [36] I. S. Rogers and A. Tawakol, "Imaging of coronary inflammation with FDG-PET: feasibility and clinical hurdles," *Current Cardiology Reports*, vol. 13, no. 2, pp. 138–144, 2011.
- [37] S. Barghouthi, K. D. Everett, and D. P. Speert, "Nonopsonic phagocytosis of *Pseudomonas aeruginosa* requires facilitated transport of D-glucose by macrophages," *Journal of Immunology*, vol. 154, no. 7, pp. 3420–3428, 1995.
- [38] T. M. Tucey, J. Verma, P. F. Harrison et al., "Glucose homeostasis is important for immune cell viability during *Candida* challenge and host survival of systemic fungal infection," *Cell Metabolism*, vol. 27, no. 5, pp. 988–1006.e7, 2018.
- [39] L. Liu, Y. Lu, J. Martinez et al., "Proinflammatory signal suppresses proliferation and shifts macrophage metabolism from Myc-dependent to HIF1 α -dependent," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 113, no. 6, pp. 1564–1569, 2016.
- [40] A. Wang, S. C. Huen, H. H. Luan et al., "Opposing effects of fasting metabolism on tissue tolerance in bacterial and viral inflammation," *Cell*, vol. 166, no. 6, pp. 1512–1525.e12, 2016.
- [41] S. C.-C. Huang, B. Everts, Y. Ivanova et al., "Cell-intrinsic lysosomal lipolysis is essential for alternative activation of macrophages," *Nature Immunology*, vol. 15, no. 9, pp. 846–855, 2014.
- [42] K. Kang, S. M. Reilly, V. Karabacak et al., "Adipocyte-derived Th2 cytokines and myeloid PPAR δ regulate macrophage polarization and insulin sensitivity," *Cell Metabolism*, vol. 7, no. 6, pp. 485–495, 2008.
- [43] J. I. Odegaard, R. R. Ricardo-Gonzalez, M. H. Goforth et al., "Macrophage-specific PPAR γ controls alternative activation and improves insulin resistance," *Nature*, vol. 447, no. 7148, pp. 1116–1120, 2007.
- [44] D. Vats, L. Mukundan, J. I. Odegaard et al., "Oxidative metabolism and PGC-1 β attenuate macrophage-mediated inflammation," *Cell Metabolism*, vol. 4, no. 1, pp. 13–24, 2006.
- [45] R. Zechner, P. C. Kienesberger, G. Haemmerle, R. Zimmermann, and A. Lass, "Adipose triglyceride lipase and the lipolytic catabolism of cellular fat stores," *Journal of Lipid Research*, vol. 50, no. 1, pp. 3–21, 2008.
- [46] M. Viaud, S. Ivanov, N. Vujic et al., "Lysosomal cholesterol hydrolysis couples efferocytosis to anti-inflammatory oxysterol production," *Circulation Research*, vol. 122, no. 10, pp. 1369–1384, 2018.
- [47] J. E. Kanter, F. Kramer, S. Barnhart et al., "Diabetes promotes an inflammatory macrophage phenotype and atherosclerosis through acyl-CoA synthetase 1," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 109, no. 12, pp. E715–E724, 2012.
- [48] D. Park, C. Z. Han, M. R. Elliott et al., "Continued clearance of apoptotic cells critically depends on the phagocyte Ucp2 protein," *Nature*, vol. 477, no. 7363, pp. 220–224, 2011.
- [49] G. J. Cannon and J. A. Swanson, "The macrophage capacity for phagocytosis," *Journal of Cell Science*, vol. 101, Part 4, pp. 907–913, 1992.
- [50] D. Korn, S. C. Frasch, R. Fernandez-Boyanapalli, P. M. Henson, and D. L. Bratton, "Modulation of macrophage efferocytosis in inflammation," *Frontiers in Immunology*, vol. 2, p. 57, 2011.
- [51] D. M. Schrijvers, G. R. Y. de Meyer, M. M. Kockx, A. G. Herman, and W. Martinet, "Phagocytosis of apoptotic cells by macrophages is impaired in atherosclerosis," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 25, no. 6, pp. 1256–1261, 2005.
- [52] M. K. Chang, C. Bergmark, A. Laurila et al., "Monoclonal antibodies against oxidized low-density lipoprotein bind to apoptotic cells and inhibit their phagocytosis by elicited

- macrophages: evidence that oxidation-specific epitopes mediate macrophage recognition," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 96, no. 11, pp. 6353–6358, 1999.
- [53] E. Marsch, T. L. Theelen, J. A. F. Demandt et al., "Reversal of hypoxia in murine atherosclerosis prevents necrotic core expansion by enhancing efferocytosis," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 34, no. 12, pp. 2545–2553, 2014.
- [54] G. Chinetti-Gbaguidi, M. Baron, M. A. Bouhrel et al., "Human atherosclerotic plaque alternative macrophages display low cholesterol handling but high phagocytosis because of distinct activities of the PPAR γ and LXR α pathways," *Circulation Research*, vol. 108, no. 8, pp. 985–995, 2011.
- [55] A. K. Jha, S. C. C. Huang, A. Sergushichev et al., "Network integration of parallel metabolic and transcriptional data reveals metabolic modules that regulate macrophage polarization," *Immunity*, vol. 42, no. 3, pp. 419–430, 2015.
- [56] V. Lampropoulou, A. Sergushichev, M. Bambouskova et al., "Itaconate links inhibition of succinate dehydrogenase with macrophage metabolic remodeling and regulation of inflammation," *Cell Metabolism*, vol. 24, no. 1, pp. 158–166, 2016.
- [57] G. M. Tannahill, A. M. Curtis, J. Adamik et al., "Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α ," *Nature*, vol. 496, no. 7444, pp. 238–242, 2013.
- [58] T. Cordes, M. Wallace, A. Michelucci et al., "Immunoresponsive gene 1 and itaconate inhibit succinate dehydrogenase to modulate intracellular succinate levels," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 291, no. 27, pp. 14274–14284, 2016.
- [59] E. L. Mills, D. G. Ryan, H. A. Prag et al., "Itaconate is an anti-inflammatory metabolite that activates Nrf2 via alkylation of KEAP1," *Nature*, vol. 556, no. 7699, pp. 113–117, 2018.
- [60] M. Bambouskova, L. Gorvel, V. Lampropoulou et al., "Electrophilic properties of itaconate and derivatives regulate the I κ B ζ -ATF3 inflammatory axis," *Nature*, vol. 556, no. 7702, pp. 501–504, 2018.
- [61] S. Nair, J. P. Huynh, V. Lampropoulou et al., "Irg1 expression in myeloid cells prevents immunopathology during *M. tuberculosis* infection," *The Journal of Experimental Medicine*, vol. 215, no. 4, pp. 1035–1045, 2018.
- [62] J. M. Weiss, L. C. Davies, M. Karwan et al., "Itaconic acid mediates crosstalk between macrophage metabolism and peritoneal tumors," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 128, no. 9, pp. 3794–3805, 2018.
- [63] A. E. Papanthanasou, J. H. Ko, M. Imprialou et al., "BCAT1 controls metabolic reprogramming in activated human macrophages and is associated with inflammatory diseases," *Nature Communications*, vol. 8, p. 16040, 2017.
- [64] C. R. Green, M. Wallace, A. S. Divakaruni et al., "Branched-chain amino acid catabolism fuels adipocyte differentiation and lipogenesis," *Nature Chemical Biology*, vol. 12, no. 1, pp. 15–21, 2016.
- [65] P. Newsholme, R. Curi, S. Gordon, and E. A. Newsholme, "Metabolism of glucose, glutamine, long-chain fatty acids and ketone bodies by murine macrophages," *The Biochemical Journal*, vol. 239, no. 1, pp. 121–125, 1986.
- [66] P. Newsholme, S. Gordon, and E. A. Newsholme, "Rates of utilization and fates of glucose, glutamine, pyruvate, fatty acids and ketone bodies by mouse macrophages," *The Biochemical Journal*, vol. 242, no. 3, pp. 631–636, 1987.
- [67] R. Curi, R. de Siqueira Mendes, L. A. de Campos Crispin, G. D. Norata, S. C. Sampaio, and P. Newsholme, "A past and present overview of macrophage metabolism and functional outcomes," *Clinical Science*, vol. 131, no. 12, pp. 1329–1342, 2017.
- [68] P. S. Liu, H. Wang, X. Li et al., " α -Ketoglutarate orchestrates macrophage activation through metabolic and epigenetic reprogramming," *Nature Immunology*, vol. 18, no. 9, pp. 985–994, 2017.
- [69] T. Satoh, O. Takeuchi, A. Vandenberg et al., "The *Jmjd3-Irf4* axis regulates M2 macrophage polarization and host responses against helminth infection," *Nature Immunology*, vol. 11, no. 10, pp. 936–944, 2010.
- [70] R. J. W. Arts, B. Novakovic, R. ter Horst et al., "Glutaminolysis and fumarate accumulation integrate immunometabolic and epigenetic programs in trained immunity," *Cell Metabolism*, vol. 24, no. 6, pp. 807–819, 2016.
- [71] J. MacMicking, Q. W. Xie, and C. Nathan, "Nitric oxide and macrophage function," *Annual Review of Immunology*, vol. 15, no. 1, pp. 323–350, 1997.
- [72] E. Clementi, G. C. Brown, M. Feelisch, and S. Moncada, "Persistent inhibition of cell respiration by nitric oxide: crucial role of S-nitrosylation of mitochondrial complex I and protective action of glutathione," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 95, no. 13, pp. 7631–7636, 1998.
- [73] M. W. J. Cleeter, J. M. Cooper, V. M. Darley-Usmar, S. Moncada, and A. H. V. Schapira, "Reversible inhibition of cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide. Implications for neurodegenerative diseases," *FEBS Letters*, vol. 345, no. 1, pp. 50–54, 1994.
- [74] W. A. Baseler, L. C. Davies, L. Quigley et al., "Autocrine IL-10 functions as a rheostat for M1 macrophage glycolytic commitment by tuning nitric oxide production," *Redox Biology*, vol. 10, pp. 12–23, 2016.
- [75] S. M. Morris Jr., "Regulation of enzymes of the urea cycle and arginine metabolism," *Annual Review of Nutrition*, vol. 22, no. 1, pp. 87–105, 2002.
- [76] G. Wu and S. M. Morris Jr., "Arginine metabolism: nitric oxide and beyond," *The Biochemical Journal*, vol. 336, no. 1, pp. 1–17, 1998.
- [77] J. T. Pesce, T. R. Ramalingam, M. M. Mentink-Kane et al., "Arginase-1-expressing macrophages suppress Th2 cytokine-driven inflammation and fibrosis," *PLoS Pathogens*, vol. 5, no. 4, article e1000371, 2009.
- [78] J. Dominguez-Andres and M. G. Netea, "Long-term reprogramming of the innate immune system," *Journal of Leukocyte Biology*, 2018.
- [79] L. B. Ivashkiv, "IFN γ : signalling, epigenetics and roles in immunity, metabolism, disease and cancer immunotherapy," *Nature Reviews Immunology*, vol. 18, no. 9, pp. 545–558, 2018.
- [80] G. J. Koelwyn, E. M. Corr, E. Erbay, and K. J. Moore, "Regulation of macrophage immunometabolism in atherosclerosis," *Nature Immunology*, vol. 19, no. 6, pp. 526–537, 2018.
- [81] G. F. P. Bories and N. Leitinger, "Macrophage metabolism in atherosclerosis," *FEBS Letters*, vol. 591, no. 19, pp. 3042–3060, 2017.
- [82] D. G. Ryan and L. A. J. O'Neill, "Krebs cycle rewired for macrophage and dendritic cell effector functions," *FEBS Letters*, vol. 591, no. 19, pp. 2992–3006, 2017.
- [83] S. Galván-Peña and L. A. J. O'Neill, "Metabolic reprogramming in macrophage polarization," *Frontiers in Immunology*, vol. 5, p. 420, 2014.

Review

Myeloid Cell Diversity and Impact of Metabolic Cues during Atherosclerosis

Alexandre Gallerand †, Marion I. Stunault †, Johanna Merlin †,
Rodolphe R. Guinamard, Laurent Yvan-Charvet, Stoyan Ivanov *

Mediterranean center of molecular medicine (C3M)–Université Côte d’Azur–
INSERM U1065, Team 13, Nice, 06200, France

† These authors contributed equally to this work.

* Correspondence: Stoyan Ivanov, Email: Stoyan.ivanov@unice.fr.

ABSTRACT

Myeloid cells are key contributors to tissue, immune and metabolic homeostasis and their alteration fuels inflammation and associated disorders such as atherosclerosis. Conversely, in a classical chicken-and-egg situation, systemic and local metabolism, together with receptor-mediated activation, regulate intracellular metabolism and reprogram myeloid cell functions. Those regulatory loops are notable during the development of atherosclerotic lesions. Therefore, understanding the intricate metabolic mechanisms regulating myeloid cell biology could lead to innovative approaches to prevent and treat cardiovascular diseases. In this review, we will attempt to summarize the different metabolic factors regulating myeloid cell homeostasis and contribution to atherosclerosis, the most frequent cardiovascular disease.

KEYWORDS: macrophage; monocyte; dendritic cell; metabolism; atherosclerosis

INTRODUCTION

Atherosclerosis is a major vascular disease that continuously spreads worldwide. Atherosclerosis contributes to cardiovascular disease (CVD)-related deaths, estimated to account for more than 17 million deaths per year worldwide, making this pathology a major public health issue. Atherosclerosis is described as a metabolic disease associated with a chronic low-grade inflammation linked to lipid accumulation in the intima of large and medium-sized arteries, which favors plaque formation [1,2]. Since the 1950’s, mounting evidence linked cholesterol metabolism to atherosclerosis development. Atherosclerotic patients not only showed increased serum cholesterol levels, and more specifically cholesterol present in the low-density lipoproteins fraction (LDL), but also accumulation of cholesterol in macrophage foam cells pointing out to cholesterol as a culprit of immunometabolic perturbations in the establishment and development of atherosclerosis. LDL-cholesterol levels are now considered as an independent risk factor for CVDs [3,4].

Open Access

Received: 29 June 2020

Accepted: 10 August 2020

Published: 17 August 2020

Copyright © 2020 by the author(s). Licensee Hapres, London, United Kingdom. This is an open access article distributed under the terms and conditions of [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Interestingly, LDL accumulation into the arterial wall is associated with inflammatory signals which trigger the attraction of myeloid cells such as dendritic cells (DC), neutrophils, macrophages and monocytes [5]. Advanced atherosclerotic plaques are complex structures containing lipids, necrotic cores, calcification zones and immune cells [6]. Plaque growth increases arterial stiffness and could be responsible for disturbed blood flow, while their rupture can lead to ischaemic strokes and transient cerebral ischaemic attacks [7].

During the past two decades, tremendous progress has been made highlighting the involvement of immune cells at all stages of the disease including plaque initiation, development and rupture. Particularly, the accumulation of myeloid cells in human atheromatous plaques is a strong marker of plaque instability and predictor of negative outcome [8,9]. The respective role of the different myeloid cell types in the establishment and progression of the disease has since been thoroughly investigated using pre-clinical mouse models. Monocytes, which enter atheromatous plaques from the blood circulation and differentiate into macrophages, are the main culprits of atherosclerosis development. Further mechanistic complexity came later with the realization of the involvement of neutrophils and DCs in the disease, the latter driving and bringing adaptative immunity in the picture.

Myeloid cell precursors have diverse origins: some emerge from hematopoiesis in the bone marrow, while others arise from primitive embryonic structures [10]. Their functional diversity is thought to be acquired via the action of tissue-specific cues but little is known on how this local developmental imprinting of myeloid cells takes place [11]. This observation particularly stands regarding myeloid cell immunometabolism, as microenvironmental signals can trigger rapid metabolic adaptations to adjust the immune response. In atherosclerosis, myeloid cell metabolism influences plaque development [12]. For example, under inflammatory conditions, macrophages display increased glycolytic metabolism and Glut1 expression, the main myeloid cell glucose transporter [13]. Monocytes and macrophages from atherosclerotic patients show increased mitochondrial oxygen consumption rate (OCR). Together these findings suggest a global change in metabolic activation state [14].

A metabolomics-based analysis of human carotid plaques revealed a correlation between plaque metabolic signatures, namely elevated glycolysis and low fatty-acid oxidation, and the presence of plaque instability features [15]. This observation strongly suggests that intra-plaque metabolic cues may determine the outcome of the disease. A better understanding of how metabolites affect in situ myeloid cell activation would help for the design of new therapeutic approaches to prevent and treat atherosclerosis. In this review, we will address how metabolic signals impact on myeloid cell diversity and function in the context of atherosclerosis.

IMMUNE CELL DIVERSITY IN PLAQUES

Pioneering studies revealed that human plaques contain a variety of immune cells. These observations were repeated in mouse pre-clinical models of atherosclerosis development, namely *Ldlr*^{-/-} and *ApoE*^{-/-} mice. Although wild-type mice are protected against the disease, high cholesterol diet feeding of *Ldlr*^{-/-} and *ApoE*^{-/-} mice promotes hypercholesterolemia and atherosclerosis development. Descriptions of plaque immune cells were initially based on immunohistochemistry and demonstrated the presence of macrophages, B and T cells in plaque lesions [16]. Nevertheless, the limited number of parameters available was not adapted to grasp the full spectrum of immune cells residing in advanced plaques. With the improvement of flow cytometry, the number of parameters simultaneously analyzed progressively increased and a further complexity in plaque immune cell populations emerged [17,18]. Single-cell RNA-Seq and Cytometry by Time of Flight (CyTOF) technologies further extended our ability to discover and characterize new tissue-resident immune populations and their activation states. This technological leap offered a new perspective to decipher in greater depth immune cell diversity in atherosclerotic plaques [19]. In the past two years, multiple studies applied single-cell RNA-Seq techniques to human plaque samples from endarterectomy patients [20], and to aortic cells extracted from wild-type and atherosclerotic mice [18,21–25]. This generated an extensive characterization of the blood vessel-residing immune landscape in health and disease (**Tables 1 and 2**). Interestingly, only a small number of myeloid cells (of which around 70% were monocytes) were observed at steady state in the aortic wall of wild-type mice [25]. It seems reasonable that monocytes crawling on endothelial cells were the main population of immune cells detected in those studies. Leukocyte diversity was shown to greatly increase in the aorta during atherosclerosis development, as neutrophils, T cells, B cells and NK cells were also identified in *Ldlr*^{-/-} and *ApoE*^{-/-} mice fed a chow or a high fat diet [21,22,24]. This diversity was also observed in human samples [20,22].

Table 1. Recent single-cell based studies assessing plaque composition.

References	Samples
Kim K et al., 2018 [23]	<i>Ldlr</i> ^{-/-} mice; 12 weeks HFD; aortic CD45 ⁺ cells
Cochain C et al., 2018 [21]	<i>Ldlr</i> ^{-/-} mice; 12 weeks HFD; aortic CD45 ⁺ cells
Winkels H et al., 2018 [22]	<i>Ldlr</i> ^{-/-} mice; 12 weeks CD or HFD; aortic CD45 ⁺ cells Transcriptomic data; 126 samples from the biobank of Karolinska Endarterectomies
Fernandez DM et al., 2019 [20]	Endarterectomy plaque samples
Cole JE et al., 2018 [24]	<i>ApoE</i> ^{-/-} mice; CD or HFD 12 weeks; aortic CD45 ⁺ cells
Kalluri AS et al., 2019 [25]	WT digested aorta

Table 2. Summary of the reported plaque leukocyte proportions across the reports mentioned in Table 1.

Refs	Samples	Method	Macrophages	Monocytes	Dendritic cells			Neutrophils	T cells		B cells	NK cells
					pDC	cDC1	cDC2		CD4+	CD8+		
[23]	Male LdlR ^{-/-} HFD 12 weeks	Single cell RNA-Seq	83.9%*	ND	ND	2.2%*	6.9%*	ND	3%*		ND	ND
[21]	Male LdlR ^{-/-} HFD 11 weeks	Single cell RNA-Seq	28.9%	12.3%	14.9%			2%	8.7%	19.6%	2%	4%
	Male LdlR ^{-/-} HFD 20 weeks		49.6%	ND	14.2%			ND	8.5%	16.8%	2.1%*	2.4%*
[22]	Male LdlR ^{-/-} CD	Single cell RNA-Seq	13.6%	Myeloid cells: 6.2%				54.1%		24.4%	1.7%	
	Male LdlR ^{-/-} HFD 12 weeks		27%	Myeloid cells: 21.1%				45.8%		4%	2.1%	
	Female ApoE ^{-/-} CD		4.9%	Myeloid cells: 10.3%				60.6%		21.9%	2.4%	
	Female ApoE ^{-/-} HFD 12 weeks		9.6%	Myeloid cells: 12.6%				49%		27.2%	1.6%	
	Human	Bulk RNA-Seq deconvolution	50%*	12%	ND			ND	20%*		10%*	5%
[20]	Human	CytoF	10.6%	2.5%	0.4%	0.1%	ND	0.1%	31.6%	31.1%	2.6%	4.1%
	Human	CITE-Seq	16%	ND	6%*	1.5%*	ND	ND	20%*	26%*	8%*	11%*
[24]	ApoE ^{-/-} sex unspecified CD	CyTOF	60%	2.5%	0.25%	1.6%	8.5%	2.5%	3%	3%	8%	1%
	ApoE ^{-/-} sex unspecified HFD 12 weeks		57%	7%	1%	1.8%	6.5%	4%	3%	3%	5%	0.75%
[25]	Female WT CD	Single cell RNA-Seq	23%*	73.4%*	3.3%*			ND	ND		ND	ND

When possible, we reported the proportion of each cell type among total leukocytes as indicated by the authors. Stars (*) indicate missing information that was estimated and completed using the Single-Cell Explorer software (Artyomov Lab, Washington University St Louis). WT = Wild-Type. CD = Chow Diet. HFD = High Fat Diet. ND = Not Determined.

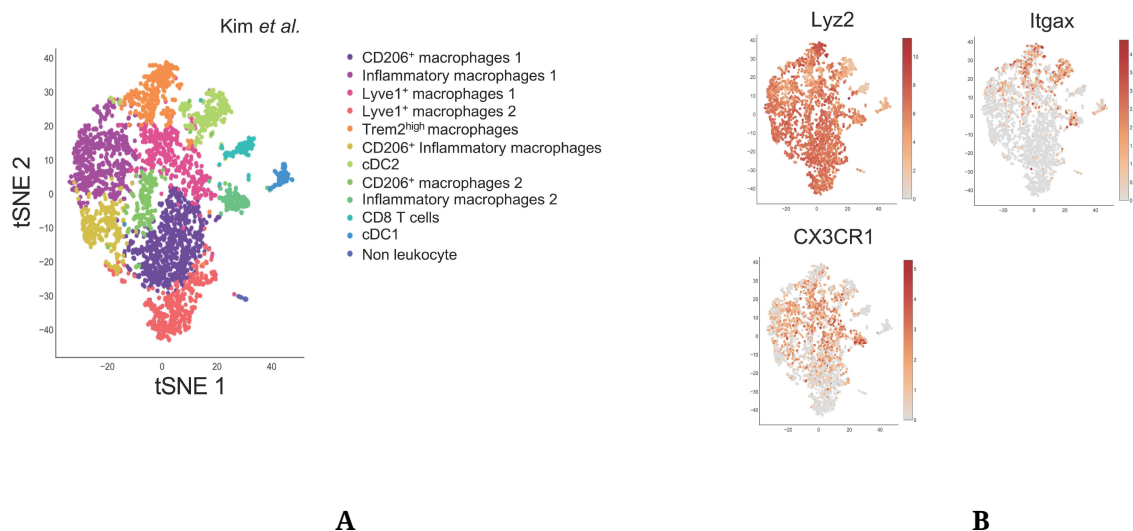


Figure 1. Single-Cell approaches highlight plaque immune cell diversity. (A) Single-Cell RNA-Seq of aortic CD45⁺ cells from *Ldlr*^{-/-} mice fed a HFD for 12 weeks. Data from Kim et al. [23] (GSM3215435) were analyzed using the Single-Cell Explorer software. **List of markers used:** CD206⁺ Macrophages: *Fcgr1*, *Itgam*, *Mafb*, *Mrc1*. Inflammatory macrophages: *Fcgr1*, *Itgam*, *Mafb*, *NLRP3*, *IL1b*, *Nfkbia*. Lyve1⁺ macrophages: *Fcgr1*, *Itgam*, *Mafb*, *Lyve1*. TREM2^{high} macrophages: *Fcgr1*, *Itgam*, *Mafb*, *TREM2*, *ABCG1*, *Lpl*, *Lipa*. CD206⁺ Inflammatory macrophages: *Fcgr1*, *Itgam*, *Mafb*, *Mrc1*, *NLRP3*, *IL1b* (low), *Nfkbia*, *TNF*. CD8 T cells: *Lck*, *CD3*, *CD8*. cDC2: *Zbtb46*, *Itgax*, *Flt3*, *Itgam* (+), *Itgae* (-). cDC1: *Zbtb46*, *Itgax*, *Flt3*, *Itgam* (-), *Itgae*, *IRF8*. Non leukocyte: *Ptprpc* (-). (B) Expression pattern of genes used for targeted Cre expression in myeloid cells.

However, the relative proportion of each cell type reported by different single-cell studies shows significant fluctuations. In mice, macrophages were reported to represent from 9 to 80% of the aortic leukocyte pool and, inversely, T cells represented from 3 to 60% of leukocytes. The same variations were observed in human samples (Table 2). These differences could be explained by multiple factors, and notably differences in tissue digestion technique, leukocyte purification method, and the markers and transcripts used for cell type identification. The entry of atherosclerosis research in the single cell RNA-Seq era could therefore benefit from a universal experimental pipeline that would facilitate comparison between studies. A first step toward this direction could consist in generating a meta-analysis of the data from the studies summarized in Table 1 to characterize plaque composition. A meta-analysis study was recently published and evidenced the immune cell diversity in plaque and the markers allowing to define each population [26].

These studies illustrate that single-cell approaches are amongst the most powerful tools to precisely identify cell subsets as well as their respective metabolic demands. Myeloid cells were broadly shown to represent a significant part (up to 90%) of immune cells in atherosclerotic lesions [23]. Here, we will briefly discuss the identity and origin of plaque resident myeloid cells.

Monocytes

Monocytes are short-lived mononuclear phagocytes that are generated in the bone marrow (BM) during hematopoiesis [27,28]. They rely on CSF1R (Colony Stimulating Factor 1 Receptor) signaling for their development and survival [29,30]. Among leukocytes, which have been positively correlated with cardiovascular events in humans [31–33], monocytes play a pivotal role in atherosclerosis development. Hypercholesterolemia, a key component of atherosclerosis, has been associated with increased circulating monocyte numbers (monocytosis) in mice, rabbits, swines and humans [34–36].

Circulating monocytes are identified as CD11b⁺ CD115⁺ cells, and exist as two functionally distinct subsets in both mice and humans: classical monocytes, identified as Ly6C^{high} in mice and CD14^{high} CD16^{low} in humans, and non-classical monocytes, identified as Ly6C^{low} and CD14^{low} CD16^{high} [37]. An additional human population of CD14⁺CD16⁺ monocytes has also been documented. Developmentally, Ly6C^{low} monocytes were proposed to arise from Ly6C^{high} monocytes [38,39]. Ly6C^{low} monocytes require the transcription factor Nr4a1 (Nur77) for their maturation [40], they are commonly referred to as “patrolling monocytes”, as they are closely associated to the endothelium which they survey in order to remove dead endothelial cells [41,42].

Ly6C^{high} monocytes are also called “inflammatory” monocytes, as they accumulate during infections and are preferentially recruited to inflamed tissues [38]. They display a high expression of CCR2 [43,44], the main chemokine receptor governing monocyte recruitment to inflammatory sites [45] as well as into atherosclerotic plaques. Plaque initiation is driven by Ly6C^{high} monocyte recruitment to the intima of the endothelial wall [46–50]. Their inflammatory nature seems to be supported by the fact that osteopetrotic mice, which lack functional CSF1 (Colony Stimulating Factor 1) and therefore monocytes [51], are protected against hypercholesterolemia-induced atherosclerosis [52–54]. In 1998, two independent studies documented the key role played by monocyte recruitment to atheromatous lesions through the CCL2-CCR2 chemotactic axis, as mice deficient for CCR2 [55] or its ligand CCL2 [56] also displayed reduced atherosclerotic lesions. Monocyte chemotaxis in atherosclerosis was further characterized in 2007, as Tacke and colleagues provided evidence of the relative contribution of CCR2, CCR5 and CX3CR1 for monocyte recruitment into plaques [47]. CX3CR1 is highly expressed on Ly6C^{low} monocytes and remains detectable on Ly6C^{high} monocyte subset [57]. In contrast, CCR2 is predominantly expressed by the Ly6C^{high} population [57].

Understanding the roles played by metabolism in monocyte biology is of key importance considering the limitations of current therapies. Indeed, limiting monocyte recruitment to the plaque seems to be a reasonable strategy for reducing the development of atherosclerotic lesions. Complementarily, new anti-inflammatory approaches have recently

gained great interest. Indeed, lowering the inflammatory response has emerged as a novel therapeutic target to decrease CVDs related death and comorbidities. Interleukine-6 (IL-6) and IL-1 β are two well-established pro-inflammatory mediators and their levels are increased during atherosclerosis progression [58]. Among those two, the pro-inflammatory cytokine IL-1 β emerged as a major mediator of atherosclerosis development [59–61]. Surprisingly, IL-1 β signaling was also shown to be an important component of plaque remodeling and stability [62]. The Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcome Study (CANTOS) trial showed that patients treated with the IL-1 β -targeting monoclonal antibody Canakinumab had a lowered cardiovascular-event-related mortality rate. However, Canakinumab treatment induced various side effects and increased susceptibility to infections, resulting in no overall survival benefits and underlining the urgent need for other therapeutic approaches [63,64].

Macrophages

Macrophages are highly phagocytic cells that can be identified through their co-expression of CD64 and MerTK [11]. Macrophages are ubiquitously present across organs and play key roles both in health and disease [11]. A key function of tissue-resident macrophage is the removal of dead cells, a process named efferocytosis [65]. Every day around 0.4% of the total estimated number of 3.7×10^{13} cells die in the adult human body [66]. Although all macrophage populations perform efferocytosis, they also display tissue-specific functions such as heme detoxification and iron handling in the spleen, surfactant clearing in the lungs or thermogenesis regulation in brown adipose tissue [67,68]. This functional heterogeneity can partly be explained by the developmental origin of macrophages. Microglia, the population of brain resident macrophages, arise from yolk sac precursors present at early developmental stages [69,70]. Alveolar pulmonary macrophages originate from foetal liver progenitors [71] while the population of gut macrophages derives from bone marrow precursors [72]. Consequently, embryonically-derived macrophages and monocyte-derived macrophages often coexist in adult tissues [73,74]. Like monocytes, tissue-resident macrophages rely on CSF1R signalling, which can bind either IL-34 or CSF1, for their maintenance. Interestingly, a tissue specificity for either ligand has been observed among tissue-resident macrophages, as microglia rely on IL-34 while large peritoneal macrophages rely exclusively on CSF1 [75,76]. Furthermore, macrophage heterogeneity can be attributed to local environmental features, even between subsets that share a common developmental origin [11].

Atheromatous plaque macrophages are monocyte-derived macrophages with the ability to proliferate in situ following their recruitment and differentiation. The understanding of macrophage diversity in metabolic disorders and inflammatory diseases is of particular

interest during atherosclerosis, as multiple macrophage subsets with specific immune profiles and functions have been observed within the plaque [18,21–23] (Figure 1A). Our knowledge on plaque macrophage diversity was previously restricted to pro-inflammatory “M1” macrophages, anti-inflammatory “M2” macrophages, and foam cells which were considered inflammatory cells [5]. The in situ identification of these subsets was based on immunohistochemistry approaches, while their functions were explored using in vitro models. However, new single cell methods have now revealed more layers of complexity in plaque macrophage subsets [18,21–23]. Notably, the single-cell RNA-Seq dataset from Kim and colleagues [23], which displays the greater myeloid cell enrichment, shows the existence of several distinct populations of inflammatory and anti-inflammatory subsets. Surprisingly, expression of the archetypical anti-inflammatory macrophage marker CD206 also appears on populations expressing inflammatory markers (Figure 1A). Two macrophage populations expressed high levels of Lyve1, a marker associated with tissue-resident macrophages [77] which were also identified by Cochain et al. [21] (Figure 1A). This new technology also allowed a detailed in vivo characterization of foam cells, identified as Trem2^{high} macrophages [23,78,79].

Single cell studies now pave the way to understanding plaque macrophage biology. Further investigation is needed to determine how these different subsets participate to inflammation or its resolution via efferocytosis and plaque remodelling [19]. To establish the developmental connection between plaque macrophage populations and their particular localization and metabolic demands is of crucial significance to understand the pathological mechanisms occurring during atherosclerosis progression.

Dendritic Cells

DCs are professional antigen presenting cells (APC). Two major DCs populations have been identified in mice and humans: the conventional (cDCs) and the plasmacytoid dendritic cells (pDCs). Both human and mouse cDCs highly and selectively express the transcription factor Zbtb46 (Zinc finger and BTB domain containing 46) [80,81]. Zbtb46 is not expressed by other myeloid cells such as macrophages, monocytes or neutrophils. In mice, cDCs populations highly express CD11c and MHC II and two main subsets have been identified in lymphoid and non-lymphoid tissues. In lymphoid tissues, cDC1s express CD8, CD24 and XCR1 while cDC2s are characterized by CD4 and Sirpa expression [82]. In the majority of nonlymphoid tissues, cDC1s are described as CD103⁺ XCR1⁺ and cDC2s as CD11b⁺ Sirpa⁺. cDC1 and cDC2 require specific transcription factors for their development. cDC1 depend on BATF3 (Basic Leucine Zipper activating transcription factor–like transcription factor 3) and IRF8 (IFN regulatory factor 8) while cDC2 rely on IRF4 and Notch2 for their development and maintenance [82]. A key feature of cDCs is their high

capacity to capture antigens in peripheral tissues and subsequently migrate to local draining lymph nodes to initiate the adaptive immune response. Another major function of cDCs is the production of pro-inflammatory cytokine such as IL-6, TNF α and IL-1 following activation of innate immunity receptors. This cytokine production leads to immune cell recruitment and mobilization and allows for specific and efficient immune responses. On the other hand, pDCs essentially release type 1 interferons (IFN-I), both IFN α and IFN β , in response to virus infections [83]. Their potential implication in atherosclerosis is suggested by the fact that IFN-I decreases macrophage phagocytic abilities [84] and that IFNAR-deficient animals have decreased plaque area and macrophage content [85].

In the context of atherosclerosis, cDCs contribute to chronic inflammation by attracting and activating T cells [86]. The production of CCL17 by mature cDCs contributes to CD4⁺ T cells and regulatory T cells (Tregs) migration and recruitment to plaques. CCL17 deletion leads to a slower atherosclerosis progression and a decreased number of macrophages and T cells in plaques [87]. The presence of CD4⁺ T cells with a phenotype of antigen activated (CD44⁺) cells was documented in mouse atherosclerotic models [17]. CD4⁺ T cells stimulation requires a peptide loading on major histocompatibility complex (MHC II), selectively expressed by antigen presenting cells. The cDC antigen presentation function seems to play a pivotal role in the progression of atherosclerosis. Nevertheless, and despite recent progress in the field, the nature of the antigen (peptide or lipid) remains to be fully understood. For instance, ApoB (the core protein in LDL) reactive CD4⁺ T cells were identified in pre-clinical atherosclerotic models [17] and humans [88]. Immunization strategies were developed using ApoB epitopes and those demonstrated atheroprotective effect, illustrated by reduced plaque area, when conjugated to appropriate adjuvants [89,90]. This protection was associated with increased IL-10 production, an anti-inflammatory cytokine mainly secreted by regulatory T cells (Tregs). In atherosclerotic patients, an oligoclonal T cell repertoire was observed in comparison to healthy patients [91,92]. This observation further supports the relevance of antigen presentation during disease development. Recently, the generation of MHC II tetramers loaded with ApoB-derived peptide revealed that the majority of ApoB-recognizing T cells are T regs [88]. Moreover, the deletion of two important costimulatory molecules: CD80 and CD86 in mice DCs decreased T-cell activation/infiltration in plaques [93] demonstrating that cDCs play a crucial role during disease development.

In advanced plaques, apoptotic cell accumulation due to defective efferocytosis leads to DNGR-1 activation (dendritic cell NK lectin group receptor-1) on CD8a⁺ cDC1s, which blunts IL-10 production, therefore contributing to atherosclerosis aggravation [94]. However, the mechanisms underlying the defective efferocytosis in DCs are still unknown and need to be deciphered. In conclusion, DCs, as pivotal players

linking innate and adaptive immunity, offer new insights that may lead to new therapeutic targets and notably vaccination strategies.

Neutrophils

Neutrophils are associated with the early inflammatory response [95]. Neutrophils have been shown to either be able to directly affect atherogenesis [96], or contribute to pathology onset by driving immune cell entry in atherosclerotic lesions [97] and by promoting plaque rupture [98] respectively. This suggests an important crosstalk between neutrophils and other immune and stromal cells.

Growing evidence suggests that neutrophils play a pivotal role in the initiation of atherosclerosis. Neutrophil adhesion to the endothelial wall through CCL3 and CCL5 binding on CCR1, CCR3 or CCR5 triggers neutrophils extravasation and their entry into plaques [99]. There, activated neutrophils release granule proteins containing chemotactic “alarmins”, such as cathelicidin/LL-37 in Human (CRAMP in mice), Human α -defensins (human neutrophil peptides, HNPs), azurocidin (HBP, CAP37) and serprocidins (elastase, cathepsin G, proteinase-3), inducing leukocytes attraction and recruitment to the site of inflammation (for review see [100]). In addition, S100A8/A9, a cytoplasmic protein, reduces neutrophils rolling on the endothelial wall and activates β 2 integrin to facilitate leukocyte extravasation and entry to the site of inflammation [101]. Interestingly, alarmins have also been reported to contribute to the activation of inflammasomes such as NLRP3 [102]. NLRP3 activation leads to IL-1 β and IL-18 production and to the HMGB1 alarmin (High-mobility group box 1 protein) release, creating a loop that amplifies innate immune responses [103]. NLRP3 inflammasome activation then increases neutrophil recruitment to inflammatory sites leading to the activation of neutrophil extracellular traps (NETs) [104]. NETs are web-like fiber structures released by neutrophils and made of extracellular chromatin, nuclear proteins, and serine proteases. NETs are known to increase monocyte recruitment to inflamed sites and trigger reactive oxygen species (ROS) and proinflammatory cytokines release by macrophages [105,106]. In this context, NETs may promote type I interferon (IFN-I) release from pDCs contributing therefore to atherosclerosis progression and suggesting an essential crosstalk between neutrophils and pDCs [107].

Neutrophils have been found at sites of plaque rupture in patients with acute coronary syndrome [108]. Interestingly, neutrophils are essentially located in the unstable layers of human atherosclerotic lesions with a high inflammatory activity and also correlated to the elevated numbers of monocytes found in these regions [99]. In addition, NETs are thought to be involved in plaque destabilization through the induction of endothelial cell wall cytotoxicity in humans [109,110]. Neutrophils are the main producer of myeloperoxidase (MPO) [111]. MPO is a heme-containing peroxidase that catalyzes the formation of reactive oxygen species intermediates [112] that induce macrophage cholesterylester

accumulation and foam cell formation, leading to atherosclerosis aggravation [113]. Recent studies have highlighted that neutrophils undergo transcriptional regulations under inflammatory conditions and NETosis [114,115]. The significance of NETs during atherosclerosis was extensively described in a recent manuscript [115].

Mouse Models

Mouse Cre-Lox systems have extensively been used to explore the role of myeloid cell functions in atherosclerosis. *Lyz2^{Cre}*, *CX3CR1^{Cre}* and *CD11c^{Cre}* mice were the most commonly used to study macrophages and neutrophils, monocytes, and dendritic cells respectively. Although these genes are dominantly expressed by the aforementioned cell types, some well-documented overlaps in their expression exist between myeloid cell types. Single-cell sequencing approaches have now brought to light the subset-specific expression pattern of these genes within the plaque (Figure 1B), which may allow more specific targeting of myeloid subsets within plaques and reinterpretation of previously generated data.

As expected, *Lyz2^{Cre}* appears to be virtually ubiquitously expressed across plaque resident myeloid cells. Although *CX3CR1* expression is only restricted to certain myeloid subsets within the plaque, most macrophages are monocyte-derived cells which therefore expressed *CX3CR1*-driven Cre at an earlier differentiation stage. However, the use of inducible *CX3CR1^{CreERT2}* models gives more flexibility to the model. As an example, Lin and colleagues recently used *Cx3cr1^{CreERT2-IRES-YFP/+}Rosa26^{fl-tdTomato/+}* mice in a fate-mapping and single-cell approach [18]. The authors induced Cre expression when plaques were established, immediately prior to plaque regression induction in order to differentially characterize *CX3CR1⁺* plaque cells and cells derived from *CX3CR1⁺* precursors [18]. *CD11c^{Cre}* mice were extensively used to characterize DCs functions in health and disease. However, *CD11c* was also shown to be expressed by *Ly6C^{low}* monocytes [57] which can, to a lower extent than *Ly6C^{high}* monocytes, infiltrate atheromatous lesions [47]. As shown in Figure 1B, plaque expression of *CD11c* is not restricted to DCs, but also concerns certain macrophage subsets including the now well identified *TREM2^{high}* foam cells [23,78,79]. *CD11c^{Cre}* mice could therefore be a valuable model to study foam cell metabolism during atherosclerosis.

METABOLIC PHENOTYPE OF PLAQUE IMMUNE CELLS

Atherosclerosis progression is accompanied by a modulation of systemic and plaque metabolites. Recently, non-invasive imaging techniques, commonly used in oncology, were deployed to predict rupture-prone plaques. Positron emission tomography (PET) is traditionally employed to investigate myocardial reperfusion. PET/CT studies revealed an accumulation of the glucose analog 18F-fluoro-2-deoxy-d-glucose (18F-FDG) in atherosclerotic lesions in humans [116]. This suggested increased glucose avidity and potentially metabolization in

plaque residing cells. A metabolomic analysis performed on iliac-femoral arteries extracted from control and atherogenic rabbits revealed an increased abundance of glycolysis and pentose phosphate pathway (PPP) metabolites in plaque-enriched vessels [117]. Whether these metabolites accumulate in specific immune or stromal cell-type remains to be established. In the following section we will discuss the impact of myeloid cell glucose metabolism on plaque development.

Lipid Handling

Monocytes

Hypercholesterolemia, the predominant metabolic feature of cardiovascular diseases, is known to influence hematopoiesis and induce a differentiation bias of hematopoietic stem cells (HSCs) towards the myeloid lineage. Indeed, HSCs obtained from ABCA1^{-/-} ABCG1^{-/-} mice, lacking transporters involved in cholesterol efflux, display increased proliferation and myelopoiesis switch [118]. This phenomenon is amplified in ApoE^{-/-} mice, one of the most commonly used murine models of hypercholesterolemia-induced atherosclerosis [119]. Taken together, recent data on cholesterol-related myelopoiesis exacerbation suggest that an increase in cellular cholesterol content promotes membrane lipid raft formation in HSCs, thus promoting the stabilization of chemokine and cytokine receptors at the cell surface and signal HSCs to quit quiescence [118,120–122].

Emerging immunometabolism-centered studies have mainly focused on macrophages, while only a few studies investigated monocyte metabolic requirements. This may partly be explained by technical difficulty of using undifferentiated monocytes in *in vitro* cultures. Recent studies pointed towards lipid metabolism as an important factor of monocyte homeostasis. Using a BM transplant approach, Babaev and colleagues reported a decreased CCR2 expression on blood monocytes from Ldlr^{-/-} mice with FABP5^{-/-} (Fatty-acid binding protein) hematopoietic compartment, suggesting a chemotaxis-dependent proatherogenic role of myeloid FABP5 expression [123]. FABPs regulate intracellular lipid traffic and control their access to specific organelles. By contrast, FABP4 deletion in immune cells had no impact on plaque development [123]. ApoE^{-/-} mice with myeloid-specific deletion of lipoprotein lipase (Lpl) displayed decreased plaque development [124]. Lpl hydrolyzes circulating TGs and control their levels. Impaired monocyte generation and differentiation to macrophages were observed in a mouse model of Lpl deficiency and were attributed to Lpl-dependent regulation of CSF1R signaling [125]. Interestingly, FABP5 and Lpl mRNA were highly and selectively expressed in Trem2⁺ foam cells (Figure 2A,B). This could suggest that the atheroprotective effects of myeloid-specific deletion of Lpl might not be caused solely by monocytes but could additionally be the consequence of foam cell dysfunction.

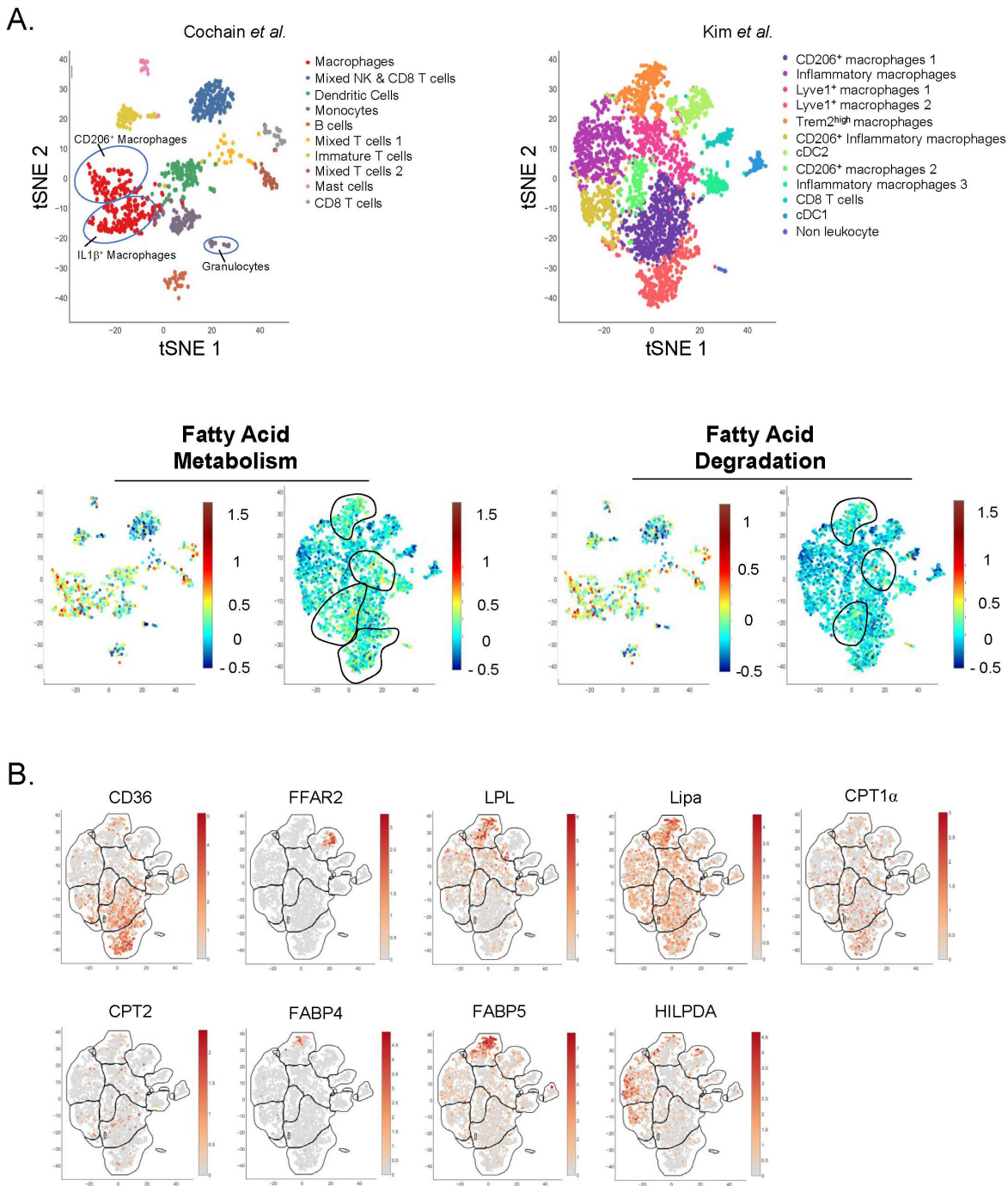


Figure 2. Single-Cell analysis of plaque immune cell lipid metabolism. (A,B) Single-Cell RNA-Seq of aortic CD45⁺ cells from *Ldlr*^{-/-} mice fed a HFD for (left) 11 weeks or (right) 12 weeks. Data from (left) Cochain et al. [21] (GSE97310) and (right) Kim et al. [23] (GSM3215435) were analyzed using the Single-Cell Explorer software (Artyomov lab). (A) Leukocyte clusters and corresponding KEGG Metabolic Pathway analysis. Fatty-Acid metabolism: KEGG mmu01212. Fatty-Acid degradation: KEGG mmu00071. **List of markers used in Cochain et al.:** Macrophages (mixed subsets): *Itgam*, *Fcgr1*, *MerTK*. Mixed NK and CD8 T cells: *CD3*, *CD8*, *Klrb1c*, *Ncr1*, *Gzmb*. Dendritic Cells (mixed subsets): *Itgax*, *Ciita*, *Zbtb46*. Monocytes: *Itgam*, *Fcgr1*, *Ly6C*, *CCR2*. B cells: *Ciita*, *CD19*, *CD79 α/β* . Mixed T cells: *Lck*, *CD3*, *CD4*, *CD8*, *Rag1*. Immature T cells: *Lck* (-), *CD3*(+), *Rag1* (-), *CD4* (-), *CD8* (-). Mast cells: *Furin*, *Il1r1l*. CD8 T cells: *Lck*, *CD3*, *CD8*. **Markers used in Kim et al. are in the legend for Figure 1A.** (B) Expression pattern of genes involved in lipid metabolism (Kim et al. [23] (GSM3215435)).

The importance of monocyte lipid metabolism was challenged by recent data. Jordan and colleagues observed a decrease in blood monocyte numbers during fasting in humans. This effect could not be reverted by fat supplementation in mice, while carbohydrate and protein supplementation both restored blood monocyte counts [126]. However, this modulation of monocyte counts was attributed to modulations of CCL2 production through a liver-BM axis, and not to monocyte cell-intrinsic mechanisms. Nevertheless, monocytes from fasted mice were in a pronounced quiescent metabolic state in comparison to controls, as extracellular flux analysis of these cells showed reduction in both oxygen consumption rate and extracellular acidification rate. This was associated with up-regulation of inositol triphosphate metabolism and suppression of serine and glutathione metabolism. Overall, this metabolic adaptation of monocytes to fasting was associated with improved outcomes in models of chronic inflammatory diseases [126].

As atherosclerosis is associated with numerous systemic metabolic alterations, these exciting results support the urgent need to identify the dietary-related metabolic mechanisms controlling monocyte inflammatory and migratory potentials in this disease. Indeed, both qualitative and quantitative diet modulations could then be envisioned as non-invasive prophylactic therapies for patients presenting monocytosis and metabolic syndrome.

Macrophages

Lipid-laden macrophages were first described inside of atherosclerotic lesions in the late 1970s [127]. These macrophages, called foam cells, take up excessive cholesterol and oxidized LDL (oxLDL) particles via their scavenger receptors, which leads to the intracellular formation of lipid droplets [128–131]. The presence of these cells is considered as a hallmark of atherosclerosis, and foamy macrophages have historically been held culprit for plaque progression.

Intracellular accumulation of cholesterol has been linked to foam cell formation, cytokine production and atherosclerosis progression in a mouse model of defective cholesterol efflux [132]. Atherosclerosis progression has been associated with the formation of cholesterol crystals, which results from reduced esterification of free cholesterol [133]. These crystals can trigger inflammation through the activation of the NLRP3 inflammasome and subsequent IL-1 β maturation, which have lately been a major focus of atherosclerosis research [134]. These results support a beneficial role for cholesterol efflux, which is mediated through the liver X receptor (LXR)-regulated transcriptional control of among others the cholesterol transporters ABCA1 and ABCG1. Mice deficient for LXR α and LXR β display the formation of atheromatous lesions containing foam cells even in the absence of diet-induced hypercholesterolemia [135]. Subsequently, attempts have been made to decrease intracellular cholesterol accumulation and foam cell formation by the use of synthetic

LXR agonists which have proven to be beneficial in pre-clinical models of atherosclerosis [136–138]. Consistently, myeloid-specific deletion of the LXR-regulated ABCA1/G1 cholesterol transporters was shown to exacerbate atherosclerosis development [139]. Alternatively activated (M2) human monocytes and macrophages were reported to be less responsive to LXR agonists [140]. Interestingly, they also displayed less foam cell traits despite decreased ABCA1 expression. This was countered by an improved cholesterol esterification capacity (an anti-inflammatory mechanism) [141], suggesting that efficient cholesterol handling may be more valuable than cholesterol efflux [140]. PPAR α stimulation positively regulates ABCA1 expression [142]. Additionally, PPAR γ activation also increases ABCA1 expression via LXR [143]. PPAR α prevents foam cell formation and decreases plaque development [144,145]. PPAR γ agonist also decreased foam cell formation [144]. The role of PPARs in macrophage biology and atherosclerosis is extensively reviewed in [146,147]. However, whether and how precisely PPARs affect specifically different myeloid cell populations in plaque remains to be defined. We recently reported that lysosomal acid lipase (LIPA)-dependent cholesterol hydrolysis promotes macrophage efferocytic capacity [148]. LIPA is expressed by all plaque macrophage subsets and is particularly enriched in foam cells (Figure 2B). The relevance of our observations linking LIPA activity and efferocytosis to atherosclerosis needs to be further investigated, as multiple studies reported a correlation between LIPA variants and coronary artery disease [149,150].

Macrophage foam cell formation is regulated by natural antibodies recognizing modified LDL particles and apolipoproteins. Indeed, the inhibition of oxLDL uptake by oxLDL-specific natural IgMs, which mask oxidized epitopes, decreases foam cell formation, inflammation and atherosclerosis development [151–153]. The production of oxLDL-specific antibodies, both of the IgM and IgG isotype, occurs during the development of atherosclerosis [154]. IgG-containing immune complexes are recognized by Fc γ R receptors, and ApoE^{-/-} mice deficient for Fc γ RIIb/CD32b, a low affinity inhibitory receptor, showed reduced plaque lipid content suggesting lower foam cell formation [155]. This was associated with an overall increase in plaque stability, as well as in circulating levels of oxLDL and IgG-ApoB immune complexes, suggesting a lower uptake of these particles by macrophages [155]. Foam cell formation was also reported to be induced by ApoA1-specific IgG in vitro [156]. Although atherosclerosis-associated IgMs and IgGs display different roles in foam cell formation, only the former are robustly associated with a (protective) role in the development of the disease [157].

In macrophages, a consequence of foam cell formation could be lipid overload-induced toxicity, which may hypothetically be a determinant of plaque necrosis. Both fatty acid metabolism and degradation pathways are enriched in plaque macrophages (Figure 2A). The hypoxia-inducible lipid-droplet-associated (Hilpda) protein has emerged as a key player in lipid

droplet handling. Its role as a lipid-sensor and inhibitor of ATGL (the rate limiting enzyme of adipose tissue lipolysis) promotes lipid accumulation into lipid droplets and foam cell formation [158]. In plaques, *Hilpda* mRNA was preferentially expressed in inflammatory macrophages (Figure 2B). This *Hilpda*-mediated lipid storage was reported to be necessary for the maintenance of macrophage viability upon lipid overload, suggesting a beneficial role for lipid storage in terms of survival [159]. Nevertheless, *Hilpda* deficiency was shown to decrease atherosclerosis development and plaque lipid content, without affecting plaque macrophage apoptosis [159]. The authors attributed this phenotype to the *Hilpda*-dependent macrophage lipid accumulation and production of prostaglandin E₂, which promotes vascular inflammation [160].

Overall, previous reports point towards a proatherogenic role for foam cells. However, the emergence of omics approaches led recent studies to challenge this view. Foamy peritoneal macrophages extracted from *Ldlr*^{-/-} mice fed a high cholesterol diet surprisingly showed a LXR-mediated down-regulation of genes associated with inflammatory responses and chemotaxis [161]. A turning point in foam cell research was reached by Kim and colleagues, who developed a strategy to isolate and characterize plaque foam cells using a lipid probe-based strategy [23]. Surprisingly, their results showed that foam cells only represent around 10% of aortic macrophages in atherosclerotic mice, although this proportion may vary depending on isolation efficiency. Moreover, both bulk and single cell RNA-Seq approaches showed that foamy macrophages are rather anti-inflammatory in comparison to non-foamy plaque macrophages. As discussed earlier, this is of particular interest in the context of the recent CANTOS trial, as NLRP3 and IL-1 β expression were clearly a feature of non-foamy macrophages [23]. While previous studies relied greatly on *in vitro* models to analyze macrophage lipid metabolism and foam cell formation, this innovative approach may have supplied the methodology to further characterize foam cells *in vivo*. As discussed earlier, studying macrophages in the context of their micro-environment has repeatedly proven to be the key to understanding their biology.

In vitro studies revealed that IL-4 induces a specific metabolic profile in macrophages. These cells are named alternatively activated (M2) macrophages and rely on fatty acid oxidation for their metabolic needs [162]. Seminal studies demonstrated that fatty acid oxidation inhibition in macrophages prevents their M2 phenotype. This concept was recently challenged by the demonstration that etomoxir, a specific Cpt1a inhibitor, has “off-target” effects even at fairly low concentrations [163,164]. Genetic Cpt2-deletion failed to affect macrophage alternative polarization, further challenging the previously established dogma [165]. Cpt1 and Cpt2 mRNA were detected in plaque-resident myeloid cells without a subset-specific signature (Figure 2B). Whether plaque resident macrophages rely on fatty acid oxidation and Cpt1 remains currently unknown. Importantly, macrophage alternative activation depends on CD36, a membrane receptor for long

chain fatty acids [162]. Single-cell RNA-Seq analysis revealed that CD36 is highly expressed in Lyve1⁺ plaque resident macrophages (Figure 2B). Of interest, Lyve1 is a canonical M2 activation marker which, together with CD36 expression, might help identifying the real *in vivo* alternatively activated macrophage relying on fatty acid oxidation (at least in the context of the plaque). CD36 is involved in non-classical monocyte patrolling during atherosclerosis induction [166]. Previous reports demonstrated that CD36 plays a crucial role during atherosclerosis development but it remains unclear how CD36 governs plaque myeloid cell metabolism [167–170]. For instance, CD36 signaling is involved in ROS generation and controls macrophage cytoskeleton organization [171].

Dendritic cells

One of the major proofs of DCs implication in atherosclerosis development is their impact on cholesterol homeostasis. Indeed, DC depletion in hyperlipidemic CD11c-DTR ApoE^{-/-} mice leads to increased hypercholesterolemia but no change in atherosclerosis due to lower DC-driven T-cell activation, suggesting that there is a close relationship between DCs and cholesterol homeostasis. CD11c expression in plaque is not restricted to DCs, and this function might be shared with CD11c-expressing macrophages (Figure 1B). Increasing DC survival by overexpressing Bcl2 leads to decreased cholesterol plasma levels [172]. However, long term DC depletion led to a progressive myeloproliferative syndrome, highlighting an indirect impact on the hematopoietic system [173]. Additionally, in Ldlr-deficient mice, DCs in atherosclerotic lesions have been shown to capture oxLDL contributing to foam cell formation and therefore to atherosclerosis progression [174].

Despite the fact that pDCs are present in a relatively low frequency in human and mouse atherosclerotic plaques, this cell type also plays a role in atherosclerosis development. pDCs numbers are increased in aortas of ApoE^{-/-} and Ldlr^{-/-} mice fed a high-fat diet [24,175]. Intriguingly, ApoE^{-/-} mice depleted in pDCs display decreased lipid-containing area, lower T cell activation and lower macrophage accumulation in the plaque [176]. In addition, when treated with oxLDL, pDCs show increased phagocytic capacity as well as a stimulated antigen-specific T cell response [177]. Genetic pDC depletion, following diphtheria toxin administration in BDCA2-DTR atherogenic mice, led to increased lesion area [175]. Moreover, TLR-induced IFN-I production by pDCs is triggered by neutrophils NETs in human atherosclerotic plaque [178]. All together, these data suggest that pDCs might be interesting targets in controlling the evolution of atherosclerosis. However, pDCs role in atherosclerosis is still under debate due to the opposite effects the antibody used against pDC bone marrow stromal cell antigen-2/PDCA1 has on Ldlr^{-/-} and ApoE^{-/-} mouse [176,177,179].

Neutrophils

Cholesterol metabolism appears to play a key role in neutrophil biology, as both *Ldlr*^{-/-} and *ApoE*^{-/-} mice fed a high fat diet display increased blood neutrophil numbers [119]. Cholesterol efflux receptors such as ABCA1/ABCG1 notably regulate neutrophil adhesion and activation [180]. Moreover, neutrophil accumulation and NETosis have also been found in the context of defective cholesterol efflux induced by ABCA1 and ABCG1 deficiency [181] (for review see [182]). Additionally, inhibition of cholesterol efflux in myeloid progenitors led to increased neutrophil production while a disruption in the chemotactic axis CXCL12-CXCR4 in the BM led to neutrophilia and therefore amplified lesion formation [97]. Moreover, mice fed a high-fat diet show significant increase in circulating neutrophil numbers [183]. However, surprisingly, epidemiological studies in humans have shown a positive correlation between elevated numbers of circulating neutrophils and cardiovascular events, independently from serum cholesterol levels [184]. In addition, fatty acids have also been proposed to be involved in neutrophils metabolic demands. Indeed, fatty acid receptors including free fatty acid receptor-1 (FFAR1/GPR40), free fatty acid receptor 2 (FFAR2/GPR43), and GPR84 are expressed on neutrophils [185]. However, short term fasting in humans had no effect on circulating neutrophil levels [126]. Cell-autonomous effects of lipids on neutrophils and their relevance in atherosclerosis require further investigations.

Glucose Metabolism in Myeloid Cells

Monocytes

Unlike tissue-resident immune cells, monocytes need to quickly adapt to their new environment after blood vessel extravasation and entry into peripheral tissues. This seems critical in atherogenic conditions, as recent evidence suggests that monocytes might contribute to the onset of the disease due to their sensitivity to the plaque micro-environment, rather than to a preexisting inflammatory phenotype. Notably, Williams and colleagues showed that newly-recruited monocytes lose motility as they differentiate into macrophages within the plaque, thus reducing their capacity to reach apoptotic cells located deeper within the plaque and perform efferocytosis [186]. This rapid adaptation probably requires an adjustment of metabolic pathways to the locally available substrates.

In humans, glucose metabolism disorders such as *diabetes mellitus* have been associated with cardiovascular diseases, though the underlying cellular mechanisms remain unclear [187,188]. The use of the glucose analog 18F-FDG in PET-CT imaging has brought to light a correlation between acute coronary syndrome and 18F-FDG accumulation (representative of glucose avidity) in the bone marrow and the spleen (the later probably reflecting extramedullary hematopoiesis) in at least two independent cohorts [189]. Interestingly, Oburoglu and colleagues showed

that in vitro (human CD34⁺ cells) and in vivo (newborn mice), administration of 2-deoxyglucose, a partially non metabolizable glucose analog used to inhibit glycolysis, restricted myeloid differentiation while promoting erythroid differentiation of HSCs [190]. Consistently, using chimeric pre-clinical models of atherosclerosis, our group previously reported a decrease in myelopoiesis and plaque development in mice with partial deficiency for Glut1, the main glucose transporter in the hematopoietic compartment [191]. Increased glucose levels in diabetic mice drive myelopoiesis, further supporting the evidence that glucose metabolism favors myeloid cells generation [192]. Interestingly, Jordan and colleagues reported a direct relation between food intake and systemic CCL2 levels, which allows for monocyte egress from the bone marrow compartment to the blood circulation [126]. This effect was mainly attributed to glucose metabolism, as the authors observed a positive correlation between blood monocyte counts and the quantity of gavage-administered glucose. Furthermore, monocyte mobilization could be inhibited by gavage with 2-deoxyglucose [126]. As discussed earlier, the CCL2-CCR2 chemotactic axis governs monocyte recruitment to atherosclerotic plaques and progression of the diseases [47]. Importantly, monocyte CCR2 expression strongly associates with vascular wall inflammation in patients with CVD risk [193]. However, whether glucose affects chemokine receptor expression on monocytes and facilitates their entry into inflamed plaques remains to be explored. In a pre-clinical plaque regression model, it was demonstrated that lowering plasma glucose concentration prevents monocyte entry into the inflamed plaque and improves pathology resolution [192]. Nevertheless, whether glucose lowering therapies affect monocyte CCR2 expression and their ability to enter into plaques and differentiate into macrophages also requires further investigations.

Macrophages

Macrophages rely on the membrane transporter Glut1, encoded by Slc2a1, for glucose entry. Slc2a1 is ubiquitously expressed among plaque myeloid cells (Figure 3A,B). However, transcriptomic analysis revealed an enrichment in transcripts related to glycolysis and PPP pathways in macrophages and DCs (Figure 3A,B). Glut1 is solely responsible for glucose entry into macrophages, as its ablation using genetic models demonstrated that other members of this family of transporters cannot substitute its absence [194]. Thus, $Lyz2^{cre} \times Slc2a1^{fl/fl}$ animals have minimal glucose entry associated with decreased levels of many glycolysis and PPP-related metabolites [194]. Compensatory mechanisms led to increased tricarboxylic acid cycle (TCA) metabolites in Glut1-deficient macrophages in comparison to controls [194]. Interestingly, when crossed to atherogenic $Ldlr^{-/-}$ mice, $Lyz2^{cre} \times Slc2a1^{fl/fl} \times Ldlr^{-/-}$ animals had similar plaque size as control mice [194]. Macrophage content, quantified by MOMA2 staining, remained similar as well. However, mice with Glut1-deficient myeloid

cells had an elevated frequency of necrotic core per plaque that paired with a partial deficiency in efferocytosis [194]. This observation was confirmed in another study using the same genetic model [195]. Indeed, efferocytosis triggers a specific metabolic reprogramming of macrophages that relies mainly on glycolysis [195] and lowering glucose concentration, or pharmacological or genetic Glut1-inhibition all efficiently alter macrophage efferocytosis [195]. Glut1 expression is increased following macrophage TLR4 stimulation with LPS to facilitate glucose entry [196], though the relevance of this observation for plaque formation or maintenance requires further investigation. LPS also leads to accelerated glucose flux and increased glycolysis and PPP activation. This is supported by the transcriptional regulation of key enzymes involved in the aforementioned pathways. Thus, LPS increases the expression of two critical enzymes (HK3 and PFKFB3) involved in glycolysis, and this is paralleled by increased pro-inflammatory cytokine production [13]. In plaques, HK3 is found mainly in a population of Trem2⁺ macrophages, while PFKFB3 expression is higher in inflammatory macrophages (Figure 3B). Four HK (hexokinase) isoforms have been identified. Interestingly, HK1 was not enriched in a specific plaque immune subset, while HK2 is highly expressed in inflammatory macrophages (Figure 3B). Again, the biological significance of this observation needs further work. However, macrophage-specific Glut1 overexpression, despite increasing glucose entry and metabolization, failed to generate an increased pro-inflammatory cytokine production [13]. Plaque size, macrophage content and necrotic core area were similar between control and macrophage-Glut1 overexpressing animals [13]. This observation is surprising since increased glucose levels in mice have been associated with a macrophage pro-inflammatory phenotype and disease severity. Taken together, these observations suggest that glucose flux through Glut1 contributes to myeloid cells activation during atherosclerosis, but this is not sufficient to fully explain the pro-inflammatory phenotype of plaque macrophages. Macrophage alternative polarization also requires efficient glucose metabolism [197]. Blocking pyruvate mitochondrial entry and subsequent TCA incorporation leads to decreased ATP production [197]. This is consistent with the role of glucose in TCA cycle activation and ATP generation. Inhibition of the enzyme Acly, playing a key role in Acetyl-CoA generation, prevents macrophage alternative polarization in murine macrophages [198]. The human relevance of this observation was challenged in a recent report using pharmacological inhibitors and genetic approaches [199]. However, whether those pathways affect particularly the metabolic rewiring of a specific subset of plaque resident myeloid cells remains to be defined.

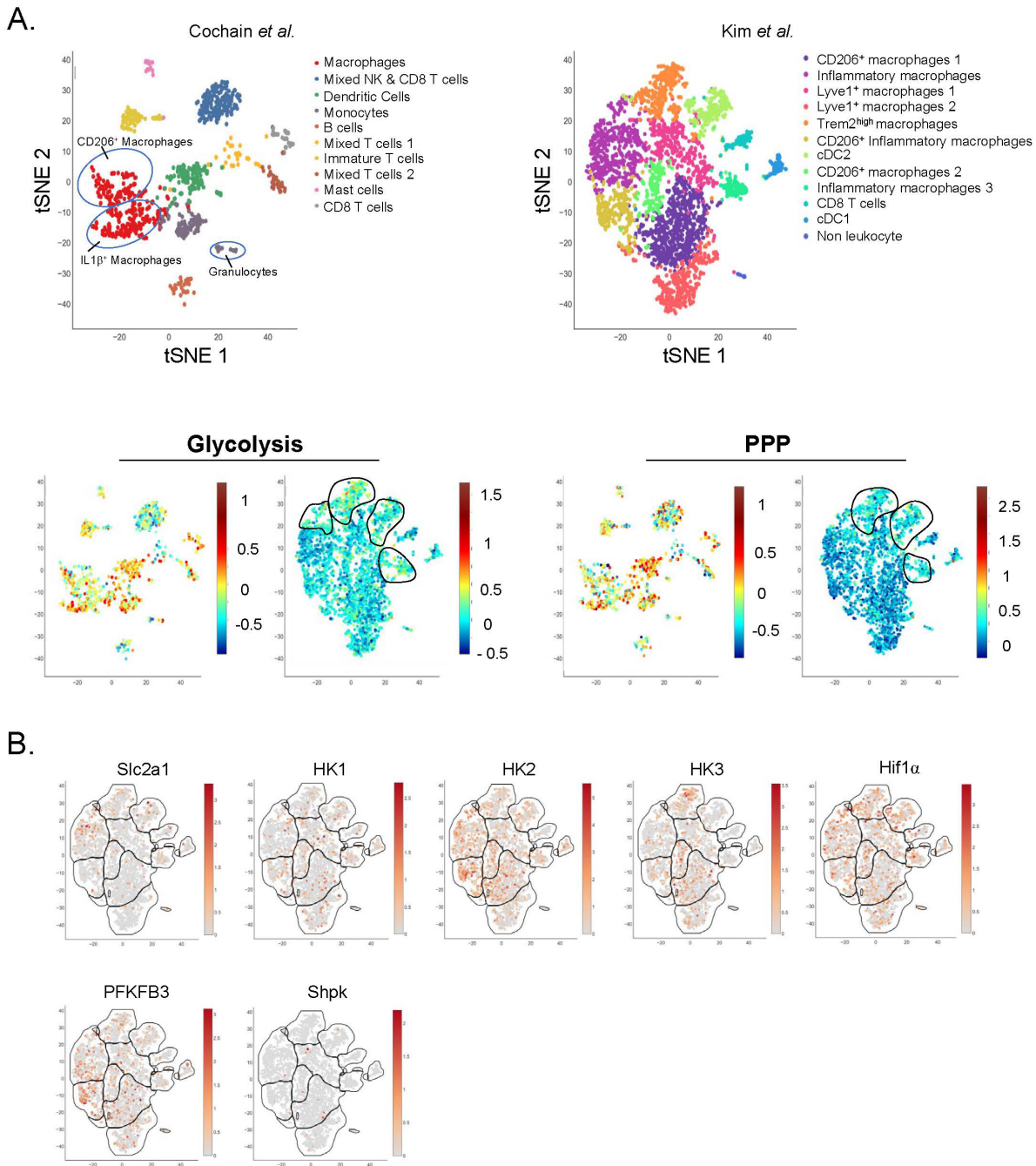


Figure 3. Single-Cell analysis of plaque immune cell glucose metabolism. (A,B) Single-Cell RNA-Seq of aortic CD45⁺ cells from Ldlr^{-/-} mice fed a HFD for (left) 11 weeks or (right) 12 weeks. Data from (left) Cochain et al. [21] (GSE97310) and (right) Kim et al. [23] (GSM3215435) were analyzed using the Single-Cell Explorer software (Artyomov lab). (A) Leukocyte clusters and corresponding KEGG Metabolic Pathway analysis. Glycolysis: KEGG mmu00010. Pentose Phosphate Pathway: KEGG mmu00030. The lists of markers used to identify subsets are in the legend of Figures 1 and 2. (B) Expression pattern of genes involved in glucose metabolism (Kim et al. [23] (GSM3215435)).

Interestingly, Folco and colleagues reported no modulations in glucose uptake when stimulating human primary macrophages with pro-inflammatory cytokines [200]. However, glucose uptake was increased in hypoxic conditions, along with increased HK2 expression, while HK1

expression remained unchanged. Immuno-histochemical analysis of human atherosclerotic lesions showed a colocalization of HK2 with the transcription factor HIF-1 α (Hypoxia-inducible factor-1), a well-established regulator of glycolysis [200]. Hif-1 α mRNA is ubiquitously expressed among plaque resident immune cells, most of which also express HK2 but not HK1, thus supporting these observations (Figure 3B). Advanced plaques contain hypoxic regions due to restricted blood supply and Hif-1 α expression was detected in mouse and human plaques [201–204]. Conditional deletion of Hif-1 α in myeloid cells (Lyz2^{cre} \times Hif-1 α ^{fl/fl} mice) didn't impact plaque size [205]. However, when Hif-1 α was deleted in CD11c-expressing cells, an increased plaque area was documented, suggesting that this transcription factor mainly operates in CD11c-positive cells that could be DCs or a subset of macrophages (Figure 1B) [205]. CD11c^{cre} \times Hif-1 α ^{fl/fl} mice displayed increased necrotic core area that might result from defective glucose-driven efferocytosis [205]. However, a recent report demonstrated that Lyz2^{cre} \times Hif-1 α ^{fl/fl} mice have less plaque lesions when compared to control mice [206]. Surprisingly, Hif-1 α deficient mice displayed less apoptotic cells and blunted glucose uptake [206].

LPS also regulates glucose flux into the PPP. LPS decreased the expression of the enzyme Shpk (CARKL) involved in the non-oxidative branch of the PPP [207]. Conversely, IL-4 induced CARKL expression is required for optimal macrophage alternative polarization. CARKL genetic deficiency forces glucose flux into the glycolysis pathway at a level similar to the one seen upon LPS challenge [207]. Shpk expression is not restricted to a selective myeloid cell population in plaques (Figure 3B). In advanced plaque, macrophage local proliferation contributes to plaque growth [208] and one would expect that the PPP pathway, involved in nucleotide generation, is highly activated. This was not yet documented to our knowledge. Interestingly, a recent report demonstrated that hypercholesterolemia suppressed the PPP in macrophages [209]. Whether this mechanism occurs in plaque during atherosclerosis development remains to be tested.

Dendritic cells

Several populations of DCs have been identified in plaques, both in mice and humans (**Table 2 and Figure 1**). However, little is known about the metabolic configuration of plaque resident DCs. Following TLR4 activation with LPS, DCs rapidly undergo a metabolic switch towards glycolysis [210,211]. LPS exposure increases glucose consumption rate and increases Glut1 expression in DCs [210]. This is paralleled by augmented nitric oxide (NO) production that subsequently decreases oxidative phosphorylation (OXPHOS) activity, ATP levels and mitochondrial activity. Consistently, activated DCs show less oxygen consumption rate than resting DCs [210]. Thus, NO seems to play a pivotal role in metabolic regulation [211]. In DCs, endogenous nitric oxide production inhibits OXPHOS and commit those cells to glucose metabolism and aerobic

glycolysis similar to the Warburg effect described in tumor cells [211]. Additionally, LPS-induced NO production contributes to DCs induced death following activation [211]. This glycolytic reprogramming that happens within minutes after TLR stimulation is called the “glycolytic burst” and leads to *de novo* fatty acid synthesis needed for inflammatory cytokine production [212]. In addition, glucose restriction decreases activated-DC maturation, life span and cytokine secretion.

As compared to the rapid increase in glucose flux, Glut1 upregulation in DCs takes hours to build up following TLR stimulation. Therefore, exogenous glucose internalization seems unlikely to be the source required during early DC activation. This lag was recently solved by Thwe and colleagues who showed that intracellular glycogen reserves fuel DCs metabolic demands during early DC activation and that glycogen metabolism is required by these cells to initiate proper immune effector responses [213]. Of note, high glucose concentration increased the oxLDL-uptake capacity of DCs and augmented their IL-6 and IL-12 secretion while decreasing their IL-10 production [214].

Neutrophils

Unlike macrophages and monocytes, little is known about neutrophil metabolic configuration in health and disease. This might be explained by the difficulty to analyze these cells *ex vivo*. Moreover, single-cell RNA-Seq analysis on neutrophils is rather difficult because these cells typically possess lower number of transcripts when compared to T cells and macrophages. Neutrophils have long been thought to mainly rely on glycolytic metabolism [215], but neutrophils are able to switch from glycolysis to different metabolic pathways such as OXPHOS [216,217]. Increased glycemia favors granulopoiesis and neutrophil release in the blood circulation [191,192]. How modulation of plasma glucose levels impacts on neutrophil chemotaxis, especially their recruitment, retention and survival in the atherosclerotic plaque, is another exciting question.

Amino Acids

In addition to glucose and lipids, amino acids are a source of energy for immune cells. Amino acids are essential metabolites for protein synthesis that act as intermediates in metabolic pathways. Amino acids modulate immune cell functions such as activation, differentiation, proliferation, gene expression, redox status or cytokine production. However, the role of amino acids on immune cell functions during atherosclerosis remains poorly understood.

In vitro studies have demonstrated the impact of glutamine metabolism on macrophage polarization [218,219]. More recently, Tavakoli et al. highlighted increased glutamine accumulation in aortas obtained from *Ldlr*^{-/-} mice. In this study, the autoradiography shows a non-homogenous glutamine accumulation that diverges according to macrophage activation profile. The combination of 2-deoxyglucose and glutamine accumulation

within the aorta could predict the dominant macrophage polarization profile within the plaque. Indeed, a greater accumulation of glutamine than 2-deoxyglucose supposes a dominant anti-inflammatory population while the opposite indicates a higher content of pro-inflammatory macrophages. This study is one of the first to suggest a role for glutamine on plaque macrophage functions [220].

Besides glutamine, arginine is a key metabolite in vascular function and tone due to its role in the production of nitric oxide (NO). Indeed, arginine is metabolized both by arginase 1 (Arg1) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) to produce ornithine and urea or NO respectively. As those two enzymes compete for the same substrate, the use of arginine by Arg1 limits NO production, a macrophage pro-atherogenic factor [221]. In *Ldlr*^{-/-} mice, microarray analysis showed an increase Arg1 expression in carotid artery during early atherosclerotic lesions. Moreover, Arg1 deficiency promoted NO synthesis upon lipid loading. Hematopoietic Arg1 deletion induced increase foam cell formation in the peritoneum. However, after 10 weeks of western diet, Arg1 deficiency in *Ldlr*^{-/-} mice had no effect on the plaque size nor on the plaque composition [222]. Similarly, in *Ldlr*^{-/-} mice deficient for Arg1 specifically in myeloid cells, Yurdagul et al. did not observe any phenotypic difference within the plaque. However, in a regression model, the authors demonstrated defective efferocytosis within the plaque leading to impaired regression, increased necrotic core area and decreased cap thickness. In addition, ornithine produced by Arg1 can be subsequently metabolized to putrescine by ODC (ornithine decarboxylase) [223,224]. Putrescine supplementation improves plaque macrophage efferocytosis leading to reduced lesion and necrotic core size, as well as cap thickness [225]. Conversely, *ApoE*^{-/-} mice deficient for iNOS in the bone marrow compartment have reduced atheromatous lesions showing that leukocyte mediates the pro-atherogenic effect of iNOS in mice [226].

CONCLUSIONS AND FUTURE DIRECTIONS

The field of immunometabolism is a rapidly expanding one that provides new insights on the role of specific metabolites in immune cells during health and disease. Atherosclerosis is characterized by increased plasma glucose and cholesterol concentrations, and we only recently started to appreciate how precisely these two metabolites impact on plaque resident myeloid cell functions and on their generation from bone marrow-derived precursors. The precise circuits incorporating glucose in macrophages, monocytes, DCs and neutrophils remain to be fully understood. Eventually this might help to apprehend how metabolism supports key functions specific for each population. For example, understanding how metabolism guides monocyte recruitment to plaques as well as their retention or eventual egress will be of significant importance for the field. Regarding macrophages, we recently learned that glucose metabolism sustains one of their key functions: the removal of

apoptotic cells [194,195]. Whether glucose modulates macrophage motility in plaque or their interaction with the extracellular matrix remains to be elucidated. Recent reports demonstrated that DCs cytokine production is tightly regulated by their metabolic configuration [227]. Glucose metabolism regulates DCs migration via regulation of the key chemokine receptor CCR7 [228,229]. Of note, the role of CCR7 during atherosclerosis remains debated with studies reporting that CCR7-deficient mice display smaller [230], similar [231] and increased [232] plaque area. One might wonder whether this mechanism occurs during atherosclerosis as well. Specific metabolic configuration might be required for efficient peptide presentation to conventional T cells via MHC II or lipids to NKT (Natural Killer T) cells via CD1d. Another crucial question is whether the way of metabolite incorporation in myeloid cells affects their intracellular distribution. Apoptotic cell ingestion by myeloid cells leads to internalization of metabolites contained in the dying cell [225]. Thus, the efferocytes need to either incorporate these metabolites into their circuits, store them in specialized compartments or expulse them in the interstitial space where they could be used by neighbor cells.

Single-Cell RNA-Seq moved the field forward toward a better understanding of the immune diversity and functions in atherosclerotic plaque. Nevertheless, the predictions generated via this technique need in detail in situ validation. Recently, an elegant approach was validated to investigate single-cell metabolism in local environment [233]. This new technical advance will be helpful to investigate whether different myeloid cell populations residing in plaque possess a unique enzymatic profile. These analyses could also reveal a zonation in plaque enzyme and metabolite distribution. The field will benefit from our future ability to dose locally metabolites at the scale of the milieu surrounding a cell as well as cellular micro-compartmentalization. This, together with our ability to measure enzymatic activities and at the same scale will certainly make our task of making sense of metabolism an easier one. Our computing ability to integrate all those parameters will also facilitate the large-scale understanding of deciphering how access and competition for nutrients shape immunity and to what extent this can be used as new therapeutic handles.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

AG and SI outlined the manuscript. AG, MIS, JM and SI wrote the manuscript. AG generated the figures and tables. RRG, LYC and SI edited the manuscript. All authors approved the final submission of the manuscript.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors have no disclosure and conflict of interest to declare.

FUNDING

AG is supported by the French government, through the UCAJedi Investments in the Future projects managed by the National Research Agency (ANR) with the reference number ANR-15-IDEX-01. RRG is supported by Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). LYC is supported by grants from the European Research Council (ERC) consolidator program (ERC2016COG724838). SI is supported by Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale (INSERM) and Agence Nationale de la Recherche (ANR-17-CE14-0017-01 and ANR-19-ECVD-0005-01).

REFERENCES

1. Libby P, Lichtman AH, Hansson GK. Immune effector mechanisms implicated in atherosclerosis: from mice to humans. *Immunity*. 2013;38(6):1092-104.
2. Kobiyama K, Ley K. Atherosclerosis. *Circ Res*. 2018;123(10):1118-20.
3. Fredrickson DS, Lees RS. A System for Phenotyping Hyperlipoproteinemia. *Circulation*. 1965;31:321-7.
4. Dawber TR, Moore FE, Mann GV. Coronary heart disease in the Framingham study. *Am J Public Health Nations Health*. 1957;47(4 Pt 2):4-24.
5. Moore KJ, Tabas I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis. *Cell*. 2011;145(3):341-55.
6. Otsuka F, Joner M, Prati F, Virmani R, Narula J. Clinical classification of plaque morphology in coronary disease. *Nat Rev Cardiol*. 2014;11(7):379-89.
7. Tabas I. Heart disease: Death-defying plaque cells. *Nature*. 2016;536(7614):32-3.
8. Davies MJ, Richardson PD, Woolf N, Katz DR, Mann J. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content. *Br Heart J*. 1993;69(5):377-81.
9. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(5):1262-75.
10. Guillems M, Ginhoux F, Jakubzick C, Naik SH, Onai N, Schraml BU, et al. Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontology. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(8):571-8.
11. Gautier EL, Shay T, Miller J, Greter M, Jakubzick C, Ivanov S, et al. Gene-expression profiles and transcriptional regulatory pathways that underlie the identity and diversity of mouse tissue macrophages. *Nat Immunol*. 2012;13(11):1118-28.
12. Tabas I, Bornfeldt KE. Intracellular and Intercellular Aspects of Macrophage Immunometabolism in Atherosclerosis. *Circ Res*. 2020;126(9):1209-27.
13. Nishizawa T, Kanter JE, Kramer F, Barnhart S, Shen X, Vivekanandan-Giri A, et al. Testing the role of myeloid cell glucose flux in inflammation and atherosclerosis. *Cell Rep*. 2014;7(2):356-65.
14. Shirai T, Nazarewicz RR, Wallis BB, Yanes RE, Watanabe R, Hilhorst M, et al. The glycolytic enzyme PKM2 bridges metabolic and inflammatory dysfunction in coronary artery disease. *J Exp Med*. 2016;213(3):337-54.

15. Tomas L, Edsfeldt A, Mollet IG, Perisic Matic L, Prehn C, Adamski J, et al. Altered metabolism distinguishes high-risk from stable carotid atherosclerotic plaques. *Eur Heart J*. 2018;39(24):2301-10.
16. Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson GK. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis*. 1986;6(2):131-8.
17. Koltsova EK, Garcia Z, Chodaczek G, Landau M, McArdle S, Scott SR, et al. Dynamic T cell-APC interactions sustain chronic inflammation in atherosclerosis. *J Clin Invest*. 2012;122(9):3114-26.
18. Lin JD, Nishi H, Poles J, Niu X, McCauley C, Rahman K, et al. Single-cell analysis of fate-mapped macrophages reveals heterogeneity, including stem-like properties, during atherosclerosis progression and regression. *JCI Insight*. 2019;4(4):e124574.
19. Williams JW, Winkels H, Durant CP, Zaitsev K, Ghosheh Y, Ley K. Single Cell RNA Sequencing in Atherosclerosis Research. *Circ Res*. 2020;126(9):1112-26.
20. Fernandez DM, Rahman AH, Fernandez NF, Chudnovskiy A, Amir ED, Amadori L, et al. Single-cell immune landscape of human atherosclerotic plaques. *Nat Med*. 2019;25(10):1576-88.
21. Cochain C, Vafadarnejad E, Arampatzi P, Pelisek J, Winkels H, Ley K, et al. Single-Cell RNA-Seq Reveals the Transcriptional Landscape and Heterogeneity of Aortic Macrophages in Murine Atherosclerosis. *Circ Res*. 2018;122(12):1661-74.
22. Winkels H, Ehinger E, Vassallo M, Buscher K, Dinh HQ, Kobiyama K, et al. Atlas of the Immune Cell Repertoire in Mouse Atherosclerosis Defined by Single-Cell RNA-Sequencing and Mass Cytometry. *Circ Res*. 2018;122(12):1675-88.
23. Kim K, Shim D, Lee JS, Zaitsev K, Williams JW, Kim KW, et al. Transcriptome Analysis Reveals Nonfoamy Rather Than Foamy Plaque Macrophages Are Proinflammatory in Atherosclerotic Murine Models. *Circ Res*. 2018;123(10):1127-42.
24. Cole JE, Park I, Ahern DJ, Kassiteridi C, Danso Abeam D, Goddard ME, et al. Immune cell census in murine atherosclerosis: cytometry by time of flight illuminates vascular myeloid cell diversity. *Cardiovasc Res*. 2018;114(10):1360-71.
25. Kalluri AS, Vellarikkal SK, Edelman ER, Nguyen L, Subramanian A, Ellinor PT, et al. Single-Cell Analysis of the Normal Mouse Aorta Reveals Functionally Distinct Endothelial Cell Populations. *Circulation*. 2019;140(2):147-63.
26. Zerneck A, Winkels H, Cochain C, Williams JW, Wolf D, Soehnlein O, et al. Meta-Analysis of Leukocyte Diversity in Atherosclerotic Mouse Aortas. *Circ Res*. 2020;127(3):402-26.
27. Wolf AA, Yanez A, Barman PK, Goodridge HS. The Ontogeny of Monocyte Subsets. *Front Immunol*. 2019;10:1642.
28. Jakubzick CV, Randolph GJ, Henson PM. Monocyte differentiation and antigen-presenting functions. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(6):349-62.
29. Dai XM, Ryan GR, Hapel AJ, Dominguez MG, Russell RG, Kapp S, et al. Targeted disruption of the mouse colony-stimulating factor 1 receptor gene results in

- osteopetrosis, mononuclear phagocyte deficiency, increased primitive progenitor cell frequencies, and reproductive defects. *Blood*. 2002;99(1):111-20.
30. Williams M, Thierry GR, Bonnardel J, Bajenoff M. Establishment and Maintenance of the Macrophage Niche. *Immunity*. 2020;52(3):434-51.
 31. Friedman GD, Klatsky AL, Siegelau AB. The leukocyte count as a predictor of myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1974;290(23):1275-8.
 32. Barron HV, Cannon CP, Murphy SA, Braunwald E, Gibson CM. Association between white blood cell count, epicardial blood flow, myocardial perfusion, and clinical outcomes in the setting of acute myocardial infarction: a thrombolysis in myocardial infarction 10 substudy. *Circulation*. 2000;102(19):2329-34.
 33. Cannon CP, McCabe CH, Wilcox RG, Bentley JH, Braunwald E. Association of white blood cell count with increased mortality in acute myocardial infarction and unstable angina pectoris. OPUS-TIMI 16 Investigators. *Am J Cardiol*. 2001;87(5):636-9, A10.
 34. Averill LE, Meagher RC, Gerrity RG. Enhanced monocyte progenitor cell proliferation in bone marrow of hyperlipemic swine. *Am J Pathol*. 1989;135(2):369-77.
 35. Feldman DL, Mogelesky TC, Liptak BF, Gerrity RG. Leukocytosis in rabbits with diet-induced atherosclerosis. *Arterioscler Thromb*. 1991;11(4):985-94.
 36. Lessner SM, Prado HL, Waller EK, Galis ZS. Atherosclerotic lesions grow through recruitment and proliferation of circulating monocytes in a murine model. *Am J Pathol*. 2002;160(6):2145-55.
 37. Geissmann F, Jung S, Littman DR. Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties. *Immunity*. 2003;19(1):71-82.
 38. Sunderkotter C, Nikolic T, Dillon MJ, Van Rooijen N, Stehling M, Drevets DA, et al. Subpopulations of mouse blood monocytes differ in maturation stage and inflammatory response. *J Immunol*. 2004;172(7):4410-7.
 39. Chong SZ, Evrard M, Devi S, Chen J, Lim JY, See P, et al. CXCR4 identifies transitional bone marrow premonocytes that replenish the mature monocyte pool for peripheral responses. *J Exp Med*. 2016;213(11):2293-314.
 40. Hanna RN, Carlin LM, Hubbeling HG, Nackiewicz D, Green AM, Punt JA, et al. The transcription factor NR4A1 (Nur77) controls bone marrow differentiation and the survival of Ly6C⁺ monocytes. *Nat Immunol*. 2011;12(8):778-85.
 41. Auffray C, Fogg D, Garfa M, Elain G, Join-Lambert O, Kayal S, et al. Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior. *Science*. 2007;317(5838):666-70.
 42. Carlin LM, Stamatiades EG, Auffray C, Hanna RN, Glover L, Vizcay-Barrena G, et al. Nr4a1-dependent Ly6C^{low} monocytes monitor endothelial cells and orchestrate their disposal. *Cell*. 2013;153(2):362-75.
 43. Weber C, Belge KU, von Hundelshausen P, Draude G, Steppich B, Mack M, et al. Differential chemokine receptor expression and function in human monocyte subpopulations. *J Leukoc Biol*. 2000;67(5):699-704.
 44. Palframan RT, Jung S, Cheng G, Weninger W, Luo Y, Dorf M, et al. Inflammatory chemokine transport and presentation in HEV: a remote

- control mechanism for monocyte recruitment to lymph nodes in inflamed tissues. *J Exp Med*. 2001;194(9):1361-73.
45. Dyer DP, Medina-Ruiz L, Bartolini R, Schuette F, Hughes CE, Pallas K, et al. Chemokine Receptor Redundancy and Specificity Are Context Dependent. *Immunity*. 2019;50(2):378-89.e5.
 46. Swirski FK, Libby P, Aikawa E, Alcaide P, Luscinskas FW, Weissleder R, et al. Ly-6Chi monocytes dominate hypercholesterolemia-associated monocytosis and give rise to macrophages in atheromata. *J Clin Invest*. 2007;117(1):195-205.
 47. Tacke F, Alvarez D, Kaplan TJ, Jakubzick C, Spanbroek R, Llodra J, et al. Monocyte subsets differentially employ CCR2, CCR5, and CX3CR1 to accumulate within atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*. 2007;117(1):185-94.
 48. Imhof BA, Aurrand-Lions M. Adhesion mechanisms regulating the migration of monocytes. *Nat Rev Immunol*. 2004;4(6):432-44.
 49. Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(9):678-89.
 50. Verweij SL, Duivenvoorden R, Stiekema LCA, Nurmohamed NS, van der Valk FM, Versloot M, et al. CCR2 expression on circulating monocytes is associated with arterial wall inflammation assessed by 18F-FDG PET/CT in patients at risk for cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. 2018;114(3):468-75.
 51. Yoshida H, Hayashi S, Kunisada T, Ogawa M, Nishikawa S, Okamura H, et al. The murine mutation osteopetrosis is in the coding region of the macrophage colony stimulating factor gene. *Nature*. 1990;345(6274):442-4.
 52. Qiao JH, Tripathi J, Mishra NK, Cai Y, Tripathi S, Wang XP, et al. Role of macrophage colony-stimulating factor in atherosclerosis: studies of osteopetrotic mice. *Am J Pathol*. 1997;150(5):1687-99.
 53. Smith JD, Trogan E, Ginsberg M, Grigaux C, Tian J, Miyata M. Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(18):8264-8.
 54. Rajavashisth T, Qiao JH, Tripathi S, Tripathi J, Mishra N, Hua M, et al. Heterozygous osteopetrotic (op) mutation reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest*. 1998;101(12):2702-10.
 55. Boring L, Gosling J, Cleary M, Charo IF. Decreased lesion formation in CCR2^{-/-} mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. *Nature*. 1998;394(6696):894-7.
 56. Gu L, Okada Y, Clinton SK, Gerard C, Sukhova GK, Libby P, et al. Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice. *Mol Cell*. 1998;2(2):275-81.
 57. Ingersoll MA, Spanbroek R, Lottaz C, Gautier EL, Frankenberger M, Hoffmann R, et al. Comparison of gene expression profiles between human and mouse monocyte subsets. *Blood*. 2010;115(3):e10-9.
 58. Ait-Oufella H, Taleb S, Mallat Z, Tedgui A. Recent advances on the role of cytokines in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(5):969-79.

59. Galea J, Armstrong J, Gadsdon P, Holden H, Francis SE, Holt CM. Interleukin-1 beta in coronary arteries of patients with ischemic heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996;16(8):1000-6.
60. Kirii H, Niwa T, Yamada Y, Wada H, Saito K, Iwakura Y, et al. Lack of interleukin-1beta decreases the severity of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(4):656-60.
61. Isoda K, Sawada S, Ishigami N, Matsuki T, Miyazaki K, Kusuhara M, et al. Lack of interleukin-1 receptor antagonist modulates plaque composition in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(6):1068-73.
62. Gomez D, Baylis RA, Durgin BG, Newman AAC, Alencar GF, Mahan S, et al. Interleukin-1beta has atheroprotective effects in advanced atherosclerotic lesions of mice. *Nat Med.* 2018;24(9):1418-29.
63. Ridker PM, MacFadyen JG, Everett BM, Libby P, Thuren T, Glynn RJ, et al. Relationship of C-reactive protein reduction to cardiovascular event reduction following treatment with canakinumab: a secondary analysis from the CANTOS randomised controlled trial. *Lancet.* 2018;391(10118):319-28.
64. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med.* 2017;377(12):1119-31.
65. Doran AC, Yurdagul A Jr, Tabas I. Efferocytosis in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2020;20(4):254-67.
66. Bianconi E, Piovesan A, Facchin F, Beraudi A, Casadei R, Frabetti F, et al. An estimation of the number of cells in the human body. *Ann Hum Biol.* 2013;40(6):463-71.
67. Wolf Y, Boura-Halfon S, Cortese N, Haimon Z, Sar Shalom H, Kuperman Y, et al. Brown-adipose-tissue macrophages control tissue innervation and homeostatic energy expenditure. *Nat Immunol.* 2017;18(6):665-74.
68. Kohyama M, Ise W, Edelson BT, Wilker PR, Hildner K, Mejia C, et al. Role for Spi-C in the development of red pulp macrophages and splenic iron homeostasis. *Nature.* 2009;457(7227):318-21.
69. Schulz C, Gomez Perdiguero E, Chorro L, Szabo-Rogers H, Cagnard N, Kierdorf K, et al. A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells. *Science.* 2012;336(6077):86-90.
70. Gomez Perdiguero E, Klapproth K, Schulz C, Busch K, Azzoni E, Crozet L, et al. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors. *Nature.* 2015;518(7540):547-51.
71. Guilliams M, De Kleer I, Henri S, Post S, Vanhoutte L, De Prijck S, et al. Alveolar macrophages develop from fetal monocytes that differentiate into long-lived cells in the first week of life via GM-CSF. *J Exp Med.* 2013;210(10):1977-92.
72. Bain CC, Mowat AM. Macrophages in intestinal homeostasis and inflammation. *Immunol Rev.* 2014;260(1):102-17.
73. Epelman S, Lavine KJ, Beaudin AE, Sojka DK, Carrero JA, Calderon B, et al. Embryonic and adult-derived resident cardiac macrophages are maintained through distinct mechanisms at steady state and during inflammation. *Immunity.* 2014;40(1):91-104.

74. Silva HM, Bafica A, Rodrigues-Luiz GF, Chi J, Santos PDA, Reis BS, et al. Vasculature-associated fat macrophages readily adapt to inflammatory and metabolic challenges. *J Exp Med*. 2019;216(4):786-806.
75. Wang Y, Szretter KJ, Vermi W, Gilfillan S, Rossini C, Cella M, et al. IL-34 is a tissue-restricted ligand of CSF1R required for the development of Langerhans cells and microglia. *Nat Immunol*. 2012;13(8):753-60.
76. Ivanov S, Gallerand A, Gros M, Stunault MI, Merlin J, Vaillant N, et al. Mesothelial cell CSF1 sustains peritoneal macrophage proliferation. *Eur J Immunol*. 2019;49(11):2012-8.
77. Chakarov S, Lim HY, Tan L, Lim SY, See P, Lum J, et al. Two distinct interstitial macrophage populations coexist across tissues in specific subtissular niches. *Science*. 2019;363(6432):eaau0964.
78. Cochain C, Saliba AE, Zerneck A. Letter by Cochain et al Regarding Article, "Transcriptome Analysis Reveals Nonfoamy Rather Than Foamy Plaque Macrophages Are Proinflammatory in Atherosclerotic Murine Models". *Circ Res*. 2018;123(11):e48-9.
79. Kim K, Choi JH. Response by Kim and Choi to Letter Regarding Article, "Transcriptome Analysis Reveals Nonfoamy Rather Than Foamy Plaque Macrophages Are Proinflammatory in Atherosclerotic Murine Models". *Circ Res*. 2018;123(11):e50.
80. Satpathy AT, Kc W, Albring JC, Edelson BT, Kretzer NM, Bhattacharya D, et al. Zbtb46 expression distinguishes classical dendritic cells and their committed progenitors from other immune lineages. *J Exp Med*. 2012;209(6):1135-52.
81. Meredith MM, Liu K, Darrasse-Jeze G, Kamphorst AO, Schreiber HA, Guermonprez P, et al. Expression of the zinc finger transcription factor zDC (Zbtb46, Btbd4) defines the classical dendritic cell lineage. *J Exp Med*. 2012;209(6):1153-65.
82. Murphy TL, Grajales-Reyes GE, Wu X, Tussiwand R, Briseno CG, Iwata A, et al. Transcriptional Control of Dendritic Cell Development. *Annu Rev Immunol*. 2016;34:93-119.
83. Doring Y, Zerneck A. Plasmacytoid dendritic cells in atherosclerosis. *Front Physiol*. 2012;3:230.
84. Jensen J, Vazquez-Torres A, Balish E. Poly(I.C)-induced interferons enhance susceptibility of SCID mice to systemic candidiasis. *Infect Immun*. 1992;60(11):4549-57.
85. Thacker SG, Zhao W, Smith CK, Luo W, Wang H, Vivekanandan-Giri A, et al. Type I interferons modulate vascular function, repair, thrombosis, and plaque progression in murine models of lupus and atherosclerosis. *Arthritis Rheum*. 2012;64(9):2975-85.
86. Ait-Oufella H, Sage AP, Mallat Z, Tedgui A. Adaptive (T and B cells) immunity and control by dendritic cells in atherosclerosis. *Circ Res*. 2014;114(10):1640-60.
87. Weber C, Meiler S, Doring Y, Koch M, Drechsler M, Megens RT, et al. CCL17-expressing dendritic cells drive atherosclerosis by restraining regulatory T cell homeostasis in mice. *J Clin Invest*. 2011;121(7):2898-910.
88. Kimura T, Kobiyama K, Winkels H, Tse K, Miller J, Vassallo M, et al. Regulatory CD4(+) T Cells Recognize Major Histocompatibility Complex Class II Molecule-

- Restricted Peptide Epitopes of Apolipoprotein B. *Circulation*. 2018;138(11):1130-43.
89. Kimura T, Tse K, McArdle S, Gerhardt T, Miller J, Mikulski Z, et al. Atheroprotective vaccination with MHC-II-restricted ApoB peptides induces peritoneal IL-10-producing CD4 T cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2017;312(4):H781-90.
 90. Tse K, Gonen A, Sidney J, Ouyang H, Witztum JL, Sette A, et al. Atheroprotective Vaccination with MHC-II Restricted Peptides from ApoB-100. *Front Immunol*. 2013;4:493.
 91. Lin Z, Qian S, Gong Y, Ren J, Zhao L, Wang D, et al. Deep sequencing of the T cell receptor beta repertoire reveals signature patterns and clonal drift in atherosclerotic plaques and patients. *Oncotarget*. 2017;8(59):99312-22.
 92. Paulsson G, Zhou X, Tornquist E, Hansson GK. Oligoclonal T cell expansions in atherosclerotic lesions of apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(1):10-7.
 93. Buono C, Pang H, Uchida Y, Libby P, Sharpe AH, Lichtman AH. B7-1/B7-2 costimulation regulates plaque antigen-specific T-cell responses and atherogenesis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Circulation*. 2004;109(16):2009-15.
 94. Haddad Y, Lahoute C, Clement M, Laurans L, Metghalchi S, Zeboudj L, et al. The Dendritic Cell Receptor DNGR-1 Promotes the Development of Atherosclerosis in Mice. *Circ Res*. 2017;121(3):234-43.
 95. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(3):173-82.
 96. Doring Y, Drechsler M, Wantha S, Kemmerich K, Lievens D, Vijayan S, et al. Lack of neutrophil-derived CRAMP reduces atherosclerosis in mice. *Circ Res*. 2012;110(8):1052-6.
 97. Zerneck A, Bot I, Djalali-Talab Y, Shagdarsuren E, Bidzhekov K, Meiler S, et al. Protective role of CXC receptor 4/CXC ligand 12 unveils the importance of neutrophils in atherosclerosis. *Circ Res*. 2008;102(2):209-17.
 98. Naruko T, Ueda M, Haze K, van der Wal AC, van der Loos CM, Itoh A, et al. Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Circulation*. 2002;106(23):2894-900.
 99. Rotzius P, Thams S, Soehnlein O, Kenne E, Tseng CN, Bjorkstrom NK, et al. Distinct infiltration of neutrophils in lesion shoulders in ApoE^{-/-} mice. *Am J Pathol*. 2010;177(1):493-500.
 100. Yang, Han Z, Oppenheim JJ. Alarmins and immunity. *Immunol Rev*. 2017;280(1):41-56.
 101. Pruenster M, Kurz AR, Chung KJ, Cao-Ehlker X, Bieber S, Nussbaum CF, et al. Extracellular MRP8/14 is a regulator of beta2 integrin-dependent neutrophil slow rolling and adhesion. *Nat Commun*. 2015;6:6915.
 102. Chen Q, Jin Y, Zhang K, Li H, Chen W, Meng G, et al. Alarmin HNP-1 promotes pyroptosis and IL-1beta release through different roles of NLRP3 inflammasome via P2X7 in LPS-primed macrophages. *Innate Immun*. 2014;20(3):290-300.

103. Willingham SB, Allen IC, Bergstralh DT, Brickey WJ, Huang MT, Taxman DJ, et al. NLRP3 (NALP3, Cryopyrin) facilitates in vivo caspase-1 activation, necrosis, and HMGB1 release via inflammasome-dependent and -independent pathways. *J Immunol.* 2009;183(3):2008-15.
104. Kahlenberg JM, Carmona-Rivera C, Smith CK, Kaplan MJ. Neutrophil extracellular trap-associated protein activation of the NLRP3 inflammasome is enhanced in lupus macrophages. *J Immunol.* 2013;190(3):1217-26.
105. Soehnlein O, Zerneck A, Eriksson EE, Rothfuchs AG, Pham CT, Herwald H, et al. Neutrophil secretion products pave the way for inflammatory monocytes. *Blood.* 2008;112(4):1461-71.
106. Qi H, Yang S, Zhang L. Neutrophil Extracellular Traps and Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis and Thrombosis. *Front Immunol.* 2017;8:928.
107. Schuster S, Hurrell B, Tacchini-Cottier F. Crosstalk between neutrophils and dendritic cells: a context-dependent process. *J Leukoc Biol.* 2013;94(4):671-5.
108. Narula J, Kolodgie FD, Virmani R. Apoptosis and cardiomyopathy. *Curr Opin Cardiol.* 2000;15(3):183-8.
109. Denny MF, Yalavarthi S, Zhao W, Thacker SG, Anderson M, Sandy AR, et al. A distinct subset of proinflammatory neutrophils isolated from patients with systemic lupus erythematosus induces vascular damage and synthesizes type I IFNs. *J Immunol.* 2010;184(6):3284-97.
110. Chavez-Sanchez L, Espinosa-Luna JE, Chavez-Rueda K, Legorreta-Haquet MV, Montoya-Diaz E, Blanco-Favela F. Innate immune system cells in atherosclerosis. *Arch Med Res.* 2014;45(1):1-14.
111. van Leeuwen M, Gijbels MJ, Duijvestijn A, Smook M, van de Gaar MJ, Heeringa P, et al. Accumulation of myeloperoxidase-positive neutrophils in atherosclerotic lesions in LDLR^{-/-} mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28(1):84-9.
112. Aratani Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Arch Biochem Biophys.* 2018;640:47-52.
113. Podrez EA, Schmitt D, Hoff HF, Hazen SL. Myeloperoxidase-generated reactive nitrogen species convert LDL into an atherogenic form in vitro. *J Clin Invest.* 1999;103(11):1547-60.
114. Khan MA, Palaniyar N. Transcriptional firing helps to drive NETosis. *Sci Rep.* 2017;7:41749.
115. Doring Y, Libby P, Soehnlein O. Neutrophil Extracellular Traps Participate in Cardiovascular Diseases: Recent Experimental and Clinical Insights. *Circ Res.* 2020;126(9):1228-41.
116. Sriranjana RS, Tarkin JM, Evans NR, Le EPV, Chowdhury MM, Rudd JHF. Atherosclerosis imaging using PET: Insights and applications. *Br J Pharmacol.* 2019. doi: 10.1111/bph.14868
117. Yamashita A, Zhao Y, Matsuura Y, Yamasaki K, Moriguchi-Goto S, Sugita C, et al. Increased metabolite levels of glycolysis and pentose phosphate pathway in rabbit atherosclerotic arteries and hypoxic macrophage. *PLoS One.* 2014;9(1):e86426.

118. Yvan-Charvet L, Pagler T, Gautier EL, Avagyan S, Siry RL, Han S, et al. ATP-binding cassette transporters and HDL suppress hematopoietic stem cell proliferation. *Science*. 2010;328(5986):1689-93.
119. Murphy AJ, Akhtari M, Tolani S, Pagler T, Bijl N, Kuo CL, et al. ApoE regulates hematopoietic stem cell proliferation, monocytosis, and monocyte accumulation in atherosclerotic lesions in mice. *J Clin Invest*. 2011;121(10):4138-49.
120. Wang M, Subramanian M, Abramowicz S, Murphy AJ, Gonen A, Witztum J, et al. Interleukin-3/granulocyte macrophage colony-stimulating factor receptor promotes stem cell expansion, monocytosis, and atheroma macrophage burden in mice with hematopoietic ApoE deficiency. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(5):976-84.
121. Morgan PK, Fang L, Lancaster GI, Murphy AJ. Hematopoiesis is regulated by cholesterol efflux pathways and lipid rafts: connections with cardiovascular diseases. *J Lipid Res*. 2020;61(5):667-75.
122. Hermetet F, Buffiere A, Aznague A, Pais de Barros JP, Bastie JN, Delva L, et al. High-fat diet disturbs lipid raft/TGF-beta signaling-mediated maintenance of hematopoietic stem cells in mouse bone marrow. *Nat Commun*. 2019;10(1):523.
123. Babaev VR, Runner RP, Fan D, Ding L, Zhang Y, Tao H, et al. Macrophage Mal1 deficiency suppresses atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-null mice by activating peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-regulated genes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(6):1283-90.
124. Takahashi M, Yagy H, Tazoe F, Nagashima S, Ohshiro T, Okada K, et al. Macrophage lipoprotein lipase modulates the development of atherosclerosis but not adiposity. *J Lipid Res*. 2013;54(4):1124-34.
125. Chang CL, Garcia-Arcos I, Nyren R, Olivecrona G, Kim JY, Hu Y, et al. Lipoprotein Lipase Deficiency Impairs Bone Marrow Myelopoiesis and Reduces Circulating Monocyte Levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2018;38(3):509-19.
126. Jordan S, Tung N, Casanova-Acebes M, Chang C, Cantoni C, Zhang D, et al. Dietary Intake Regulates the Circulating Inflammatory Monocyte Pool. *Cell*. 2019;178(5):1102-14.e17.
127. Fowler S, Shio H, Haley NJ. Characterization of lipid-laden aortic cells from cholesterol-fed rabbits. IV. Investigation of macrophage-like properties of aortic cell populations. *Lab Invest*. 1979;41(4):372-8.
128. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem*. 1983;52:223-61.
129. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*. 1986;232(4746):34-47.
130. Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, Kamada N, Kataoka M, Jishage K, et al. A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature*. 1997;386(6622):292-6.
131. Kunjathoor VV, Febbraio M, Podrez EA, Moore KJ, Andersson L, Koehn S, et al. Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors

- responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. *J Biol Chem.* 2002;277(51):49982-8.
132. Yvan-Charvet L, Ranalletta M, Wang N, Han S, Terasaka N, Li R, et al. Combined deficiency of ABCA1 and ABCG1 promotes foam cell accumulation and accelerates atherosclerosis in mice. *J Clin Invest.* 2007;117(12):3900-8.
 133. Accad M, Smith SJ, Newland DL, Sanan DA, King LE Jr, Linton MF, et al. Massive xanthomatosis and altered composition of atherosclerotic lesions in hyperlipidemic mice lacking acyl CoA:cholesterol acyltransferase 1. *J Clin Invest.* 2000;105(6):711-9.
 134. Duewell P, Kono H, Rayner KJ, Sirois CM, Vladimer G, Bauernfeind FG, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature.* 2010;464(7293):1357-61.
 135. Schuster GU, Parini P, Wang L, Alberti S, Steffensen KR, Hansson GK, et al. Accumulation of foam cells in liver X receptor-deficient mice. *Circulation.* 2002;106(9):1147-53.
 136. Larrede S, Quinn CM, Jessup W, Frisdal E, Olivier M, Hsieh V, et al. Stimulation of cholesterol efflux by LXR agonists in cholesterol-loaded human macrophages is ABCA1-dependent but ABCG1-independent. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(11):1930-6.
 137. Calkin AC, Tontonoz P. Liver \times receptor signaling pathways and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(8):1513-8.
 138. Bischoff ED, Daige CL, Petrowski M, Dedman H, Pattison J, Juliano J, et al. Non-redundant roles for LXRA α and LXRB β in atherosclerosis susceptibility in low density lipoprotein receptor knockout mice. *J Lipid Res.* 2010;51(5):900-6.
 139. Westerterp M, Murphy AJ, Wang M, Pagler TA, Vengrenyuk Y, Kappus MS, et al. Deficiency of ATP-binding cassette transporters A1 and G1 in macrophages increases inflammation and accelerates atherosclerosis in mice. *Circ Res.* 2013;112(11):1456-65.
 140. Chinetti-Gbaguidi G, Baron M, Bouhrel MA, Vanhoutte J, Copin C, Sebti Y, et al. Human atherosclerotic plaque alternative macrophages display low cholesterol handling but high phagocytosis because of distinct activities of the PPAR γ and LXRA α pathways. *Circ Res.* 2011;108(8):985-95.
 141. Vats D, Mukundan L, Odegaard JI, Zhang L, Smith KL, Morel CR, et al. Oxidative metabolism and PGC-1 β attenuate macrophage-mediated inflammation. *Cell Metab.* 2006;4(1):13-24.
 142. Chinetti G, Lestavel S, Bocher V, Remaley AT, Neve B, Torra IP, et al. PPAR- α and PPAR- γ activators induce cholesterol removal from human macrophage foam cells through stimulation of the ABCA1 pathway. *Nat Med.* 2001;7(1):53-8.
 143. Chawla A, Boisvert WA, Lee CH, Laffitte BA, Barak Y, Joseph SB, et al. A PPAR γ -LXR-ABCA1 pathway in macrophages is involved in cholesterol efflux and atherogenesis. *Mol Cell.* 2001;7(1):161-71.
 144. Li AC, Binder CJ, Gutierrez A, Brown KK, Plotkin CR, Pattison JW, et al. Differential inhibition of macrophage foam-cell formation and atherosclerosis in mice by PPAR α , β/δ , and γ . *J Clin Invest.* 2004;114(11):1564-76.

145. Babaev VR, Ishiguro H, Ding L, Yancey PG, Dove DE, Kovacs WJ, et al. Macrophage expression of peroxisome proliferator-activated receptor- α reduces atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Circulation*. 2007;116(12):1404-12.
146. Rigamonti E, Chinetti-Gbaguidi G, Staels B. Regulation of macrophage functions by PPAR- α , PPAR- γ , and LXRs in mice and men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28(6):1050-9.
147. Dubois V, Eeckhoutte J, Lefebvre P, Staels B. Distinct but complementary contributions of PPAR isotypes to energy homeostasis. *J Clin Invest*. 2017;127(4):1202-14.
148. Viaud M, Ivanov S, Vujic N, Duta-Mare M, Aira LE, Barouillet T, et al. Lysosomal Cholesterol Hydrolysis Couples Efferocytosis to Anti-Inflammatory Oxysterol Production. *Circ Res*. 2018;122(10):1369-84.
149. Wild PS, Zeller T, Schillert A, Szymczak S, Sinning CR, Deiseroth A, et al. A genome-wide association study identifies LIPA as a susceptibility gene for coronary artery disease. *Circ Cardiovasc Genet*. 2011;4(4):403-12.
150. Evans TD, Zhang X, Clark RE, Alisio A, Song E, Zhang H, et al. Functional Characterization of LIPA (Lysosomal Acid Lipase) Variants Associated With Coronary Artery Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019;39(12):2480-91.
151. Horkko S, Bird DA, Miller E, Itabe H, Leitinger N, Subbanagounder G, et al. Monoclonal autoantibodies specific for oxidized phospholipids or oxidized phospholipid-protein adducts inhibit macrophage uptake of oxidized low-density lipoproteins. *J Clin Invest*. 1999;103(1):117-28.
152. Tsimikas S, Miyanohara A, Hartvigsen K, Merki E, Shaw PX, Chou MY, et al. Human oxidation-specific antibodies reduce foam cell formation and atherosclerosis progression. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58(16):1715-27.
153. Que X, Hung MY, Yeang C, Gonen A, Prohaska TA, Sun X, et al. Oxidized phospholipids are proinflammatory and proatherogenic in hypercholesterolaemic mice. *Nature*. 2018;558(7709):301-6.
154. Palinski W, Tangirala RK, Miller E, Young SG, Witztum JL. Increased autoantibody titers against epitopes of oxidized LDL in LDL receptor-deficient mice with increased atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15(10):1569-76.
155. Harmon EY, Fronhofer V, 3rd, Keller RS, Feustel PJ, Zhu X, Xu H, et al. Anti-inflammatory immune skewing is atheroprotective: *Apoe*^{-/-}*FcgammaRIIb*^{-/-} mice develop fibrous carotid plaques. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(6):e001232.
156. Pagano S, Magenta A, D'Agostino M, Martino F, Barilla F, Satta N, et al. Anti-ApoA-1 IgGs in Familial Hypercholesterolemia Display Paradoxical Associations with Lipid Profile and Promote Foam Cell Formation. *J Clin Med*. 2019;8(12):2035.
157. van den Berg VJ, Vroegindewey MM, Kardys I, Boersma E, Haskard D, Hartley A, et al. Anti-Oxidized LDL Antibodies and Coronary Artery Disease: A Systematic Review. *Antioxidants (Basel)*. 2019;8(10):484.
158. van Dierendonck X, de la Rosa Rodriguez MA, Georgiadi A, Mattijssen F, Dijk W, van Weeghel M, et al. HILPDA Uncouples Lipid Droplet Accumulation in

- Adipose Tissue Macrophages from Inflammation and Metabolic Dysregulation. *Cell Rep.* 2020;30(6):1811-22.e6.
159. Maier A, Wu H, Cordasic N, Oefner P, Dietel B, Thiele C, et al. Hypoxia-inducible protein 2 Hig2/Hilpda mediates neutral lipid accumulation in macrophages and contributes to atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *FASEB J.* 2017;31(11):4971-84.
 160. Gomez I, Foudi N, Longrois D, Norel X. The role of prostaglandin E2 in human vascular inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2013;89(2-3):55-63.
 161. Spann NJ, Garmire LX, McDonald JG, Myers DS, Milne SB, Shibata N, et al. Regulated accumulation of desmosterol integrates macrophage lipid metabolism and inflammatory responses. *Cell.* 2012;151(1):138-52.
 162. Huang SC, Everts B, Ivanova Y, O'Sullivan D, Nascimento M, Smith AM, et al. Cell-intrinsic lysosomal lipolysis is essential for alternative activation of macrophages. *Nat Immunol.* 2014;15(9):846-55.
 163. Divakaruni AS, Hsieh WY, Minarrieta L, Duong TN, Kim KKO, Desousa BR, et al. Etomoxir Inhibits Macrophage Polarization by Disrupting CoA Homeostasis. *Cell Metab.* 2018;28(3):490-503.e7.
 164. Mogilenko DA, Haas JT, L'Homme L, Fleury S, Quemener S, Levavasseur M, et al. Metabolic and Innate Immune Cues Merge into a Specific Inflammatory Response via the UPR. *Cell.* 2019;177(5):1201-16.e19.
 165. Nomura M, Liu J, Rovira, II, Gonzalez-Hurtado E, Lee J, Wolfgang MJ, et al. Fatty acid oxidation in macrophage polarization. *Nat Immunol.* 2016;17(3):216-7.
 166. Marcovecchio PM, Thomas GD, Mikulski Z, Ehinger E, Mueller KAL, Blatchley A, et al. Scavenger Receptor CD36 Directs Nonclassical Monocyte Patrolling Along the Endothelium During Early Atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017;37(11):2043-52.
 167. Febbraio M, Podrez EA, Smith JD, Hajjar DP, Hazen SL, Hoff HF, et al. Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice. *J Clin Invest.* 2000;105(8):1049-56.
 168. Seimon TA, Nadolski MJ, Liao X, Magallon J, Nguyen M, Feric NT, et al. Atherogenic lipids and lipoproteins trigger CD36-TLR2-dependent apoptosis in macrophages undergoing endoplasmic reticulum stress. *Cell Metab.* 2010;12(5):467-82.
 169. Kuchibhotla S, Vanegas D, Kennedy DJ, Guy E, Nimako G, Morton RE, et al. Absence of CD36 protects against atherosclerosis in ApoE knock-out mice with no additional protection provided by absence of scavenger receptor A I/II. *Cardiovasc Res.* 2008;78(1):185-96.
 170. Sheedy FJ, Grebe A, Rayner KJ, Kalantari P, Ramkhelawon B, Carpenter SB, et al. CD36 coordinates NLRP3 inflammasome activation by facilitating intracellular nucleation of soluble ligands into particulate ligands in sterile inflammation. *Nat Immunol.* 2013;14(8):812-20.
 171. Park YM, Febbraio M, Silverstein RL. CD36 modulates migration of mouse and human macrophages in response to oxidized LDL and may contribute to macrophage trapping in the arterial intima. *J Clin Invest.* 2009;119(1):136-45.

172. Gautier EL, Huby T, Saint-Charles F, Ouzilleau B, Pirault J, Deswaerte V, et al. Conventional dendritic cells at the crossroads between immunity and cholesterol homeostasis in atherosclerosis. *Circulation*. 2009;119(17):2367-75.
173. Birnberg T, Bar-On L, Sapoznikov A, Caton ML, Cervantes-Barragan L, Makia D, et al. Lack of conventional dendritic cells is compatible with normal development and T cell homeostasis, but causes myeloid proliferative syndrome. *Immunity*. 2008;29(6):986-97.
174. Paulson KE, Zhu SN, Chen M, Nurmohamed S, Jongstra-Bilen J, Cybulsky MI. Resident intimal dendritic cells accumulate lipid and contribute to the initiation of atherosclerosis. *Circ Res*. 2010;106(2):383-90.
175. Yun TJ, Lee JS, Machmach K, Shim D, Choi J, Wi YJ, et al. Indoleamine 2,3-Dioxygenase-Expressing Aortic Plasmacytoid Dendritic Cells Protect against Atherosclerosis by Induction of Regulatory T Cells. *Cell Metab*. 2016;23(5):852-66.
176. Macritchie N, Grassia G, Sabir SR, Maddaluno M, Welsh P, Sattar N, et al. Plasmacytoid dendritic cells play a key role in promoting atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(11):2569-79.
177. Doring Y, Manthey HD, Drechsler M, Lievens D, Megens RT, Soehnlein O, et al. Auto-antigenic protein-DNA complexes stimulate plasmacytoid dendritic cells to promote atherosclerosis. *Circulation*. 2012;125(13):1673-83.
178. Chen HJ, Tas SW, de Winther MPJ. Type-I interferons in atherosclerosis. *J Exp Med*. 2020;217(1):e20190459.
179. Daissormont IT, Christ A, Temmerman L, Sampedro Millares S, Seijkens T, Manca M, et al. Plasmacytoid dendritic cells protect against atherosclerosis by tuning T-cell proliferation and activity. *Circ Res*. 2011;109(12):1387-95.
180. Oh H, Mohler ER, 3rd, Tian A, Baumgart T, Diamond SL. Membrane cholesterol is a biomechanical regulator of neutrophil adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(9):1290-7.
181. Westerterp M, Fotakis P, Ouimet M, Bochem AE, Zhang H, Molusky MM, et al. Cholesterol Efflux Pathways Suppress Inflammasome Activation, NETosis, and Atherogenesis. *Circulation*. 2018;138(9):898-912.
182. Yvan-Charvet L, Ng LG. Granulopoiesis and Neutrophil Homeostasis: A Metabolic, Daily Balancing Act. *Trends Immunol*. 2019;40(7):598-612.
183. Yvan-Charvet L, Welch C, Pagler TA, Ranalletta M, Lamkanfi M, Han S, et al. Increased inflammatory gene expression in ABC transporter-deficient macrophages: free cholesterol accumulation, increased signaling via toll-like receptors, and neutrophil infiltration of atherosclerotic lesions. *Circulation*. 2008;118(18):1837-47.
184. Guasti L, Dentali F, Castiglioni L, Maroni L, Marino F, Squizzato A, et al. Neutrophils and clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes and/or cardiac revascularisation. A systematic review on more than 34,000 subjects. *Thromb Haemost*. 2011;106(4):591-9.
185. Milligan G, Alvarez-Curto E, Hudson BD, Prihandoko R, Tobin AB. FFA4/GPR120: Pharmacology and Therapeutic Opportunities. *Trends Pharmacol Sci*. 2017;38(9):809-21.

186. Williams JW, Martel C, Potteaux S, Esaulova E, Ingersoll MA, Elvington A, et al. Limited Macrophage Positional Dynamics in Progressing or Regressing Murine Atherosclerotic Plaques-Brief Report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2018;38(8):1702-10.
187. Ross S, Gerstein HC, Eikelboom J, Anand SS, Yusuf S, Pare G. Mendelian randomization analysis supports the causal role of dysglycaemia and diabetes in the risk of coronary artery disease. *Eur Heart J.* 2015;36(23):1454-62.
188. Ahmad OS, Morris JA, Mujammami M, Forgetta V, Leong A, Li R, et al. A Mendelian randomization study of the effect of type-2 diabetes on coronary heart disease. *Nat Commun.* 2015;6:7060.
189. Emami H, Singh P, MacNabb M, Vucic E, Lavender Z, Rudd JH, et al. Splenic metabolic activity predicts risk of future cardiovascular events: demonstration of a cardiosplenic axis in humans. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2015;8(2):121-30.
190. Oburoglu L, Tardito S, Fritz V, de Barros SC, Merida P, Craveiro M, et al. Glucose and glutamine metabolism regulate human hematopoietic stem cell lineage specification. *Cell Stem Cell.* 2014;15(2):169-84.
191. Sarrazy V, Viaud M, Westerterp M, Ivanov S, Giorgetti-Peraldi S, Guinamard R, et al. Disruption of Glut1 in Hematopoietic Stem Cells Prevents Myelopoiesis and Enhanced Glucose Flux in Atheromatous Plaques of ApoE(-/-) Mice. *Circ Res.* 2016;118(7):1062-77.
192. Nagareddy PR, Murphy AJ, Stirzaker RA, Hu Y, Yu S, Miller RG, et al. Hyperglycemia promotes myelopoiesis and impairs the resolution of atherosclerosis. *Cell Metab.* 2013;17(5):695-708.
193. van der Valk FM, Kuijk C, Verweij SL, Stiekema LCA, Kaiser Y, Zeerleder S, et al. Increased haematopoietic activity in patients with atherosclerosis. *Eur Heart J.* 2017;38(6):425-32.
194. Freemerman AJ, Zhao L, Pingili AK, Teng B, Cozzo AJ, Fuller AM, et al. Myeloid Slc2a1-Deficient Murine Model Revealed Macrophage Activation and Metabolic Phenotype Are Fueled by GLUT1. *J Immunol.* 2019;202(4):1265-86.
195. Morioka S, Perry JSA, Raymond MH, Medina CB, Zhu Y, Zhao L, et al. Efferocytosis induces a novel SLC program to promote glucose uptake and lactate release. *Nature.* 2018;563(7733):714-8.
196. Fukuzumi M, Shinomiya H, Shimizu Y, Ohishi K, Utsumi S. Endotoxin-induced enhancement of glucose influx into murine peritoneal macrophages via GLUT1. *Infect Immun.* 1996;64(1):108-12.
197. Huang SC, Smith AM, Everts B, Colonna M, Pearce EL, Schilling JD, et al. Metabolic Reprogramming Mediated by the mTORC2-IRF4 Signaling Axis Is Essential for Macrophage Alternative Activation. *Immunity.* 2016;45(4):817-30.
198. Covarrubias AJ, Aksoylar HI, Yu J, Snyder NW, Worth AJ, Iyer SS, et al. Akt-mTORC1 signaling regulates Acly to integrate metabolic input to control of macrophage activation. *Elife.* 2016;5:e11612.
199. Namgaladze D, Zukunft S, Schnutgen F, Kurrle N, Fleming I, Fuhrmann D, et al. Polarization of Human Macrophages by Interleukin-4 Does Not Require ATP-Citrate Lyase. *Front Immunol.* 2018;9:2858.

200. Folco EJ, Sheikine Y, Rocha VZ, Christen T, Shvartz E, Sukhova GK, et al. Hypoxia but not inflammation augments glucose uptake in human macrophages: Implications for imaging atherosclerosis with ¹⁸fluorine-labeled 2-deoxy-D-glucose positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58(6):603-14.
201. Sluimer JC, Gasc JM, van Wanroij JL, Kisters N, Groeneweg M, Sollewijn Gelpke MD, et al. Hypoxia, hypoxia-inducible transcription factor, and macrophages in human atherosclerotic plaques are correlated with intraplaque angiogenesis. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51(13):1258-65.
202. Bjornheden T, Levin M, Evaldsson M, Wiklund O. Evidence of hypoxic areas within the arterial wall in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(4):870-6.
203. Vink A, Schoneveld AH, Lamers D, Houben AJ, van der Groep P, van Diest PJ, et al. HIF-1 alpha expression is associated with an atheromatous inflammatory plaque phenotype and upregulated in activated macrophages. *Atherosclerosis*. 2007;195(2):e69-75.
204. Parathath S, Mick SL, Feig JE, Joaquin V, Grauer L, Habel DM, et al. Hypoxia is present in murine atherosclerotic plaques and has multiple adverse effects on macrophage lipid metabolism. *Circ Res*. 2011;109(10):1141-52.
205. Chaudhari SM, Sluimer JC, Koch M, Theelen TL, Manthey HD, Busch M, et al. Deficiency of HIF1alpha in Antigen-Presenting Cells Aggravates Atherosclerosis and Type 1 T-Helper Cell Responses in Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35(11):2316-25.
206. Aarup A, Pedersen TX, Junker N, Christoffersen C, Bartels ED, Madsen M, et al. Hypoxia-Inducible Factor-1alpha Expression in Macrophages Promotes Development of Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36(9):1782-90.
207. Haschemi A, Kosma P, Gille L, Evans CR, Burant CF, Starkl P, et al. The sedoheptulose kinase CARKL directs macrophage polarization through control of glucose metabolism. *Cell Metab*. 2012;15(6):813-26.
208. Robbins CS, Hilgendorf I, Weber GF, Theurl I, Iwamoto Y, Figueiredo JL, et al. Local proliferation dominates lesional macrophage accumulation in atherosclerosis. *Nat Med*. 2013;19(9):1166-72.
209. Van den Bossche J, Baardman J, Otto NA, van der Velden S, Neele AE, van den Berg SM, et al. Mitochondrial Dysfunction Prevents Repolarization of Inflammatory Macrophages. *Cell Rep*. 2016;17(3):684-96.
210. Krawczyk CM, Holowka T, Sun J, Blagih J, Amiel E, DeBerardinis RJ, et al. Toll-like receptor-induced changes in glycolytic metabolism regulate dendritic cell activation. *Blood*. 2010;115(23):4742-9.
211. Everts B, Amiel E, van der Windt GJ, Freitas TC, Chott R, Yarasheski KE, et al. Commitment to glycolysis sustains survival of NO-producing inflammatory dendritic cells. *Blood*. 2012;120(7):1422-31.
212. Amiel E, Everts B, Fritz D, Beauchamp S, Ge B, Pearce EL, et al. Mechanistic target of rapamycin inhibition extends cellular lifespan in dendritic cells by preserving mitochondrial function. *J Immunol*. 2014;193(6):2821-30.
213. Thwe PM, Pelgrom LR, Cooper R, Beauchamp S, Reisz JA, D'Alessandro A, et al. Cell-Intrinsic Glycogen Metabolism Supports Early Glycolytic

- Reprogramming Required for Dendritic Cell Immune Responses. *Cell Metab.* 2017;26(3):558-67.e5.
214. Lu H, Yao K, Huang D, Sun A, Zou Y, Qian J, et al. High glucose induces upregulation of scavenger receptors and promotes maturation of dendritic cells. *Cardiovasc Diabetol.* 2013;12:80.
215. Borregaard N, Herlin T. Energy metabolism of human neutrophils during phagocytosis. *J Clin Invest.* 1982;70(3):550-7.
216. Riffelmacher T, Clarke A, Richter FC, Stranks A, Pandey S, Danielli S, et al. Autophagy-Dependent Generation of Free Fatty Acids Is Critical for Normal Neutrophil Differentiation. *Immunity.* 2017;47(3):466-80.e5.
217. Rodriguez-Espinosa O, Rojas-Espinosa O, Moreno-Altamirano MM, Lopez-Villegas EO, Sanchez-Garcia FJ. Metabolic requirements for neutrophil extracellular traps formation. *Immunology.* 2015;145(2):213-24.
218. Jha AK, Huang SC, Sergushichev A, Lampropoulou V, Ivanova Y, Loginicheva E, et al. Network integration of parallel metabolic and transcriptional data reveals metabolic modules that regulate macrophage polarization. *Immunity.* 2015;42(3):419-30.
219. Liu PS, Wang H, Li X, Chao T, Teav T, Christen S, et al. alpha-ketoglutarate orchestrates macrophage activation through metabolic and epigenetic reprogramming. *Nat Immunol.* 2017;18(9):985-94.
220. Tavakoli S, Downs K, Short JD, Nguyen HN, Lai Y, Jerabek PA, et al. Characterization of Macrophage Polarization States Using Combined Measurement of 2-Deoxyglucose and Glutamine Accumulation: Implications for Imaging of Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017;37(10):1840-8.
221. Sonoki T, Nagasaki A, Gotoh T, Takiguchi M, Takeya M, Matsuzaki H, et al. Coinduction of nitric-oxide synthase and arginase I in cultured rat peritoneal macrophages and rat tissues in vivo by lipopolysaccharide. *J Biol Chem.* 1997;272(6):3689-93.
222. Ren B, Van Kampen E, Van Berkel TJ, Cruickshank SM, Van Eck M. Hematopoietic arginase 1 deficiency results in decreased leukocytosis and increased foam cell formation but does not affect atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2017;256:35-46.
223. Kierszenbaum F, Wirth JJ, McCann PP, Sjoerdsma A. Impairment of macrophage function by inhibitors of ornithine decarboxylase activity. *Infect Immun.* 1987;55(10):2461-4.
224. Tarasenko TN, Singh LN, Chatterji-Len M, Zerfas PM, Cusmano-Ozog K, McGuire PJ. Kupffer cells modulate hepatic fatty acid oxidation during infection with PR8 influenza. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1852(11):2391-401.
225. Yurdagul A, Jr., Subramanian M, Wang X, Crown SB, Ilkayeva OR, Darville L, et al. Macrophage Metabolism of Apoptotic Cell-Derived Arginine Promotes Continual Efferocytosis and Resolution of Injury. *Cell Metab.* 2020;31(3):518-33.e10.
226. Ponnuswamy P, Ostermeier E, Schrottler A, Chen J, Huang PL, Ertl G, et al. Oxidative stress and compartment of gene expression determine

- proatherosclerotic effects of inducible nitric oxide synthase. *Am J Pathol.* 2009;174(6):2400-10.
227. Everts B, Amiel E, Huang SC, Smith AM, Chang CH, Lam WY, et al. TLR-driven early glycolytic reprogramming via the kinases TBK1-IKK ϵ supports the anabolic demands of dendritic cell activation. *Nat Immunol.* 2014;15(4):323-32.
228. Guak H, Al Habyan S, Ma EH, Aldossary H, Al-Masri M, Won SY, et al. Glycolytic metabolism is essential for CCR7 oligomerization and dendritic cell migration. *Nat Commun.* 2018;9(1):2463.
229. Liu J, Zhang X, Chen K, Cheng Y, Liu S, Xia M, et al. CCR7 Chemokine Receptor-Inducible Inc-Dpf3 Restrains Dendritic Cell Migration by Inhibiting HIF-1 α -Mediated Glycolysis. *Immunity.* 2019;50(3):600-15.e15.
230. Luchtefeld M, Grothusen C, Gagalick A, Jagavelu K, Schuett H, Tietge UJ, et al. Chemokine receptor 7 knockout attenuates atherosclerotic plaque development. *Circulation.* 2010;122(16):1621-8.
231. Potteaux S, Gautier EL, Hutchison SB, van Rooijen N, Rader DJ, Thomas MJ, et al. Suppressed monocyte recruitment drives macrophage removal from atherosclerotic plaques of Apo $e^{-/-}$ mice during disease regression. *J Clin Invest.* 2011;121(5):2025-36.
232. Wan W, Lionakis MS, Liu Q, Roffe E, Murphy PM. Genetic deletion of chemokine receptor Ccr7 exacerbates atherogenesis in ApoE-deficient mice. *Cardiovasc Res.* 2013;97(3):580-8.
233. Miller A, Nagy C, Knapp B, Laengle J, Ponweiser E, Groeger M, et al. Exploring Metabolic Configurations of Single Cells within Complex Tissue Microenvironments. *Cell Metab.* 2017;26(5):788-800.e6.

How to cite this article:

Gallerand A, Stunault MI, Merlin J, Guinamard RR, Yvan-Charvet L, Ivanov S. Myeloid Cell Diversity and Impact of Metabolic Cues during Atherosclerosis. *Immunometabolism.* 2020;2(4):e200028.
<https://doi.org/10.20900/immunometab20200028>

Hypothèse de travail

Le métabolisme des acides gras dans les cellules immunitaires est impliqué dans de nombreux processus physiologiques et inflammatoires associés au développement de pathologies cardio-métaboliques. Notre mode de vie sédentaire actuel, associé à un accès illimité à une nourriture souvent très riche, une activité physique limitée ainsi que l'exposition aux lumières bleues et le travail en horaires décalés, voit s'accroître le nombre de ces pathologies. L'hyperlipidémie associée à la perturbation de ces systèmes de régulation est un des principaux facteurs de risque identifiés dans l'obésité et l'athérosclérose, première cause de décès dans le monde. C'est pourquoi durant ma thèse, je me suis intéressée à l'étude du contrôle des acides gras sur l'homéostasie monocyttaire. Les acides gras circulants provenant essentiellement de la lipolyse du tissu adipeux, nous avons donc développé un modèle murin déficient pour l'enzyme Atgl spécifiquement dans les tissus adipeux. Ce modèle nous permet d'étudier l'effet de cette délétion sur la survie, la mobilité et la différenciation des monocytes afin de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents responsables de l'initiation de ces pathologies métaboliques.

Résultats

Title

Adipose Tissue Lipolysis Regulates Monocyte Pool Dynamics in a Circadian Manner.

Running title:

Adipose tissue lipolysis controls peripheral blood monocytes.

Authors

Marion I. Stunault¹, Alexandre Gallerand¹, Johanna Merlin¹, Hannah P. Luehmann², Deborah Sultan², Narges Khedher¹, Antoine Jalil³, Bastien Dolfi¹, Alexia Castiglione, Marion Ayrault¹, Nathalie Vaillant¹, Jérôme Gilleron¹, Mathias Mack⁴, David Masson³, Yongjian Liu², Rodolphe R Guinamard¹, Laurent Yvan-Charvet¹ and Stoyan Ivanov^{1*}

Affiliations

¹ Université Côte d'Azur, INSERM, C3M, Nice, France.

² Department of Radiology, Washington University School of Medicine, Saint Louis, Missouri 63110 United States.

³ Université Bourgogne Franche-Comté, LNC UMR1231, F-21000 Dijon, France.

⁴ Department of Internal Medicine - Nephrology, University Hospital Regensburg, Regensburg, Germany.

*Corresponding author

Correspondence to:

Stoyan.ivanov@unice.fr

Summary

Monocytes are part of the mononuclear phagocytic system. Monocytes play a beneficial or detrimental role during inflammatory conditions and to understand the mechanisms controlling their generation and pool size might open new therapeutic windows. Free fatty acids are mainly generated from adipose tissue lipolysis and their plasma concentration follows a circadian rhythm. In the present study we focused our attention on the impact of adipose tissue lipolysis on monocyte dynamics and activation. For this purpose, we generated mice lacking the rate-limiting enzyme Atgl specifically in adipocytes and performed detailed analysis on multiple processes controlling monocyte pool size. We demonstrated that Atgl-deficiency leads to decreased Ly6C^{high} and Ly6C^{low} monocyte frequency and numbers in blood and selectively increased brown fat monocyte numbers, which was confirmed using CCR2 binding radiotracer and positron emission tomography. Importantly, hematopoiesis was not affected by the loss of adipose tissue lipolysis. During fasting and β 3-adrenergic stimulation, adipose tissue lipolysis is a key mediator controlling blood monocyte counts and their recruitment to brown adipose tissue. Monocyte depletion altered brown adipose tissue structure and modulated adipocytes and fibroblasts morphology.

Key words

Adipose Tissue Lipolysis, Atgl, Monocyte, Brown Adipose Tissue, CCR2

Introduction

Monocytes are part of the mononuclear phagocytic system together with macrophages and dendritic cells (DCs) (Guilliams et al., 2014). These cells are generated in the bone marrow compartment where they originate from hematopoietic stem cells (HSC) through a tightly regulated process named myelopoiesis (Hettinger et al., 2013). The growth factor colony-stimulating factor 1 (CSF1), through binding to its receptor CSF1R (CD115) expressed on monocytes, maintains monocyte survival (Yona et al., 2013). Bone marrow derived monocytes egress to the blood circulation and this process is under the control of chemokine-chemokine receptor interaction. For instance, stromal cell-derived CXCL12 (SDF-1) binds to monocyte CXCR4 and this axis is responsible for monocytes retention inside the bone marrow compartment (Chong et al., 2016). On the opposite, the CCL2/CCR2 axis controls monocyte mobilization from bone marrow to blood vessels and their peripheral tissue recruitment from the blood circulation (Serbina and Pamer, 2006; Tsou et al., 2007). Chronic stress, through mobilization and activation of bone marrow stem cells, leads to increased number of peripheral blood lymphocytes and monocytes (Heidt et al., 2014). This process is driven by increased β 3-adrenergic tonus, a subsequent norepinephrine (NE) production and a modulation of CXCL12 gradient in the bone marrow (Heidt et al., 2014). Additionally, modulation of environmental cues including housing temperature, nutrients and light/dark cycle also influence peripheral blood monocyte counts (Jordan et al., 2019; McAlpine et al., 2019; Sarrazy et al., 2016; Williams et al., 2017). Seminal work demonstrated that bone marrow and blood monocytes follow circadian oscillations orchestrated by the sympathetic nervous system tone (Chong et al., 2016; Nguyen et al., 2013).

Two major monocyte subsets have been described according to the expression of the cell surface marker Ly6C. The Ly6C^{high} monocyte population, also called “classical monocytes”, is recruited to peripheral tissues and can give rise to macrophages during infection, acute or chronic inflammation, or cancer (Jakubzick et al., 2017). Ly6C^{low} “non-classical” monocytes patrol the blood vasculature cleaning debris and healing injured endothelium (Carlin et al., 2013). During infection and excessive or chronic inflammation monocytes are recruited to peripheral tissues where they differentiate into macrophages and contribute to the control and the resolution of tissue inflammation (Jakubzick et al., 2017; Shi and Pamer, 2011). Metabolism, and glycolysis in particular, play a key role in monocyte function (Jordan et al., 2019). Glucose (Freemerman et al., 2019; Morioka et al., 2018), amino acids (Liu et al., 2017; Yurdagul et al., 2020) and fatty acids (FAs) (Huang et al., 2014) modulate macrophage and dendritic cells functions (Mogilenko et al., 2019). Whether and how metabolism influences monocyte dynamics is currently incompletely understood.

Adipose tissue has long been considered as a simple triglyceride storage organ. Different types of adipose tissue have been documented including white adipose tissue (WAT), beige adipose tissue and brown adipose tissue (BAT). In mice, WAT is typically localized in the peritoneal cavity with its most studied depot, the perigonadal (epididymal) adipose tissue (EAT). BAT is located in the intrascapular region and its main function is thermogenesis through the mitochondrial uncoupling protein 1 (Ucp1) protein. Beige adipose tissue is located subcutaneously (SCAT) and comprises among others the brachial and inguinal depots. Adipose tissue depot size is regulated through the generation of new adipocytes and increase or decrease of lipid droplet content. *Triglycerides* (TGs) are stored in lipid droplets inside adipocytes and their mobilization relies on a process named lipolysis. The first step of lipolysis is under the control of the rate limiting enzyme ATGL (Jenkins et al., 2004; Villena et al., 2004; Zimmermann et al., 2004) leading to TG degradation into diacylglycerol (DAG) and a FA. Then, HSL (hormone-sensitive lipase) leads to monoacylglycerol (MAG) and a FA. The last step is triggered by MGL leading to glycerol and FA release. Mobilization of stored TG during adaptive thermogenesis is first conditioned by FA uptake. In adipocytes and endothelial cells, FA uptake is facilitated by the expression of the scavenger receptor CD36 on their cell surface (Son et al., 2018; Zhou et al., 2012). In mice, CD36 deficiency leads to a reduced accumulation of TGs in adipose tissues (Coburn et al., 2000). More recently, in 2018, Son *et al.*, confirmed those findings in endothelial cell-specific CD36 deficient mice, indicating that CD36 in endothelial cells optimizes FA uptake (Son et al., 2018).

Interestingly, circulating FA levels have been shown to follow a circadian regulation *en phase* with blood monocyte oscillations. Because monocytes have been shown to detect and use FAs to fulfill their metabolic demands (Trompette et al., 2018), we hypothesized that FA modulations could control monocytes circadian oscillations. We established a mouse model with altered adipose tissue lipolysis and evaluated monocyte numbers in bone marrow, blood, spleen and peripheral tissues. Our data show that adipose tissue lipolysis is a critical regulator of mature monocyte counts in peripheral blood and their recruitment to BAT.

Results

Adipose tissue lipolysis controls blood monocyte counts.

To investigate the involvement of adipose tissue lipolysis in monocyte pool dynamics, we generated a mouse model selectively lacking Atgl in mature adipocytes (Adipo Δ^{Δ}). Pnpla2^{fl/fl} mice were crossed with AdipoQ^{cre/ErT2} mice in order to ablate Atgl protein production specifically in mature adipocytes (Figure S1A). To validate the efficiency of our system, those mice were crossed with tdTomato^{fl/fl} reporter mice, in which the tdTomato production reflects cre recombinase activity (Figure S1A). Additionally, we crossed these mice with CX3CR1^{gfp} mice

to facilitate analysis of monocyte distribution in tissues by flow cytometry and microscopy (Figure S1A). Western blotting analysis of BAT protein extract showed an almost complete absence of Atgl protein in Adipo^{ΔΔ} mice, in comparison to littermate control animals, confirming the validity and efficiency of our model (Figure S1B). The low remaining Atgl protein level in Adipo^{ΔΔ} mice could originate from adipose tissue immune cells such as macrophages or neutrophils, previously shown to express this protein but in which the adiponectin promoter is not active. Indeed, fluorescence microscopy analysis of WAT, ScAT and BAT tissue sections revealed that almost all adipocytes expressed the TdTomato protein 3 weeks following tamoxifen treatment, further validating the efficiency of our experimental system (Figure S1C). Serum non-esterified fatty acids (NEFA) and glycerol measurements revealed, as expected, a significant drop in both concentrations in Adipo^{ΔΔ} mice compared to control animals at ZT3 (Figure 1A). Kinetic study demonstrated that NEFA and glycerol serum concentrations are higher during the diurnal period (peaking at ZT3) and lower during the night (Figure 1A). Importantly, in Adipo^{ΔΔ} mice, NEFA and glycerol concentrations remained low and lost circadian oscillation, suggesting that adipose tissue lipolysis is a key provider of these substrates (Figure 1A). Serum targeted lipidomic analysis further revealed significantly decreased concentrations of palmitic acid (C16:0), that was the most abundant NEFA species (approximately 33% of total NEFAs). Myristic (C14:0), and α -linolenic (C18:3) acids were also decreased (Figure 1B). (Figure 1B). Interestingly, other types of fatty acids were not modulated in Adipo^{ΔΔ} mice when compared to littermate control animals (Table S1). Inhibition of adipose tissue lipolysis didn't alter mouse body weight (Figure S1D). Serum glucose levels followed a circadian oscillation that was independent of adipose tissue lipolysis (Figure S1E).

Using flow cytometry analysis, we detected a marked decrease in the frequency and total numbers of blood circulating monocytes (CD45⁺CD115⁺CD11b⁺ cells (Figure S1F)) in Adipo^{ΔΔ} animals during the diurnal period that was not observed during the dark phase (Figure 1C). This observation was valid for both Ly6C^{hi} and Ly6C^{lo} monocyte subsets (Figure 1D and Figure S1G). Of interest, we observed a higher proportion of Ly6C^{hi} monocytes during the light phase (Figure 1D). However, neutrophils (CD45⁺Gr1⁺CD11b⁺CD115^{low}), B cells (CD45⁺CD19⁺) and T cell (CD45⁺TCR β ⁺) frequency and total numbers were similar in Atgl-sufficient and deficient mice (Figure 1E and Figure S1H and I). An alternative gating strategy was used to cope with a potential CD115 modulation in our mice that could bias monocyte identification and counts. Thus, we took advantage of their expression of CX3CR1-GFP knock-in allele and analyzed CD115 expression on CX3CR1-GFP⁺ cells surface (Figure 1F). Our data revealed that Atgl deletion in adipocytes didn't impact on monocyte CD115 expression, suggesting that this was not accounting for the aforementioned phenotype (Figure 1F). Interestingly, we found significantly higher CCR2 expression on blood monocytes extracted from Adipo^{ΔΔ} mice during

the diurnal phase when compared to monocytes obtained from control animals (Figure 1G). Nevertheless, CCL2 and CXCL12 serum levels were not modulated by the loss of adipose tissue lipolysis, excluding systemic inflammation as a cause for blood monocyte drop (Figure 1H). This suggests that adipose tissue lipolysis does not contribute to serum CCL2 production but rather has a direct effect on monocytes via CCR2 modulation, the main driver of bone marrow export and tissue recruitment.

Bone marrow hematopoiesis is not affected by loss of adipose tissue lipolysis.

We thus hypothesized that reduced blood monocyte numbers in *Atgl*-deficient mice could be a consequence of altered hematopoiesis or mature monocyte export from bone marrow to blood. Flow cytometry analysis revealed no substantial difference in monocyte precursor cells including LSK (*Lin*⁻*Sca1*⁺*Ckit*⁺) (Figure 2A and Figure S2A). Bone marrow monocyte counts, tested both diurnally and nocturnally, were also similar in control and adipocyte *Atgl*-deficient mice (Figure 2B). Of interest, additional bone marrow immune cell populations, including neutrophils, B cells, and NK cells, were not modulated in adipocyte-*Atgl* deficient mice further demonstrating that adipose tissue lipolysis is not a major actor during bone marrow hematopoiesis (Figure 2C and not shown). Thus, blood monocyte numbers reduction is unlikely to result from altered bone marrow hematopoiesis or stromal niche. Since the pool of bone marrow monocytes results from the dynamic interaction between monocyte proliferation, their death and their export to peripheral blood we analyzed these parameters. Monocyte proliferation was comparable in *Adipo*^{ΔΔ} and littermate control mice (Figure 2D). Annexin V staining on bone marrow monocytes suggested a similar level of apoptosis in both genotypes, ruling out a role for cell death (Figure 2E). To analyze monocyte export from bone marrow to blood, we i.v. injected mice with Brdu and analyzed the percentage of Brdu positive monocytes in blood 16h post-injection. We found that around 70% of blood monocytes stained positive for Brdu (Figure 2F) in both control and *Adipo*^{ΔΔ} mice. Therefore, we concluded that monocyte export rate is not modified by adipose tissue lipolysis and could not account for the diminished number of blood monocytes. Additionally, we analyzed the mRNA expression and protein levels of CCL2 and CXCL12, two main chemokines implicated in the control of bone marrow monocyte pool size (Figure 2G and Figure S2B). We failed to detect a significant difference in their expression in bone marrow cells nor in their levels in bone marrow fluid (Figure 2G and Figure S2B). Taken together, our data ruled out the hypothesis that adipose tissue lipolysis affects monocyte generation, proliferation, death, export and retention in bone marrow and those mechanisms cannot explain the reduced blood monocyte counts in *Adipo*^{ΔΔ} mice.

Modulated monocyte counts in peripheral tissues in Adipo^{ΔΔ} animals.

Under inflammatory conditions the spleen participates to monocyte generation. This process known as extramedullary hematopoiesis has been described during social stress and atherosclerosis development (McKim et al., 2018; Robbins et al., 2012). Flow cytometry analysis of spleen monocytes revealed a significant decrease in their numbers in Adipo^{ΔΔ} mice compared to littermate controls (Figure 3A). As opposed to blood, when we analyzed monocyte CCR2 expression, we observed a similar expression of this chemokine receptor in adipose tissue Atgl-deficient and sufficient mice (Figure 3B). Spleen neutrophil counts remained similar between the two genotypes (Figure S3A). To assess the contribution of spleen hematopoiesis to monocyte generation in our mice, we analyzed monocyte proliferation and death in spleen by flow cytometry. We observed that proliferation and cell death rates were similar in Adipo^{ΔΔ} mice compared to control animals (Figure 3C and 3D). Nevertheless, single cell preparation for flow cytometry limits the opportunity to evaluate all the pattern of splenic macrophages. Therefore, spleen monocyte drop in Adipo^{ΔΔ} deficient mice could reflect a rapid commitment into the macrophage lineage. Alternatively, the lower number of blood monocytes could also imply a lower rate of recruitment to the spleen as well. We analyzed monocyte counts in peripheral tissues including BAT, EAT and lung. We applied a recently established gating strategy to separately analyze macrophages, monocytes and dendritic cells (Figure S3B) (Gautier et al., 2012; Jakubzick et al., 2013). Previous reports demonstrated the presence, at a low frequency, of monocytes in tissues (Jakubzick et al., 2013). In our study, we identified monocytes as CD45⁺CD64⁺MerTK⁻CD11b⁺ cells (Figure S3B). Increased monocyte counts were observed in the BAT of Atgl-deficient mice (Figure 3E). Moreover, BAT monocytes in Adipo^{ΔΔ} mice expressed higher levels of MHC II, a marker that is up-regulated in monocytes that recently egressed the blood vasculature and entered an organ (Figure 3F) (Jakubzick et al., 2013). The expression of CD206 and CD11c, canonical markers reflecting alternative and classical activation respectively, was similar in both sets of mice (Figure S3C). Importantly, in EAT and lung, we didn't detect increased monocyte counts or alteration in their activation state as reflected by the pattern of expression of MHC II, CD206 and CD11c (Figure S3D and S3E). Increased monocyte counts were associated with elevated number of brown adipose tissue macrophages (CD45⁺MerTK⁺CD64⁺ cells) in Adipo^{ΔΔ} mice (Figure 3G). Furthermore, analysis of the expression of canonical alternative (CD206 and CD301) or classical (CD11c) activation markers on BAT macrophages pointed out a reduced expression of CD206 and CD301 in Atgl-deficient mice, whereas CD11c expression remained similar (Figure 3H). This could reflect either a specific state of activation of BAT resident macrophages or, alternatively, a

heterogeneous population of cells. The developmental origin of BAT macrophages is currently still unknown (for review (Ivanov et al., 2018)). Two complementary mechanisms could account for augmented number of BAT macrophages observed in *Atgl*-deficient mice: 1) increased local proliferation of tissue resident macrophages or 2) accelerated monocyte recruitment from the blood vasculature. To investigate macrophage proliferation, we performed Ki67 staining and found a similar level of proliferation of BAT macrophages (data not shown). Next, we sought whether the increased number of tissue resident macrophages was restricted to BAT or was commonly observed in other adipose depots. Flow cytometry analysis demonstrated that macrophages numbers in EAT were not modulated in the absence of adipose tissue lipolysis (Figure S3F). Those macrophages had also a similar phenotype in both sets of mice as illustrated by their expression of CD206, CD301 and CD11c (Figure S3F). Finally, we analyzed whether tissues that do not produce FAs through *Atgl*-mediated lipolysis might also have an increased macrophage and monocyte counts, reflecting a systemic inflammatory state. Pulmonary macrophage numbers were significantly decreased in *Atgl*-deficient mice (Figure S3G). The expression of activation markers was also similar on macrophages extracted from control and *Adipo*^{ΔΔ} animals (Figure S3G). Dendritic cells (CD45⁺CD64⁺MerTK⁻MHCII⁺CD11c⁺) were also observed in BAT (Figure S3B). The majority of these cells expressed the integrin CD11b (data not shown). Our data revealed that DCs numbers remained similar in control and *Adipo*^{ΔΔ} mice (Figure S3H). In agreement with previous reports using constitutive *Atgl* deletion (Schreiber et al., 2017; Shin et al., 2017), we found a strikingly increased BAT weight (x2.5 fold) in *Adipo*^{ΔΔ} mice in comparison to co-housed littermate controls after 3 weeks of Cre induction (Figure S3I). ScAT weight was also increased in *Atgl*-deficient mice in comparison to littermate controls (Figure S3I). Nevertheless, EAT had a similar size and weight in both genotypes analyzed (Figure S3I). Tissue histology analysis revealed a widespread change in brown adipocyte morphology with appearance of larger lipid droplet, a process named “whitening” of brown adipose depot (Figure 3I) (Kotzbeck et al., 2018). ScAT morphology followed the same pattern as BAT (Figure S3J). We also observed the appearance of CD11b⁺ cells in the BAT of *Atgl*-deficient mice, in patterns similar to “crown-like structures” reported in EAT during obesity (Figure 3J) (Figure 3J)(Kotzbeck et al., 2018). These cells were barely detected in control mice (Figure 3J). To apprehend the mechanisms that could account for the increased brown adipose tissue monocytes, we performed real-time PCR analysis. We found an increased expression of the pro-inflammatory gene *tnfa* and the chemokine *cc/2* (Figure 3K). The latest is responsible for monocyte recruitment to tissues and could explain the increased number of BAT monocytes and macrophages.

Adipose tissue lipolysis controls blood monocyte numbers during fasting.

Pioneering studies uncovered a role for physiological stress in the control of blood monocyte numbers (Nahrendorf and Swirski, 2015). Stress exposure, cold environmental temperature and β 3-adrenergic signaling have been implicated in the maintenance of monocyte homeostasis and their mobilization (Heidt et al., 2014; Scheiermann et al., 2012; Williams et al., 2017). A recent report demonstrated that caloric restriction and experimental fasting of mice induced decreased blood monocyte counts (Jordan et al., 2019). In this scenario, monocyte numbers rely on liver dependent CCL2 production that drives their mobilization from the bone marrow compartment. We investigated whether fasting, a condition known to induce adipose tissue lipolysis and stress, affects monocyte counts through Atgl-dependent mechanism. Fasting mice overnight significantly increased both serum FAs and glycerol concentrations in control mice (Figure S4A). This increase was strongly blunted in Atgl-deficient mice (Figure S4A). Our data revealed that food removal further diminished the number of circulating white blood cells in Atgl-adipocyte deficient mice in comparison to littermate controls. Importantly, blood monocytes were virtually absent in mice with impaired adipose tissue lipolysis (Figure S4B). Indeed, both their relative frequency and total numbers were dramatically reduced in adipocyte Atgl-deficient mice (Figure S4B). While both monocyte subsets were affected by fasting (Figure S4C), the population of inflammatory monocytes was preferentially decreased by the lack of adipose tissue lipolysis (Figure S4C). Neutrophils and B cells were also decreased in this scenario, while T cell counts remained similar (data not shown). Furthermore, we evaluated whether blood monocyte decrease was due to increased cell adherence or downregulation of M-CSF receptor (CD115) leading to their death. CD115 expression was also not affected by the loss of adipose tissue lipolysis (Figure S4D). Flow cytometry analysis revealed that CXCR4, CD44 and CD11b expression on monocytes remained comparable between Atgl-deficient and sufficient mice (Figure S4D and not shown). Adrenergic receptor stimulation leads to a rapid neutrophil recruitment into WAT. We tested whether adipose tissue lipolysis, downstream of β 3-adrenergic receptor stimulation is involved in this process. We intravenously injected CL316,243, a selective β 3-adrenergic receptor agonist, in control and Adipo ^{$\Delta\Delta$} animals. We detected an increased number of monocytes in BAT of control mice injected with CL316,243 in comparison to vehicle-treated animals (Figure S4E). Neutrophil counts were also significantly increased in BAT of CL316,243-treated mice (Figure S4F). Importantly, both monocyte and neutrophil recruitment to BAT was blunted in Adipo ^{$\Delta\Delta$} animals (Figure S4D and E). Vehicle treated Adipo ^{$\Delta\Delta$} mice had higher number of BAT monocytes and neutrophils in comparison to littermate controls. Interestingly, CL316,243 administration failed to further augment their relative numbers (Figure S4E and F). Taken together, these data suggest that adipose tissue lipolysis is a critical mediator of monocyte and neutrophil recruitment to adipose tissue depots downstream of adrenergic stimulation.

Adipocyte-specific Atgl deletion leads to a BAT-selective monocyte recruitment.

We next asked whether increased monocyte counts are specific to BAT or could also be observed in additional peripheral tissues. To monitor monocyte distribution across tissues we took advantage of a CCR2 targeting radiotracer ^{64}Cu -DOTA-ECL1i for non-invasive positron emission tomography (PET)/computed tomography (CT) imaging of CCR2⁺ cells distribution across multiple tissues without the biases of tissue digestion. This will provide the opportunity to simultaneously investigate numerous organs, thus limiting the risk to miss an expected tracer accumulation in a specific location. (Liu et al., 2016; Williams et al., 2017). Representative PET/CT images revealed significantly increased signal, indicative of CCR2 accumulation, in the BAT of Adipo^{ΔΔ} mice at 16 days, but not at 2 days, post-tamoxifen administration (Cre⁺TAM⁺) (Figure 4A and B). These data confirm the progressive monocyte infiltration in BAT after Atgl-deletion. We observed that both Adipo^{Cre+} animals treated with vehicle (oil) (Cre⁺TAM⁻) and Adipo^{Cre-} mice treated with tamoxifen (Cre⁻TAM⁺) had a comparable level of BAT CCR2 signal (Figure 4A and B). To analyze monocyte density, the biodistribution of the tracer was measured across tissues and we observed that CCR2 signal was selectively increased in the BAT of Adipo^{ΔΔ} mice (Figure 4C). Despite a detectable signal in many organs, we didn't find a differential CCR2 distribution in any other tissue (Figure 4C). Blood CCR2 signal was also reduced, even though the difference was not significant, in Adipo^{ΔΔ} animals (Figure 4C). Ex vivo tissue collections showed enlarged mass of BAT in Adipo^{ΔΔ} animals compared to the other two groups. Moreover, autoradiography showed BAT specific tracer uptake, supporting PET data (Figure S5A and B) Taken together, this set of a data suggests that adipocyte-specific Atgl deletion leads to a BAT-selective monocyte recruitment.

Monocyte depletion prevents BAT expansion but increases CLS appearance and the presence of multilocular zones.

BAT macrophage ontogeny remains still ill-defined (Ivanov et al., 2018). Recently generated single-cell RNA seq analysis of BAT myeloid cells (Tabula Muris, 2020) revealed the presence of diverse myeloid cells (Figure S6A). Those cells were identified by their concomitant expression of *Lyz2*, *CD68*, *Mafb* and *CD64* (*Fcgr1*) (Figure S6B). A large population of those cells possesses CCR2 mRNA expression that suggests a monocyte origin (Figure S6C). To address whether monocyte BAT recruitment is involved in tissue remodeling and growth, we depleted blood monocytes by the administration of anti-CCR2 antibody (MC-

21) (Figure S6D). This procedure led to complete depletion of blood monocytes as previously described (Mack et al., 2001)(Figure S6E). Spleen monocyte counts were also completely blunted in anti-CCR2 Ab treated Atgl-sufficient and deficient mice (Figure S6E). CCR2⁺ cells depletion had no impact on plasma FFA and glycerol levels (Figure S6F). Flow cytometry analysis demonstrated a strong monocyte depletion in the BAT of MC-21-treated Adipo^{ΔΔ} animals in comparison to vehicle administered controls (Figure 5A). BAT macrophage numbers were slightly, but not significantly decreased in MC-21-treated Adipo^{ΔΔ} mice, suggesting that short-term monocyte depletion does not affect BAT macrophage pool (Figure 5B). Importantly, BAT weight was significantly decreased, by approximately 40%, in Adipo^{ΔΔ} mice treated with anti-CCR2 Ab in comparison to vehicle administered Adipo^{ΔΔ} animals (Figure 5C). We observed that in control mice, in which BAT is not expanding, CCR2-depletion had no effect on tissue weight (Figure 5C). ScAT and EAT weights remained similar among MC-21-treated and vehicle-treated animals (Figure S6G). Tissue histology analysis revealed that EAT adipocyte size was similar in control and Adipo^{ΔΔ} mice (Figure S6G). Furthermore, CCR2-depletion had no obvious effect on EAT adipocyte diameter (Figure S6G). BAT histology analysis revealed that MC-21 administration was associated with the appearance of numerous CLS (Figure 5D and E). BAT adipocyte diameter remained unchanged between Adipo^{ΔΔ} mice treated or not with anti-CCR2 Ab (Figure S6H). These data suggest that adipocyte hypertrophy was unlikely to account for the tissue weight difference. However, we detected numerous multilocular zones in MC21-treated animals in comparison to vehicle-treated Adipo^{ΔΔ} mice (Figure 5D). This suggests that monocyte recruitment to BAT modulates tissue morphology and favors BAT “whitening”. Whether, this mechanism is solely responsible for BAT weight decrease in MC-21 treated mice remains to be established. We didn’t detect increased collagen deposition and signs of fibrosis (data not shown). Nevertheless, we decided to investigate whether monocytes can directly interact with fibroblast in order to change tissue morphology.

Monocytes favor fibroblast relaxation in a cell-contact independent manner.

Previous data demonstrated that myeloid cells, and in particular DCs, can modulate tissue stiffness by engaging podoplanin signaling on fibroblasts (Acton et al., 2014; Astarita et al., 2015). Whether monocytes in BAT can impact on the tissue’s ability to expand was not established. To test whether monocytes affect fibroblast morphology, we co-cultured mouse embryonic fibroblasts (MEFs) with primary blood monocytes. Monocyte addition modulated MEFs morphology and increased their cellular area (Figure 6A). Importantly, we observed that MEFs in presence of blood monocytes have increased number of cell protrusions (Figure 6A). This indicated that monocyte interaction with fibroblasts induced their relaxation and

diminished their contraction. We next investigated whether this interaction required a cell-to-cell contact, or alternatively was mediated by soluble mediators. In a transwell experiment, allowing for physical separation between fibroblasts and monocytes, we observed that fibroblast spreading occurred even in the absence of direct contact with monocytes (Figure 6A). When we included a podoplanin blocking antibody to our co-culture system, we observed that fibroblast extension was prevented, demonstrating the significance of this axis in our system (Figure 6B). This suggests that monocytes are releasing a soluble fragment able to engage podoplanin signaling.

Discussion

In the present study we identified adipose tissue lipolysis as a crucial new player controlling blood monocyte pool size and their recruitment to the BAT where they participate to tissue remodeling. Pioneering work demonstrated that glucose metabolism favors monocyte generation and mobilization from the bone marrow compartment to the peripheral blood (Nagareddy et al., 2013; Sarrazy et al., 2016). Plasma FFAs follow a circadian rhythm and their higher concentration is observed during the diurnal period. Nevertheless, the causal relationship between plasma FFAs and monocyte counts was not yet investigated. We found that adipose tissue lipolysis generates FFAs, preferentially long chained species, and this process favors increased peripheral blood monocyte numbers. Surprisingly, plasma FFAs did not alter bone marrow hematopoiesis and monocyte generation from LSK cells. Mature monocyte proliferation, survival and their export from the bone marrow to blood circulatory system were also independent from adipose tissue FFAs release. This observation is in contrast with previous report demonstrating that mouse lipodystrophy genetic models have altered hematopoiesis (Wilson et al., 2018). This mechanism also differs from the low-grade inflammation, a hallmark of chronic inflammatory diseases such as atherosclerosis, that modulates blood monocyte counts by influencing bone marrow hematopoiesis. In our system we demonstrated that serum pro-inflammatory cytokine levels are similar in control and Adipo^{ΔΔ} mice. It is tempting to speculate that BAT adipocytes Atgl loss triggers a very-low local inflammation which initiates blood monocyte tissue recruitment without effect on hematopoiesis and other organs functions.

Bones contain a large fraction of adipocytes which precise role during hematopoiesis is still under debate. Bone marrow adipocytes have been shown to produce Stem Cell Factor (SCF) which favors optimal hematopoiesis following irradiation (Zhou et al., 2017). Nevertheless, mice lacking mature adipocyte are characterized by lower bone marrow engraftment after irradiation, suggesting that bone marrow adipocytes could also be regulators of hematopoiesis (Naveiras et al., 2009). Bone marrow fat mass is preserved or even increased

during caloric restriction, condition well-established to trigger peripheral adipose tissue lipolysis (Cawthorn et al., 2014; Devlin et al., 2010). Bone marrow adipocytes fail to engage lipolysis upon β 3-adrenergic agonist administration (Scheller et al., 2019). Taken together, it seems unlikely that bone marrow adipocyte lipolysis directly contributes to hematopoiesis and regulation of bone marrow monocyte counts. Nutritional lipid overload leads to increased peripheral blood monocyte counts. A recent study demonstrated that food deprivation decreased the number of inflammatory blood monocytes (Jordan et al., 2019). We observed that a 12h starvation reduced the number of blood monocytes in comparison to fed mice. Interestingly, tissue monocytes were also decreased during starvation. Mechanistically, caloric restriction led to a liver sensing through Ppar α and limited the systemic production of CCL2, therefore leading to monocyte accumulation inside the bone marrow (Jordan et al., 2019). Here we found that adipose tissue lipolysis does not impact on CCL2 concentration in serum and bone marrow. Importantly, glucose levels remained similar in control and Adipo $\Delta\Delta$ mice. Monocytes play a key, beneficial or detrimental, role during many pathological conditions and controlling their numbers and functions could improve disease outcome. For example, during cardiovascular disease development monocyte counts are an independent risk factor (Coller, 2005; Olivares et al., 1993). Mice living at thermoneutrality (30°C) have lower peripheral blood monocytes and smaller plaque area (Williams et al., 2017). Interestingly, in this scenario monocytes accumulated inside the bone marrow. This was paralleled by lower CCR2 signal in brown fat, suggesting altered monocyte recruitment in this organ (Williams et al., 2017). Importantly, the recruitment of CCR2⁺ cells to subcutaneous adipose tissue, but not to BAT contributes to adaptive thermogenesis during cold exposure and this mechanism is inhibited at thermoneutrality when heat generation is not necessary for the organism (Qiu et al., 2014). Whether monocyte recruitment to BAT favors thermogenesis and heat dissipation remains to be established. In our study we revealed that monocyte depletion leads to increased numbers of BAT multilocular areas, might favor local thermogenesis. In a mouse model of burn injury, CCR2⁺ cells were also shown to contribute to adipose tissue thermogenesis (Abdullahi et al., 2019). On the other hand, during cold exposure monocyte blood counts are increased both in mice and humans and this is mirrored by augmented adipose tissue lipolysis (Williams et al., 2017).

Interestingly, during starvation, when adipose tissue lipolysis is accelerated, mice with adipocyte selective Atgl ablation had virtually absent blood monocyte counts. This observation suggests that dietary-derived short chain FAs such as butyrate, that were recently implicated in blood monocyte control in the context of viral infection, are not the primary factors driving monocyte pool size fluctuation during fasting (Trompette et al., 2018). Fasting and β 3-induced lipolysis both stimulate FA release but while the former one leads to anti-inflammatory adipose

tissue phenotype, β 3-stimulation induces rapid neutrophil recruitment to adipose tissue and a pro-inflammatory local signature (Silva et al., 2019). Interestingly, when control mice were injected with a selective β 3-adrenergic agonist, we detected an increase in brown adipose tissue neutrophil and monocyte counts, but this was not observed in Adipo^{ΔΔ} mice. These data suggest that adipose tissue lipolysis-derived factors contribute to monocyte and neutrophil BAT recruitment upon acute challenge. This might also be due to imbalance between β 3-dependent LSK and monocyte retention inside the bone marrow compartment and their accelerated recruitment or death into peripheral tissue, including among others white and brown adipose tissue depots. Monocyte recruitment to BAT allows optimal tissue expendability (Figure 5). Previous work established the involvement of myeloid cells to tissue contractility and ability to expand (Acton et al., 2014; Astarita et al., 2015). The engagement of the podoplanin-Clec2a axis modulates lymph node fibroblastic reticular cells stiffness and favors lymph node relaxation (Astarita et al., 2015). Interestingly, we found that fibroblasts expansion didn't require a direct cell contact with monocytes. This suggests that soluble factors secreted by monocytes are detected and impact on fibroblasts morphology. Whether this mechanism occurs in tissues, and in BAT in particular, remains to be defined. BAT expansion and whitening are characterized by CLS appearance and collagen accumulation (Kotzbeck et al., 2018). Adipocyte-specific constitutive Atgl-deficiency affected mouse thermogenesis and their BAT phenotype (Ahmadian et al., 2011). More recently, it was demonstrated that brown adipose tissue Atgl-mediated lipolysis is not essential in the aforementioned process (Schreiber et al., 2017; Shin et al., 2017). Whether, monocytes participate to BAT CLS formation, or alternatively, locally resident BAT macrophages are solely involved in this mechanism remains to be completely established. Our data show that CCR2⁺ cell depletion, likely monocytes, leads to increased frequency of CLS in the BAT of Adipo^{ΔΔ} mice (Figure 5). This might be due to accumulation of death or dying adipocytes in the absence of monocyte BAT recruitment.

Recently adipose tissue macrophages have been implicated in the generation of effective thermogenesis. Macrophage to adipocyte contact via VCAM1 and Integrin α 4 controls Ucp1 expression and the subsequent thermogenesis (Chung et al., 2017). In our study we observed that depletion of BAT monocytes was associated with increased number of multilocular zones in BAT (Figure 5), suggesting that monocytes can be a negative regulator of brown fat thermogenesis. Indeed, it remains to be defined whether tissue-resident macrophages or monocytes are involved in this precise mechanism.

Acknowledgements

We would like to thank Dr David Dombrowicz and Dr Jesse Williams for reading and editing the manuscript. We would like to thank Dr Pierre Leclère for helpful discussions. We would like to thank Dr Stéphan Clavel for kindly providing MEFs for our experiments. We would like to thank Jean-Paul Pais de Barros from the Lipidomic Analytic platform (LAP) of the University of Burgundy for technical support. We thank the C3M Animal facility for technical support and the GIS-IBISA multi-sites platform Microscopie Imagerie Côte d'Azur (MICA), and particularly the imaging site of C3M (INSERM U1065) supported by Conseil Régional, Conseil Départemental, and IBISA. We sincerely thank Maéva Gesson and Marie Irondelle for their help. SI is supported by Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale (INSERM) and Agence Nationale de la Recherche (ANR-17-CE14-0017-01 and ANR-19-ECVD-0005-01). LYC is supported by Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale (INSERM), Fondation de France (00066474) and the European Research Council (ERC) consolidator program (ERC2016COG724838). RRG is supported by Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS).

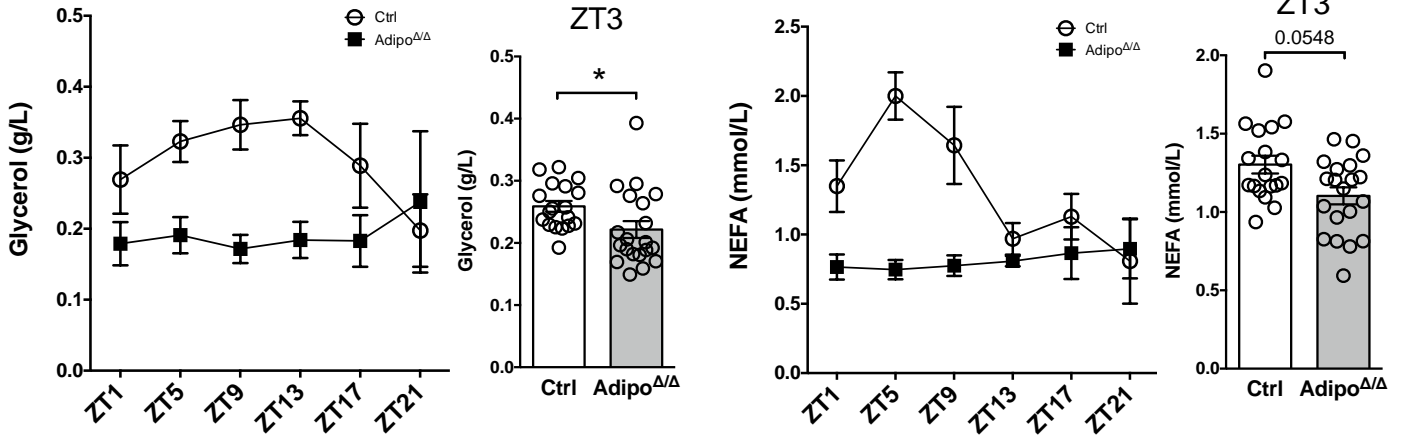
Author Contributions

MIS, AG, RRG, LYC and SI designed and performed experiments and wrote the manuscript. MIS, AG, JM, NK, NV, JG and SI analyzed experiments. AG, JM, NK, BD, MA, AC, JG and NV helped performing experiments. AJ and DM performed and analyzed the lipidomic analysis and edited the manuscript. HPL, DS and YL performed and analyzed CCR2 PET/CT, biodistribution and autoradiography experiments and edited the manuscript. MM provided MC-21 Ab and expertise on data analysis. LYC, RRG and SI conceived the study. SI obtained funding for the project.

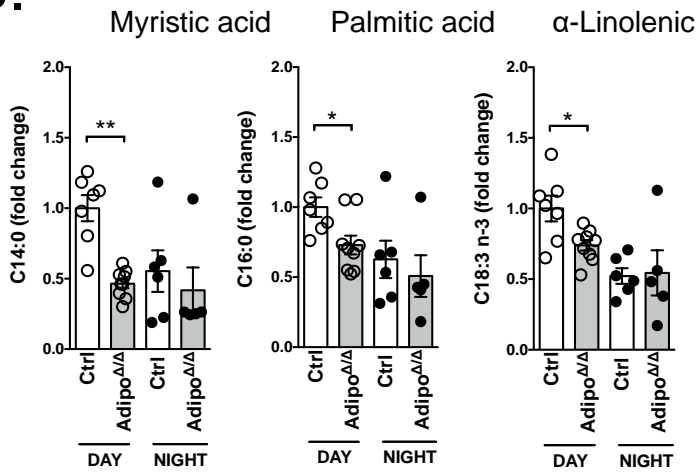
Declaration of Interests

The authors have no disclosures or conflicts of interest to declare.

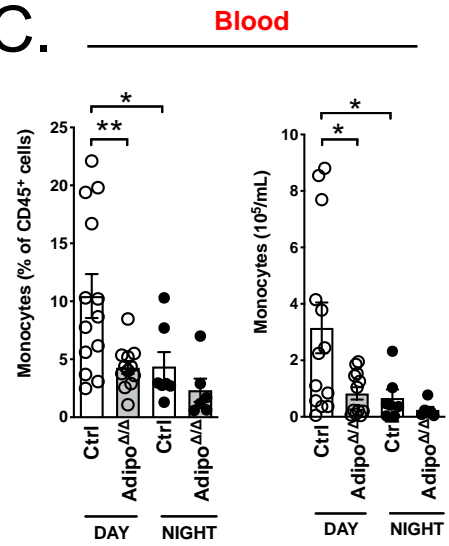
A.



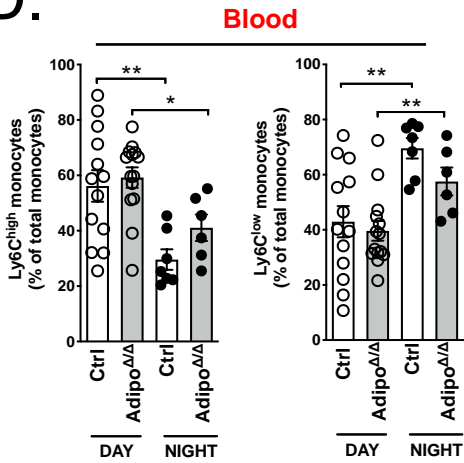
B.



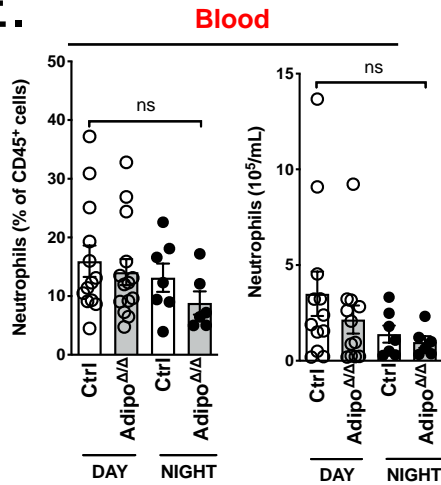
C.



D.



E.



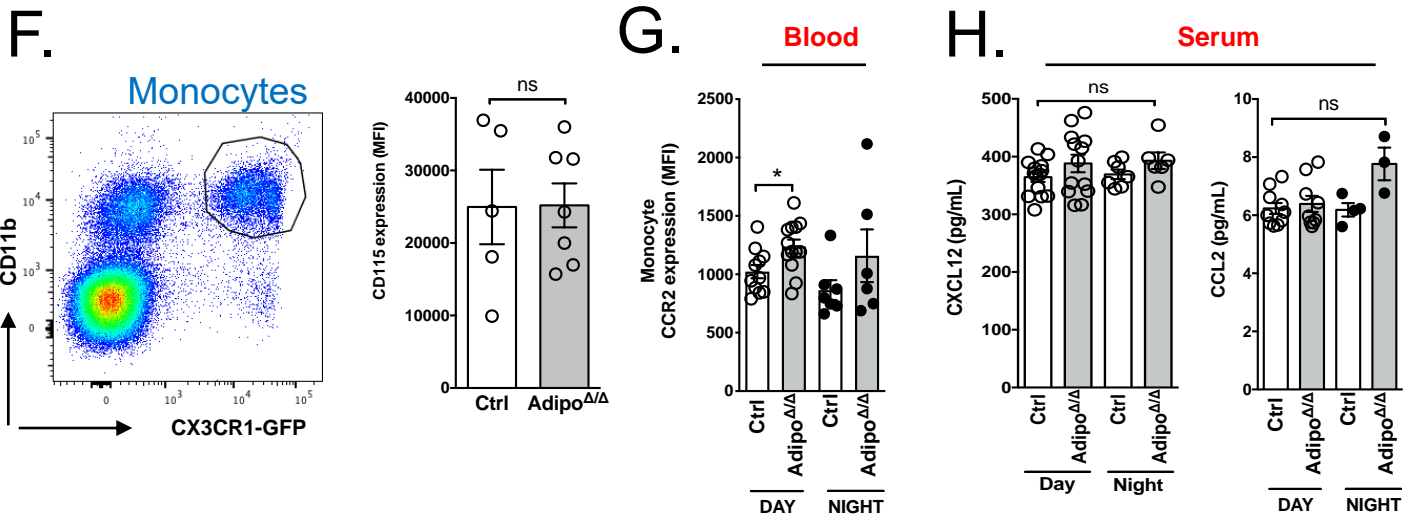


Figure 1. Adipose tissue lipolysis controls blood monocyte counts.

(A) Glycerol and non-esterified fatty acids (NEFA) circadian and ZT3 levels in Adipo^{ΔΔ} mice sera (n=20) compared to controls (n=18).

(B) Myristic acid (C14:0), Palmitic acid (C16:0) and α -linoleic acid (C18:3 n-3) levels in Adipo^{ΔΔ} mice sera (day n=9; night n=5) compared to controls (day n=7; night n=6).

(C) Blood monocyte frequency and number of Adipo^{ΔΔ} mice (day n=14; night n=6) compared to controls (day n=13; night n=7) by flow cytometry.

(D) Blood Ly6Chigh and Ly6Clow monocyte subset frequency and number of Adipo^{ΔΔ} mice (day n=14; night n=6) compared to controls (day n=13; night n=7) by flow cytometry.

(E) Blood neutrophil frequency and number of Adipo^{ΔΔ} mice (day n=14; night n=6) compared to controls (day n=13; night n=7) by flow cytometry.

(F) Blood monocytes population flow cytometry gating strategy using CX3CR1gfp reporter (left); CD115 mean fluorescence intensity (MFI) on blood monocytes of Adipo^{ΔΔ} mice (n=7) compared to controls (n=5) (right) by flow cytometry.

(G) CCR2 mean fluorescence intensity (MFI) on blood monocytes of Adipo^{ΔΔ} mice (day n=13; night n=6) compared to controls (day n=11; night n=7) by flow cytometry.

(H) CXCL12 (left) and CCL2 (right) levels in Adipo^{ΔΔ} mice sera (day n=13-9; night n=6-3) compared to controls (day n=14-10; night n=7-4) measured by ELISA assay.

All data are represented in means \pm SEM. Day = ZT3; Night = ZT15. ns p>0,05; * p<0,05; ** p<0,01.

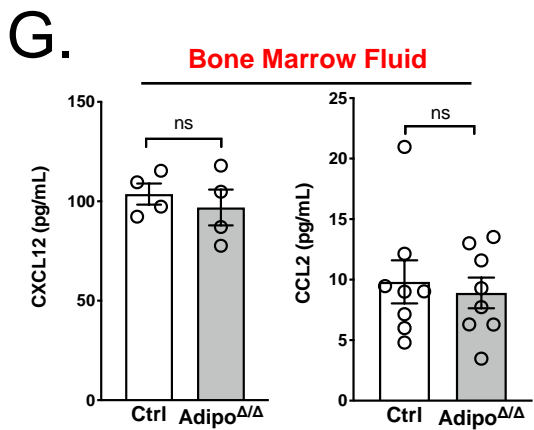
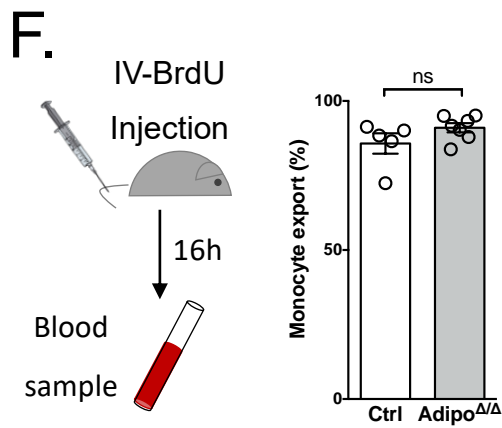
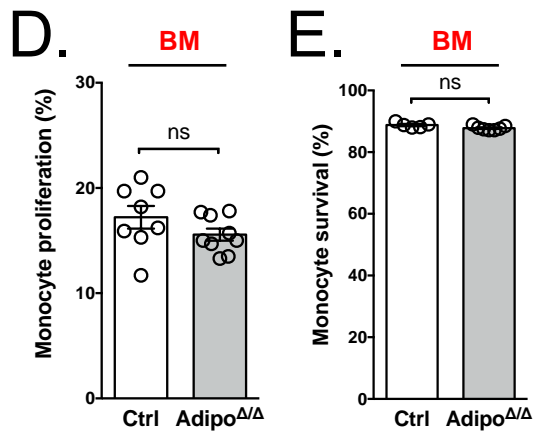
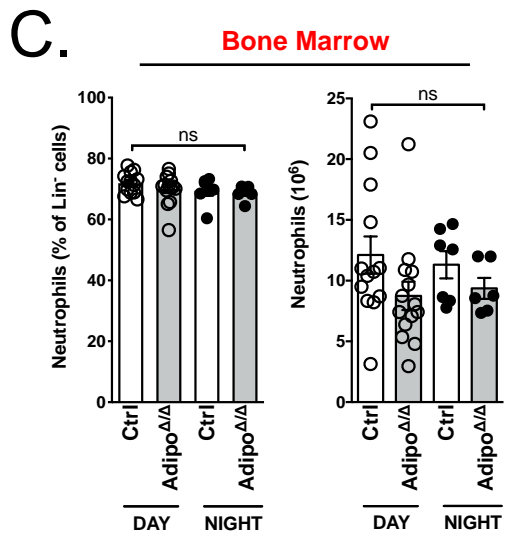
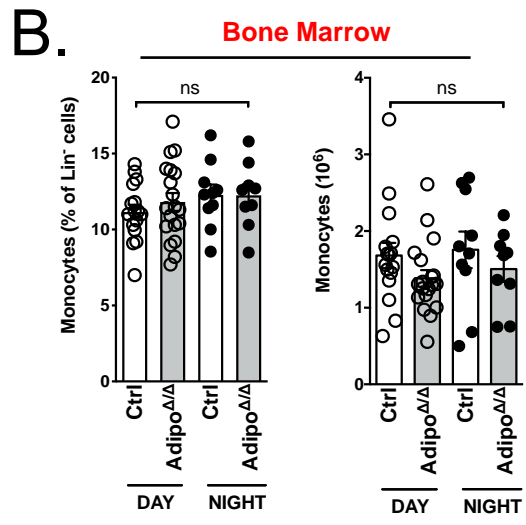
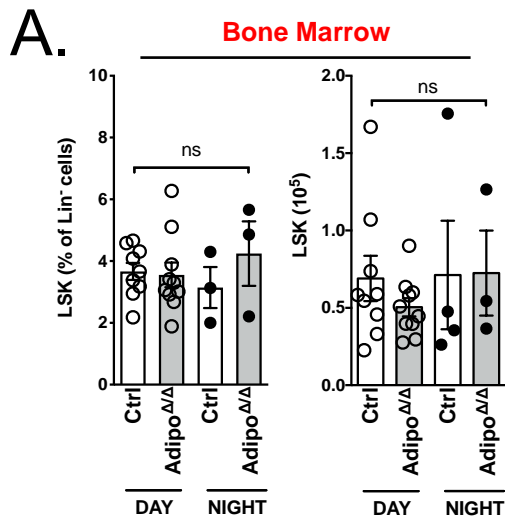


Figure 2. Bone marrow hematopoiesis is not affected by loss of adipose tissue lipolysis.

(A) Bone marrow LSK (Lin⁻, Sca1⁺, c-Kit⁺), (B) monocyte, and (C) neutrophil frequency and number of Adipo^{ΔΔ} mice (day n=19; night n=9) compared to controls (day n=16; night n=10) by flow cytometry.

(D) Bone marrow monocyte proliferation and (E) survival rate in Adipo^{ΔΔ} mice (n=9-7) compared to controls (n=8-5) at ZT3 by flow cytometry.

(F) Schematic representation of BrdU injection protocol to visualize monocyte export from bone marrow to blood (left) and its quantification by flow cytometry in Adipo^{ΔΔ} mice (n=7) compared to controls (n=5).

(G) CXCL12 ((left) and CCL2 (right) levels in Adipo^{ΔΔ} mice bone marrow fluid (day n=9-8; night n=3-6) compared to controls (day n=10-8; night n=4-7) measured by ELISA assay.

All data are represented in means ± SEM. Day = ZT3; Night = ZT15. ns p>0,05.

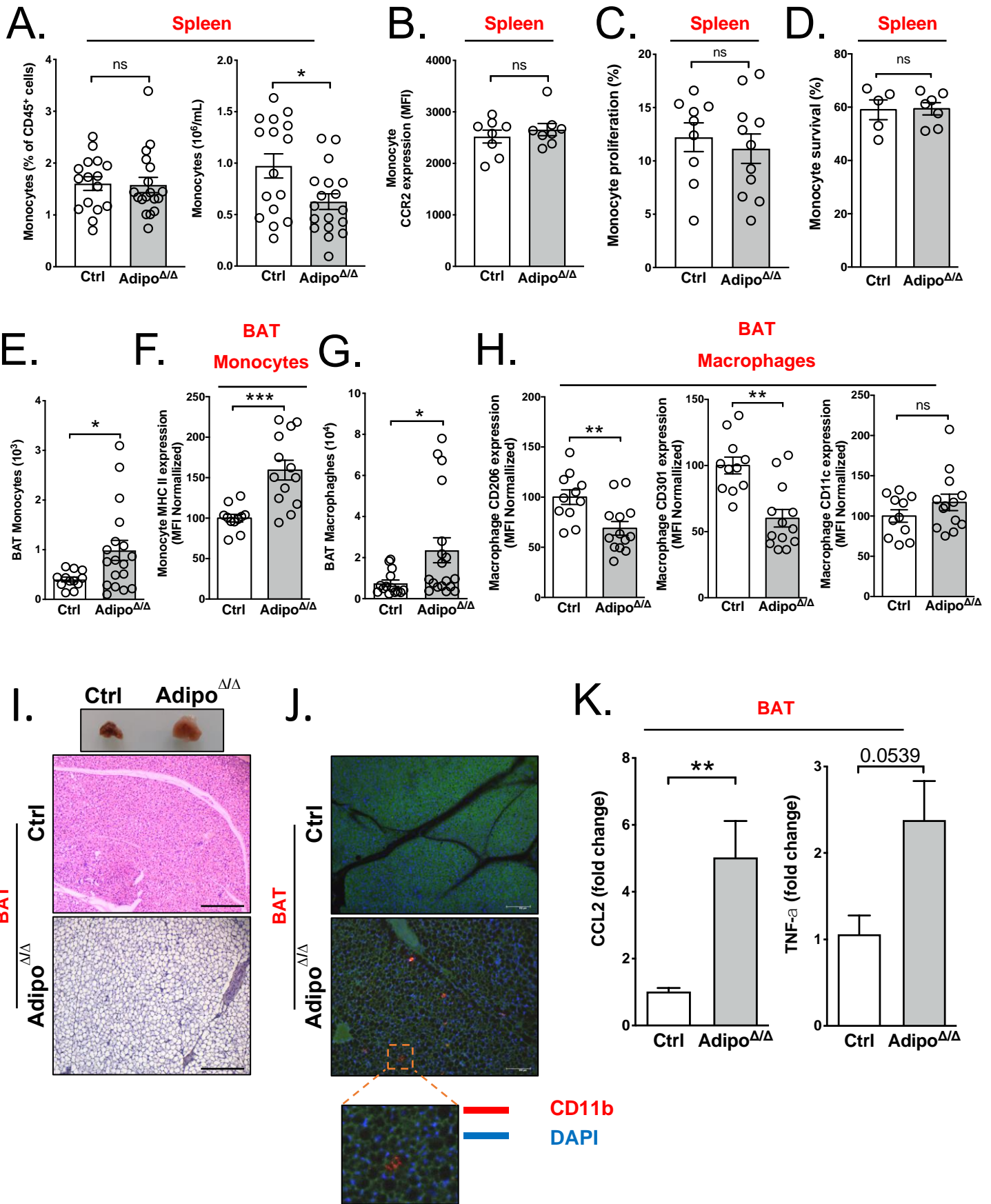


Figure 3. Modulated monocyte counts in peripheral tissues.

(A) Spleen monocyte frequency and number of Adipo^{ΔΔ} mice (day n=19) compared to controls (day n=16) by flow cytometry.

(B) CCR2 mean fluorescence intensity (MFI) on spleen monocytes of Adipo^{ΔΔ} mice (day n=8) compared to controls (day n=8) by flow cytometry.

(C) Spleen monocyte proliferation rate of Adipo^{ΔΔ} mice (day n=11) compared to controls (day n=9) by flow cytometry

(D) Spleen monocyte survival rate of Adipo^{ΔΔ} mice (n=7) compared to controls (n=5) at ZT3 by flow cytometry.

(E) Brown adipose tissue (BAT) monocyte number of Adipo^{ΔΔ} mice (n=18) compared to controls (n=12) at ZT3 by flow cytometry.

(F) MHCII mean fluorescence intensity (MFI) on BAT monocytes of Adipo^{ΔΔ} mice (day n=13) compared to controls (day n=11) at ZT3 by flow cytometry.

(G) Brown adipose tissue (BAT) macrophage number of Adipo^{ΔΔ} mice (n=18) compared to controls (n=14) at ZT3 by flow cytometry.

(H) CD206, CD301, and CD11c mean fluorescence intensity (MFI) on BAT macrophages of Adipo^{ΔΔ} mice (n=13) compared to controls (n=11) at ZT3 by flow cytometry.

(I) BAT morphology imaging of Adipo^{ΔΔ} mice compared to controls at ZT3.

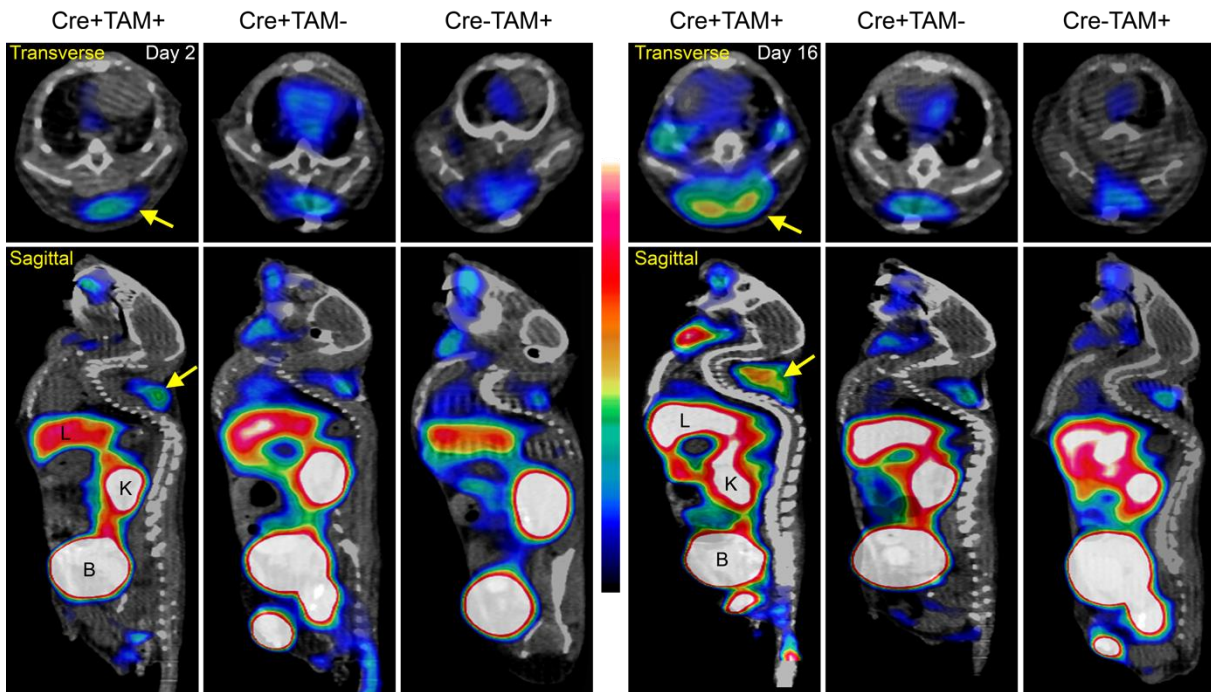
(J) Crown Like Structures (CLS) (in red) in Adipo^{ΔΔ} mice BAT compared to controls at ZT3.

(K) CCL2 (left) and TNF- α (right) mRNA expression in Adipo^{ΔΔ} mice BAT (n=9) compared to controls n=4) at ZT3 by qPCR analysis. Relative gene expression was analyzed using the 2- $\Delta\Delta$ Ct method. Results were normalized on β -actin gene expression.

All data are represented in means \pm SEM. Day = ZT3; Night = ZT15. ns p>0,05; * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001.

A.

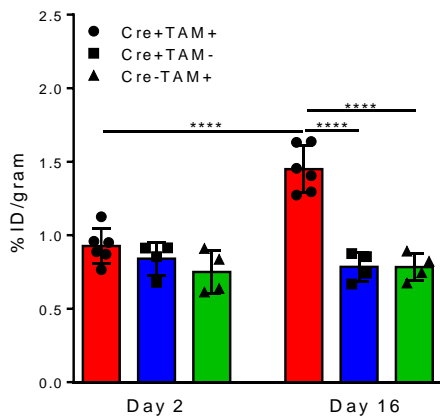
PET/CT images



L: liver, K: kidney, B: bladder

B.

BAT



C.

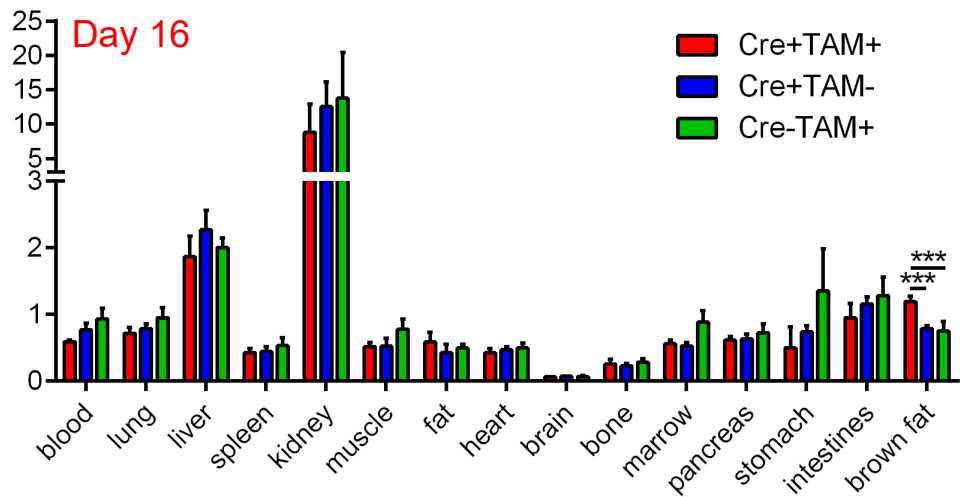


Figure 4. PET/CT imaging and biodistribution of ^{64}Cu -DOTA-ECL1i in control and Adipo $^{\Delta\Delta}$ mice.

(A) ^{64}Cu -DOTA-ECL1i PET/CT images analyzing tracer uptake in control and Adipo $^{\Delta\Delta}$ mice after 2 (left panel) and 16 days (right panel) post-tamoxifen administration (n=4-6/group). L: liver; B: bladder; K: kidney.

(B) Quantification of tracer uptake in the BAT of control and Adipo $^{\Delta\Delta}$ animals after 2 and 16 days post-tamoxifen administration.

(C) Biodistribution of ^{64}Cu -DOTA-ECL1i in control and Adipo $^{\Delta\Delta}$ animals 16 days post-tamoxifen administration (n=4/group).

All data are represented in means \pm SEM. ns $p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

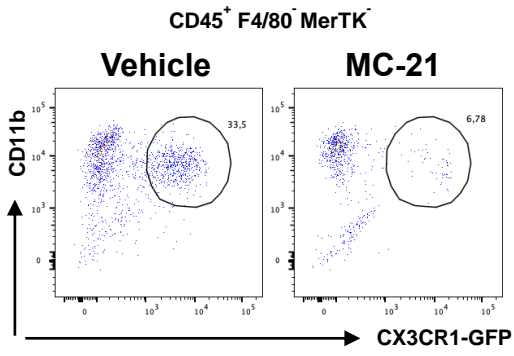
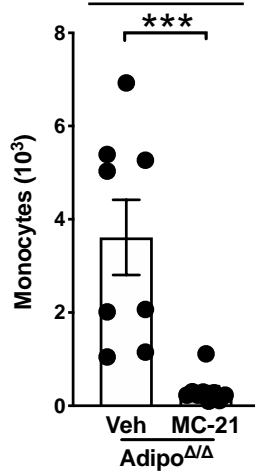
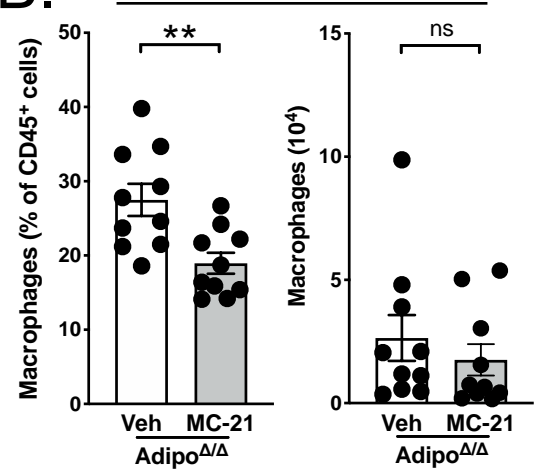
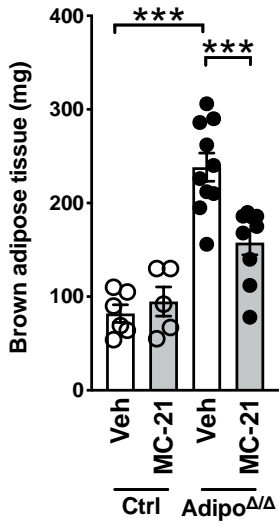
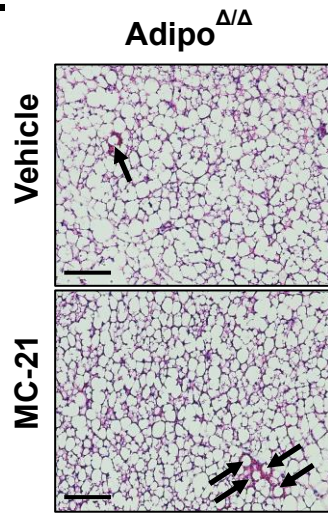
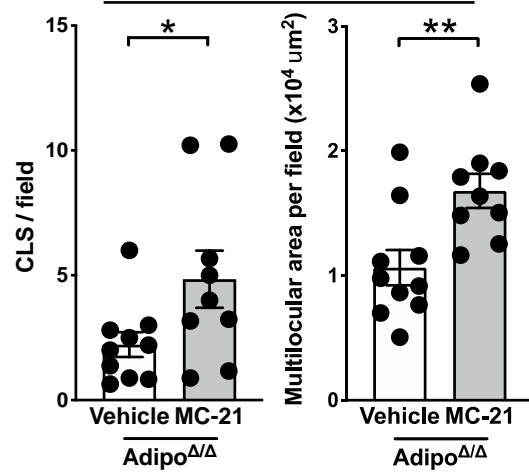
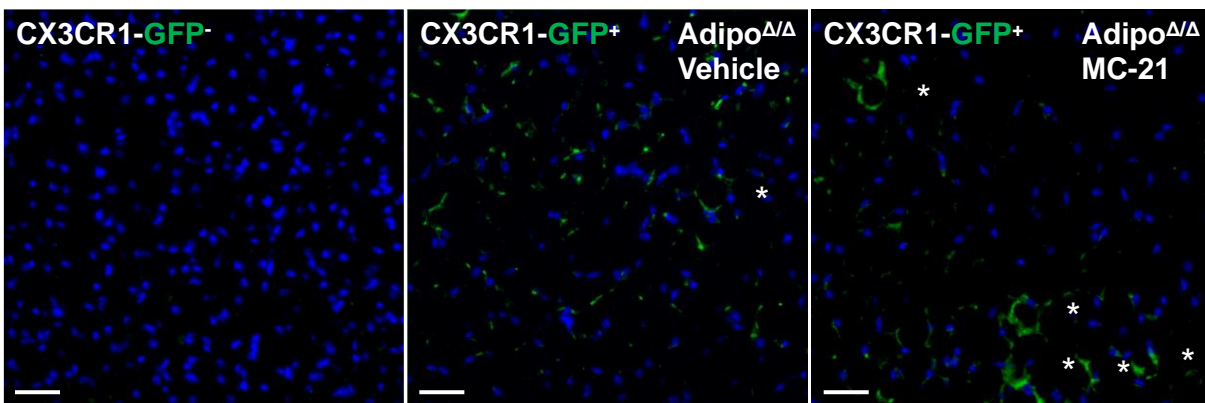
A.**BAT****B.****BAT****C.****D.****BAT****E.**

Figure 5. Monocyte depletion prevents the expansion of lipolysis-deficient BAT.

(A) Representative dot plots (left) and quantification (right) of BAT monocytes in MC-21 (n=9) or vehicle (n=8) treated Adipo^{ΔΔ} mice.

(B) Frequency and numbers of BAT macrophages in MC-21 (n=10) or vehicle (n=10) treated Adipo^{ΔΔ} mice.

(C) Brown adipose tissue weight of MC-21 or vehicle-treated control (n=6 and n=5 respectively) and Adipo^{ΔΔ} mice (n=9 and n=10 respectively).

(D) Representative images of H&E-stained BAT and quantification of crown-like structures (CLS) and multilocular adipocytes in MC-21 (n=9) or vehicle (n=10) treated Adipo^{ΔΔ} mice. Black arrows indicate CLS. Scale bar = 100μm.

(E) Immunofluorescence microscopy analysis of BAT from MC-21 or vehicle-treated Adipo^{ΔΔ} mice. CX3CR1^{GFP}- samples were used to determine background signal. White stars indicate crown-like structures. Scale bar = 100um

All data are represented in means ± SEM. ns p>0,05; * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; **** p<0,0001.

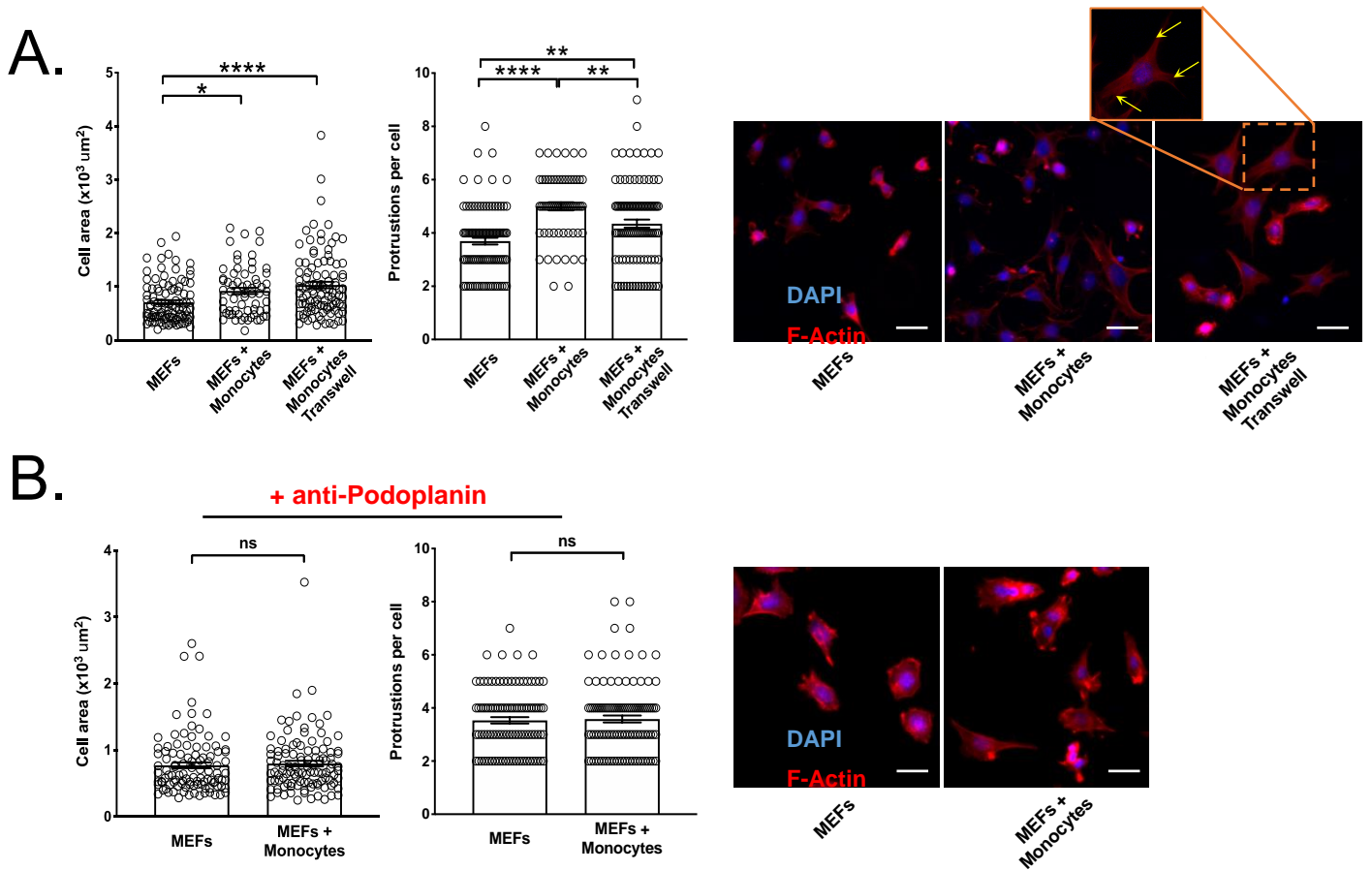


Figure 6. Monocytes modulate fibroblast morphology.

(A) Quantification (left) and representative images (right) of mouse embryonic fibroblast (MEF) morphology after a 18hour co-culture experiment with monocytes placed in the same well or in a transwell insert with 0.4μm pores. F-actin was revealed using phalloidin staining. Yellow arrows indicate protrusions. Scale bar = 20μm.

(B) Quantification (left) and representative images (right) of MEF morphology after a 18hour co-culture experiment with monocytes in the presence of 2μg/mL anti-podoplanin blocking antibody. F-actin was revealed using phalloidin staining. Scale bar = 20μm.

All data are represented in means ± SEM. ns p>0,05; * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; **** p<0,0001.

References

- Abdullahi, A., C. Auger, M. Stanojic, D. Patsouris, A. Parousis, S. Epelman, and M.G. Jeschke. 2019. Alternatively Activated Macrophages Drive Browning of White Adipose Tissue in Burns. *Ann Surg* 269:554-563.
- Acton, S.E., A.J. Farrugia, J.L. Astarita, D. Mourao-Sa, R.P. Jenkins, E. Nye, S. Hooper, J. van Blijswijk, N.C. Rogers, K.J. Snelgrove, I. Rosewell, L.F. Moita, G. Stamp, S.J. Turley, E. Sahai, and C. Reis e Sousa. 2014. Dendritic cells control fibroblastic reticular network tension and lymph node expansion. *Nature* 514:498-502.
- Ahmadian, M., M.J. Abbott, T. Tang, C.S. Hudak, Y. Kim, M. Bruss, M.K. Hellerstein, H.Y. Lee, V.T. Samuel, G.I. Shulman, Y. Wang, R.E. Duncan, C. Kang, and H.S. Sul. 2011. Desnutrin/ATGL is regulated by AMPK and is required for a brown adipose phenotype. *Cell Metab* 13:739-748.
- Astarita, J.L., V. Cremasco, J. Fu, M.C. Darnell, J.R. Peck, J.M. Nieves-Bonilla, K. Song, Y. Kondo, M.C. Woodruff, A. Gogineni, L. Onder, B. Ludewig, R.M. Weimer, M.C. Carroll, D.J. Mooney, L. Xia, and S.J. Turley. 2015. The CLEC-2-podoplanin axis controls the contractility of fibroblastic reticular cells and lymph node microarchitecture. *Nat Immunol* 16:75-84.
- Carlin, L.M., E.G. Stamatiades, C. Auffray, R.N. Hanna, L. Glover, G. Vizcay-Barrena, C.C. Hedrick, H.T. Cook, S. Diebold, and F. Geissmann. 2013. Nr4a1-dependent Ly6C(low) monocytes monitor endothelial cells and orchestrate their disposal. *Cell* 153:362-375.
- Cawthorn, W.P., E.L. Scheller, B.S. Learman, S.D. Parlee, B.R. Simon, H. Mori, X. Ning, A.J. Bree, B. Schell, D.T. Broome, S.S. Soliman, J.L. DelProposto, C.N. Lumeng, A. Mitra, S.V. Pandit, K.A. Gallagher, J.D. Miller, V. Krishnan, S.K. Hui, M.A. Bredella, P.K. Fazeli, A. Klibanski, M.C. Horowitz, C.J. Rosen, and O.A. MacDougald. 2014. Bone marrow adipose tissue is an endocrine organ that contributes to increased circulating adiponectin during caloric restriction. *Cell Metab* 20:368-375.
- Chong, S.Z., M. Evrard, S. Devi, J. Chen, J.Y. Lim, P. See, Y. Zhang, J.M. Adrover, B. Lee, L. Tan, J.L. Li, K.H. Liong, C. Phua, A. Balachander, A. Boey, D. Liebl, S.M. Tan, J.K. Chan, K. Balabanian, J.E. Harris, M. Bianchini, C. Weber, J. Duchene, J. Lum, M. Poidinger, Q. Chen, L. Renia, C.I. Wang, A. Larbi, G.J. Randolph, W. Weninger, M.R. Looney, M.F. Krummel, S.K. Biswas, F. Ginhoux, A. Hidalgo, F. Bachelierie, and L.G. Ng. 2016. CXCR4 identifies transitional bone marrow premonocytes that replenish the mature monocyte pool for peripheral responses. *J Exp Med* 213:2293-2314.
- Chung, K.J., A. Chatzigeorgiou, M. Economopoulou, R. Garcia-Martin, V.I. Alexaki, I. Mitroulis, M. Nati, J. Gebler, T. Ziemssen, S.E. Goelz, J. Phieler, J.H. Lim, K.P. Karalis, T. Papayannopoulou, M. Bluher, G. Hajishengallis, and T. Chavakis. 2017. A self-sustained loop of inflammation-driven inhibition of beige adipogenesis in obesity. *Nat Immunol* 18:654-664.
- Coburn, C.T., F.F. Knapp, Jr., M. Febbraio, A.L. Beets, R.L. Silverstein, and N.A. Abumrad. 2000. Defective uptake and utilization of long chain fatty acids in muscle and adipose tissues of CD36 knockout mice. *J Biol Chem* 275:32523-32529.
- Coller, B.S. 2005. Leukocytosis and ischemic vascular disease morbidity and mortality: is it time to intervene? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25:658-670.
- Devlin, M.J., A.M. Cloutier, N.A. Thomas, D.A. Panus, S. Lotinun, I. Pinz, R. Baron, C.J. Rosen, and M.L. Buxsein. 2010. Caloric restriction leads to high marrow adiposity and low bone mass in growing mice. *J Bone Miner Res* 25:2078-2088.
- Freemerman, A.J., L. Zhao, A.K. Pingili, B. Teng, A.J. Cozzo, A.M. Fuller, A.R. Johnson, J.J. Milner, M.F. Lim, J.A. Galanko, M.A. Beck, J.E. Bear, J.D. Rotty, L. Bezavada, H.S. Smallwood, M.A. Puchowicz, J. Liu, J.W. Locasale, D.P. Lee, B.J. Bennett, E.D. Abel, J.C. Rathmell, and L. Makowski. 2019. Myeloid Slc2a1-Deficient Murine Model Revealed Macrophage Activation and Metabolic Phenotype Are Fueled by GLUT1. *J Immunol* 202:1265-1286.

Gautier, E.L., T. Shay, J. Miller, M. Greter, C. Jakubzick, S. Ivanov, J. Helft, A. Chow, K.G. Elpek, S. Gordonov, A.R. Mazloom, A. Ma'ayan, W.J. Chua, T.H. Hansen, S.J. Turley, M. Merad, G.J. Randolph, and C. Immunological Genome. 2012. Gene-expression profiles and transcriptional regulatory pathways that underlie the identity and diversity of mouse tissue macrophages. *Nat Immunol* 13:1118-1128.

Guilliams, M., F. Ginhoux, C. Jakubzick, S.H. Naik, N. Onai, B.U. Schraml, E. Segura, R. Tussiwand, and S. Yona. 2014. Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny. *Nat Rev Immunol* 14:571-578.

Heidt, T., H.B. Sager, G. Courties, P. Dutta, Y. Iwamoto, A. Zaltsman, C. von Zur Muhlen, C. Bode, G.L. Fricchione, J. Denninger, C.P. Lin, C. Vinegoni, P. Libby, F.K. Swirski, R. Weissleder, and M. Nahrendorf. 2014. Chronic variable stress activates hematopoietic stem cells. *Nat Med* 20:754-758.

Hettinger, J., D.M. Richards, J. Hansson, M.M. Barra, A.C. Joschko, J. Krijgsveld, and M. Feuerer. 2013. Origin of monocytes and macrophages in a committed progenitor. *Nat Immunol* 14:821-830.

Huang, S.C., B. Everts, Y. Ivanova, D. O'Sullivan, M. Nascimento, A.M. Smith, W. Beatty, L. Love-Gregory, W.Y. Lam, C.M. O'Neill, C. Yan, H. Du, N.A. Abumrad, J.F. Urban, Jr., M.N. Artyomov, E.L. Pearce, and E.J. Pearce. 2014. Cell-intrinsic lysosomal lipolysis is essential for alternative activation of macrophages. *Nat Immunol* 15:846-855.

Ivanov, S., J. Merlin, M.K.S. Lee, A.J. Murphy, and R.R. Guinamard. 2018. Biology and function of adipose tissue macrophages, dendritic cells and B cells. *Atherosclerosis* 271:102-110.

Jakubzick, C., E.L. Gautier, S.L. Gibbings, D.K. Sojka, A. Schlitzer, T.E. Johnson, S. Ivanov, Q. Duan, S. Bala, T. Condon, N. van Rooijen, J.R. Grainger, Y. Belkaid, A. Ma'ayan, D.W. Riches, W.M. Yokoyama, F. Ginhoux, P.M. Henson, and G.J. Randolph. 2013. Minimal differentiation of classical monocytes as they survey steady-state tissues and transport antigen to lymph nodes. *Immunity* 39:599-610.

Jakubzick, C.V., G.J. Randolph, and P.M. Henson. 2017. Monocyte differentiation and antigen-presenting functions. *Nat Rev Immunol* 17:349-362.

Jenkins, C.M., D.J. Mancuso, W. Yan, H.F. Sims, B. Gibson, and R.W. Gross. 2004. Identification, cloning, expression, and purification of three novel human calcium-independent phospholipase A2 family members possessing triacylglycerol lipase and acylglycerol transacylase activities. *J Biol Chem* 279:48968-48975.

Jordan, S., N. Tung, M. Casanova-Acebes, C. Chang, C. Cantoni, D. Zhang, T.H. Wirtz, S. Naik, S.A. Rose, C.N. Brocker, A. Gainullina, D. Hornburg, S. Horng, B.B. Maier, P. Cravedi, D. LeRoith, F.J. Gonzalez, F. Meissner, J. Ochando, A. Rahman, J.E. Chipuk, M.N. Artyomov, P.S. Frenette, L. Piccio, M.L. Berres, E.J. Gallagher, and M. Merad. 2019. Dietary Intake Regulates the Circulating Inflammatory Monocyte Pool. *Cell* 178:1102-1114 e1117.

Kotzbeck, P., A. Giordano, E. Mondini, I. Murano, I. Severi, W. Venema, M.P. Cecchini, E.E. Kershaw, G. Barbatelli, G. Haemmerle, R. Zechner, and S. Cinti. 2018. Brown adipose tissue whitening leads to brown adipocyte death and adipose tissue inflammation. *J Lipid Res* 59:784-794.

Liu, P.S., H. Wang, X. Li, T. Chao, T. Teav, S. Christen, G. Di Conza, W.C. Cheng, C.H. Chou, M. Vavakova, C. Muret, K. Debackere, M. Mazzone, H.D. Huang, S.M. Fendt, J. Ivanisevic, and P.C. Ho. 2017. alpha-ketoglutarate orchestrates macrophage activation through metabolic and epigenetic reprogramming. *Nat Immunol* 18:985-994.

Liu, Y., W. Li, H.P. Luehmann, Y. Zhao, L. Detering, D.H. Sultan, H.M. Hsiao, A.S. Krupnick, A.E. Gelman, C. Combadiere, R.J. Gropler, S.L. Brody, and D. Kreisel. 2016. Noninvasive Imaging of CCR2(+) Cells in Ischemia-Reperfusion Injury After Lung Transplantation. *Am J Transplant* 16:3016-3023.

Mack, M., J. Cihak, C. Simonis, B. Luckow, A.E. Proudfoot, J. Plachy, H. Bruhl, M. Frink, H.J. Anders, V. Vielhauer, J. Pfirstinger, M. Stangassinger, and D. Schlondorff. 2001. Expression and characterization of the chemokine receptors CCR2 and CCR5 in mice. *J Immunol* 166:4697-4704.

McAlpine, C.S., M.G. Kiss, S. Rattik, S. He, A. Vassalli, C. Valet, A. Anzai, C.T. Chan, J.E. Mindur, F. Kahles, W.C. Poller, V. Frodermann, A.M. Fenn, A.F. Gregory, L. Halle, Y. Iwamoto, F.F. Hoyer, C.J. Binder, P. Libby, M. Tafti, T.E. Scammell, M. Nahrendorf, and F.K. Swirski. 2019. Sleep modulates haematopoiesis and protects against atherosclerosis. *Nature* 566:383-387.

McKim, D.B., W. Yin, Y. Wang, S.W. Cole, J.P. Godbout, and J.F. Sheridan. 2018. Social Stress Mobilizes Hematopoietic Stem Cells to Establish Persistent Splenic Myelopoiesis. *Cell Rep* 25:2552-2562 e2553.

Mogilenko, D.A., J.T. Haas, L. L'Homme, S. Fleury, S. Quemener, M. Levavasseur, C. Becquart, J. Wartelle, A. Bogomolova, L. Pineau, O. Molendi-Coste, S. Lancel, H. Dehondt, C. Gheeraert, A. Melchior, C. Dewas, A. Nikitin, S. Pic, N. Rabhi, J.S. Annicotte, S. Oyadomari, T. Velasco-Hernandez, J. Cammenga, M. Foretz, B. Viollet, M. Vukovic, A. Villacreces, K. Kranc, P. Carmeliet, G. Marot, A. Boulter, S. Tavernier, L. Berod, M.P. Longhi, C. Paget, S. Janssens, D. Staumont-Salle, E. Aksoy, B. Staels, and D. Dombrowicz. 2019. Metabolic and Innate Immune Cues Merge into a Specific Inflammatory Response via the UPR. *Cell* 177:1201-1216 e1219.

Morioka, S., J.S.A. Perry, M.H. Raymond, C.B. Medina, Y. Zhu, L. Zhao, V. Serbulea, S. Onengut-Gumuscu, N. Leitinger, S. Kucenas, J.C. Rathmell, L. Makowski, and K.S. Ravichandran. 2018. Efferocytosis induces a novel SLC program to promote glucose uptake and lactate release. *Nature* 563:714-718.

Nagareddy, P.R., A.J. Murphy, R.A. Stirzaker, Y. Hu, S. Yu, R.G. Miller, B. Ramkhalawon, E. Distel, M. Westerterp, L.S. Huang, A.M. Schmidt, T.J. Orchard, E.A. Fisher, A.R. Tall, and I.J. Goldberg. 2013. Hyperglycemia promotes myelopoiesis and impairs the resolution of atherosclerosis. *Cell Metab* 17:695-708.

Nahrendorf, M., and F.K. Swirski. 2015. Lifestyle effects on hematopoiesis and atherosclerosis. *Circ Res* 116:884-894.

Naveiras, O., V. Nardi, P.L. Wenzel, P.V. Hauschka, F. Fahey, and G.Q. Daley. 2009. Bone-marrow adipocytes as negative regulators of the haematopoietic microenvironment. *Nature* 460:259-263.

Nguyen, K.D., S.J. Fentress, Y. Qiu, K. Yun, J.S. Cox, and A. Chawla. 2013. Circadian gene Bmal1 regulates diurnal oscillations of Ly6C(hi) inflammatory monocytes. *Science* 341:1483-1488.

Olivares, R., P. Ducimetiere, and J.R. Claude. 1993. Monocyte count: a risk factor for coronary heart disease? *Am J Epidemiol* 137:49-53.

Qiu, Y., K.D. Nguyen, J.I. Odegaard, X. Cui, X. Tian, R.M. Locksley, R.D. Palmiter, and A. Chawla. 2014. Eosinophils and type 2 cytokine signaling in macrophages orchestrate development of functional beige fat. *Cell* 157:1292-1308.

Robbins, C.S., A. Chudnovskiy, P.J. Rauch, J.L. Figueiredo, Y. Iwamoto, R. Gorbato, M. Etzrodt, G.F. Weber, T. Ueno, N. van Rooijen, M.J. Mulligan-Kehoe, P. Libby, M. Nahrendorf, M.J. Pittet, R. Weissleder, and F.K. Swirski. 2012. Extramedullary hematopoiesis generates Ly-6C(high) monocytes that infiltrate atherosclerotic lesions. *Circulation* 125:364-374.

Sarrazy, V., M. Viaud, M. Westerterp, S. Ivanov, S. Giorgetti-Peraldi, R. Guinamard, E.L. Gautier, E.B. Thorp, D.C. De Vivo, and L. Yvan-Charvet. 2016. Disruption of Glut1 in Hematopoietic Stem Cells Prevents Myelopoiesis and Enhanced Glucose Flux in Atheromatous Plaques of ApoE(-/-) Mice. *Circ Res* 118:1062-1077.

Scheiermann, C., Y. Kunisaki, D. Lucas, A. Chow, J.E. Jang, D. Zhang, D. Hashimoto, M. Merad, and P.S. Frenette. 2012. Adrenergic nerves govern circadian leukocyte recruitment to tissues. *Immunity* 37:290-301.

Scheller, E.L., S. Khandaker, B.S. Learman, W.P. Cawthorn, L.M. Anderson, H.A. Pham, H. Robles, Z. Wang, Z. Li, S.D. Parlee, B.R. Simon, H. Mori, A.J. Bree, C.S. Craft, and O.A. MacDougald. 2019. Bone marrow adipocytes resist lipolysis and remodeling in response to beta-adrenergic stimulation. *Bone* 118:32-41.

Schreiber, R., C. Diwoy, G. Schoiswohl, U. Feiler, N. Wongsiriroj, M. Abdellatif, D. Kolb, J. Hoeks, E.E. Kershaw, S. Sedej, P. Schrauwen, G. Haemmerle, and R. Zechner. 2017. Cold-

Induced Thermogenesis Depends on ATGL-Mediated Lipolysis in Cardiac Muscle, but Not Brown Adipose Tissue. *Cell Metab* 26:753-763 e757.

Serbina, N.V., and E.G. Pamer. 2006. Monocyte emigration from bone marrow during bacterial infection requires signals mediated by chemokine receptor CCR2. *Nat Immunol* 7:311-317.

Shi, C., and E.G. Pamer. 2011. Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat Rev Immunol* 11:762-774.

Shin, H., Y. Ma, T. Chanturiya, Q. Cao, Y. Wang, A.K.G. Kadegowda, R. Jackson, D. Rumore, B. Xue, H. Shi, O. Gavrilova, and L. Yu. 2017. Lipolysis in Brown Adipocytes Is Not Essential for Cold-Induced Thermogenesis in Mice. *Cell Metab* 26:764-777 e765.

Silva, H.M., A. Bafica, G.F. Rodrigues-Luiz, J. Chi, P.D.A. Santos, B.S. Reis, D.P. Hoytema van Konijnenburg, A. Crane, R.D.N. Arifa, P. Martin, D. Mendes, D.S. Mansur, V.J. Torres, K. Cadwell, P. Cohen, D. Mucida, and J.J. Lafaille. 2019. Vasculature-associated fat macrophages readily adapt to inflammatory and metabolic challenges. *J Exp Med* 216:786-806.

Son, N.H., D. Basu, D. Samovski, T.A. Pietka, V.S. Peche, F. Willecke, X. Fang, S.Q. Yu, D. Scerbo, H.R. Chang, F. Sun, S. Bagdasarov, K. Drosatos, S.T. Yeh, A.E. Mullick, K.I. Shoghi, N. Gumaste, K. Kim, L.A. Huggins, T. Lhakhang, N.A. Abumrad, and I.J. Goldberg. 2018. Endothelial cell CD36 optimizes tissue fatty acid uptake. *J Clin Invest* 128:4329-4342.

Tabula Muris, C. 2020. A single-cell transcriptomic atlas characterizes ageing tissues in the mouse. *Nature* 583:590-595.

Trompette, A., E.S. Gollwitzer, C. Pattaroni, I.C. Lopez-Mejia, E. Riva, J. Pernot, N. Ubags, L. Fajas, L.P. Nicod, and B.J. Marsland. 2018. Dietary Fiber Confers Protection against Flu by Shaping Ly6c(-) Patrolling Monocyte Hematopoiesis and CD8(+) T Cell Metabolism. *Immunity* 48:992-1005 e1008.

Tsou, C.L., W. Peters, Y. Si, S. Slaymaker, A.M. Aslanian, S.P. Weisberg, M. Mack, and I.F. Charo. 2007. Critical roles for CCR2 and MCP-3 in monocyte mobilization from bone marrow and recruitment to inflammatory sites. *J Clin Invest* 117:902-909.

Villena, J.A., S. Roy, E. Sarkadi-Nagy, K.H. Kim, and H.S. Sul. 2004. Desnutrin, an adipocyte gene encoding a novel patatin domain-containing protein, is induced by fasting and glucocorticoids: ectopic expression of desnutrin increases triglyceride hydrolysis. *J Biol Chem* 279:47066-47075.

Williams, J.W., A. Elvington, S. Ivanov, S. Kessler, H. Luehmann, O. Baba, B.T. Saunders, K.W. Kim, M.W. Johnson, C.S. Craft, J.H. Choi, M.G. Sorci-Thomas, B.H. Zinselmeier, J.R. Brestoff, Y. Liu, and G.J. Randolph. 2017. Thermoneutrality but Not UCP1 Deficiency Suppresses Monocyte Mobilization Into Blood. *Circ Res* 121:662-676.

Wilson, A., H. Fu, M. Schiffrin, C. Winkler, M. Koufany, J.Y. Jouzeau, N. Bonnet, F. Gilardi, F. Renevey, S.A. Luther, D. Moulin, and B. Desvergne. 2018. Lack of Adipocytes Alters Hematopoiesis in Lipodystrophic Mice. *Front Immunol* 9:2573.

Yona, S., K.W. Kim, Y. Wolf, A. Mildner, D. Varol, M. Breker, D. Strauss-Ayali, S. Viukov, M. Guillemins, A. Misharin, D.A. Hume, H. Perlman, B. Malissen, E. Zelzer, and S. Jung. 2013. Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis. *Immunity* 38:79-91.

Yurdagul, A., Jr., M. Subramanian, X. Wang, S.B. Crown, O.R. Ilkayeva, L. Darville, G.K. Kolluru, C.C. Rymond, B.D. Gerlach, Z. Zheng, G. Kuriakose, C.G. Kevil, J.M. Koomen, J.L. Cleveland, D.M. Muoio, and I. Tabas. 2020. Macrophage Metabolism of Apoptotic Cell-Derived Arginine Promotes Continual Efferocytosis and Resolution of Injury. *Cell Metab* 31:518-533 e510.

Zhou, B.O., H. Yu, R. Yue, Z. Zhao, J.J. Rios, O. Naveiras, and S.J. Morrison. 2017. Bone marrow adipocytes promote the regeneration of stem cells and haematopoiesis by secreting SCF. *Nat Cell Biol* 19:891-903.

Zhou, D., D. Samovski, A.L. Okunade, P.D. Stahl, N.A. Abumrad, and X. Su. 2012. CD36 level and trafficking are determinants of lipolysis in adipocytes. *FASEB J* 26:4733-4742.

Zimmermann, R., J.G. Strauss, G. Haemmerle, G. Schoiswohl, R. Birner-Gruenberger, M. Riederer, A. Lass, G. Neuberger, F. Eisenhaber, A. Hermetter, and R. Zechner. 2004. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science* 306:1383-1386.

Methods

Mice.

Generation of Adipo^{ΔΔ} Mice

AdipoQ^{cre} [C57BL/6-Tg(Adipoq-cre/ERT2)1Soff/J], Pnpla2^{fl/fl} [B6N.129S-Pnpla2^{tm1Eek}/J], CX3CR1^{gfp} [B6.129P-Cx3cr1^{tm1Litt}/J], and Tomato^{fl/fl} [B6.Cg-Gt(ROSA)26Sor^{tm9(CAG-tdTomato)Hze}/J] mice were crossed together (all mice were purchased from The Jackson Laboratory). For each experiment, co-housed littermate controls were used. Animal protocols were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of the French Ministry of Higher Education and Research and the Mediterranean Center of Molecular Medicine (INSERM U1065) and were undertaken in accordance with the European Guidelines for Care and Use of Experimental Animals. Animals had free access to food and water and were housed in a controlled environment with a 12-hour light–dark cycle and constant temperature (22°C).

Induction of the Cre recombinase and light/dark cycle.

At 21 days old (P21) mice were weaned and co-housed under a 12 hours light/dark cycle or in a vented animal cabinet under an inverted light/dark cycle. After one week of adaptation, at P28, mice were injected every two days intra-peritoneally with 10mg/ml Tamoxifen for 1 week. Then, mice were allowed to rest for 2 weeks to completely establish an inverse light/dark cycle. Mice were then sacrificed, and tissues were harvested for further investigations.

Lipolysis stimulation protocols.

Fasting protocol.

Mice were placed in a new cage without food for 12h overnight. The next day, mice were euthanized at Zeitgeber Time 3 (ZT3).

β-3 agonist protocol.

2mg/kg β-3 agonist (CL316-243) or vehicle was i.v.-injected 3 hours prior the experiment.

Monocyte depletion protocol.

Mice were injected every two days intra-peritoneally with 10mg/ml Tamoxifen for 1 week and were then allowed to rest for 1 week. Mice were then injected intra-peritoneally once a day for 5 days with 10μg MC-21 (anti-CCR2) antibody or vehicle (PBS), and were sacrificed 16 hours after the last injection for further investigations.

Genotyping.

DNA was extracted from tail biopsies by incubation with 50mM NaOH for 30min at 95°C. DNA was amplified by PCR using DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific) and the following primers recognizing the sequences of the AdipoQ, Pnpla2 (coding for Atgl), TdTomato or CX3CR1 gene.

AdipoQ	5'CCGCATCTTCTTGTGCAGT3'	Internal Positive Control Forward primer
	5'ATCACGTCCTCCATCATCC3'	Internal Positive Control Reverse primer
	5'GAG TCT GCC TTT CCC ATG AC3'	Transgene Forward primer
	5'TCC CTC ACA TCC TCA GGT TC3'	Transgene Reverse primer
Pnpla2	5'GAGTGCAGTGTCTTCACCA3'	Forward primer
	5'ATCAGGCAGCCACTCCAAC3'	Reverse primer
Tomato	5'AAGGGAGCTGCAGTGGAGTA3'	Wild-type Forward primer
	5'CCGAAAATCTGTGGGAAGTC3'	Wild-type Reverse primer
	5'CTGTTCTGTACGGCATGG3'	Mutant Forward primer
	5'GGCATTAAAGCAGCGTATCC3'	Mutant Reverse primer
CX3CR1	5'GTCTTCACGTTCCGGTCTGGT3'	Wild-type Forward primer
	5'CCC AGA CAC TCG TTG TCC TT3'	Common primer
	5'CTCCCCCTGAACCTGAAAC3'	Mutant Forward primer

PCR products were visualized on a 2% agarose gel.

Control mice present a single band of 175 bp for AdipoQ, 235 bp for Atgl, 410 bp for CX3CR1, and 297 bp for Tomato.

Homozygotes mutant mice present a single band of 272 bp for AdipoQ, 390 bp for Atgl, 500 bp for CX3CR1, and 196 bp for Tomato.

Heterozygotes mice present each band of control and mutant genotype.

Glycerol, Glucose, and Non-Esterified Fatty Acids (NEFA) analyses.

Glycerol, glucose, and NEFA contents were measured from both serum and bone marrow fluid. Free glycerol reagent, Glucose dosage Kit, and NEFA-HR2 R1 + R2 FUJFILM were used according to the manufacturer's protocol.

Free fatty acids quantitation by NCI-GCMS.

Deuterated fatty acids were from Cayman (Bertin Pharma, Montigny le Bretonneux, France). Chemicals of the highest grade available were purchased from Sigma Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France). LCMSMS quality grade solvents were purchased from Fischer

Scientific (Illkirch, France). Plasma was spiked with 5 μ L of free fatty acids internal mix containing 635 ng, 326 ng, 95 ng, of linoleic acid d4, arachidonic acid-d8, DHA-d5, respectively. Plasma was mixed with 1.2ml of Dole's reagent (Isopropanol/Hexane/Phosphoric acid 2M 40/10/1 v/v/v). Free fatty acids were further extracted with 1 ml of Hexane and 1,5 ml of distilled water. Organic phase was collected and evaporated under vacuum. Fatty acids were analyzed as pentafluorobenzyl esters (PFB-FAs esters) by GCMS in negative chemical ionization mode. Calibration curves were obtained using linoleic acid (0,5-18 ng) arachidonic acid (0,3-11 ng) docosahexaenoic acid (0,1-3,5 ng) and docosapentaenoic acid (0,1-3,5 ng) extracted by the same method used for plasma. Linear regression was applied for calculations.

Western Blotting.

Tissues were harvested with a precellys (Bertin Instruments) in RIPA buffer. Tissues homogenate was then agitated for 1 hour at 4°C before being centrifuged at 14000 rpm for 10 min at 4°C. Supernatants were used for SDS-PAGE. Protein samples were resolved on 10% SDS-PAGE gels and were then transferred onto polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane using a wet transfer system. Membranes were blocked in 5% (w/v) BSA in Tris-buffered saline-Tween (TBST) for one hour at room temperature. Membranes were incubated with primary antibody (HSP90 diluted in 4% BSA or ATGL diluted in 10% nonfat dry milk) overnight at 4°C followed by the appropriate horseradish peroxidase-conjugated secondary antibody for 2h at room temperature. Proteins were detected by ECL chemiluminescence (Pierce).

Flow Cytometry Analysis.

Blood analysis

Just before the animal sacrifice, few drops of blood were collected by submandibular bleeding. Lysing buffer was used for red blood cells lysis. Cells were then centrifuged (400g, 5min at 4°C) and stained for 25 min protected from light in FACS buffer (RPMI medium, 0,3mM EDTA, and 0,06% BSA). Cells were then washed, centrifuged and data were acquired on BD FACS Canto flow cytometer. Analysis was performed using FlowJo software (Tree Star).

Tissues Analysis

Spleen, lung, and adipose tissues were harvested, shredded with scissors and then incubated for 30 minutes with HBSS medium containing 1.5 mg/ml collagenase A (for adipose tissues) or collagenase D (for lung digestion) at 37°C. The resulting suspension was lysed and processed as described in the previous paragraph.

Femurs and tibias were harvested and flushed with FACS buffer. Cells were then centrifuged (400g, 5min at 4°C), lysed and stained as previously described.

BrdU protocol.

Mice were injected with BrdU-APC conjugated 16 hours prior experiments. Blood and tissues were then processed and analyzed by flow cytometry as previously described.

Histology.

Tissues were harvested and fixed in PFA-sucrose 30% 2 hours at room temperature, then overnight at 4°C. First, a paraffin infiltration was performed to dehydrated tissues (Myr Spin Tissue Processor STP 120). Then, tissues were embedded in paraffin (Centre d'inclusion EC350-B&PMP). 7µm sections were performed using a HM340E microtome (Microm Microtech, Francheville France) and immuno-stained as follow.

Immunostaining.

Paraffin sections were de-paraffinized and H&E stained or rehydrated by washes in 100% xylene, 100% ethanol, 95% ethanol, 70% ethanol, and then washed in phosphate-buffered saline (PBS). Heat-induced antigen retrieval of sections was carried out IHC Antigen retrieval solution (eBiosciences) and then washed in PBS. Sections were then blocked for 1 hour in a buffer (1% BSA, 1% Tween, in PBS), then incubated with CD11b-APC conjugated diluted in buffer overnight at 4°C. Slides were then stained with DAPI (1µg/mL) for 1h at room temperature and then washed thoroughly and coverslips were mounted with ImmunoHistoMount. Following co-culture experiments, cells were fixed and incubated with PBS containing 1% BSA 1% Tween for 1 hour. Cells were stained with DAPI and Texas Red Phalloidin for 1 hour at room temperature, and then washed thoroughly. Coverslips were then mounted with ImmunoHistoMount.

Co-culture experiments.

Mouse embryonic fibroblasts (MEFs) were cultured in DMEM medium containing 10% FBS, 4,5g/L Glucose, 2mM L-Glutamine, 1mM Sodium Pyruvate, 50U/mL Penicillin, 50µg/mL Streptomycin. Monocytes were purified from the blood of C57BL/6 wild-type mice. Blood was collected by submandibular bleeding just before the animal sacrifice. Lysing buffer was used for red blood cells lysis. White blood cells were resuspended in FACS Buffer and stained with a depletion cocktail containing biotin-conjugated anti-CD3, anti-B220, anti-NK1.1, anti-Ly6G, anti-Ter119. Cells were then incubated with anti-biotin microbeads (Miltenyi Biotech) and passed through Miltenyi columns following the supplier's instructions. The flowthrough was collected and passed a total of 4 times on Miltenyi columns for optimal monocyte enrichment.

3x10⁴ Mouse embryonic fibroblasts (MEFs) were plated on glass coverslips in 24 well plates and left to adhere for 8 hours before addition of monocytes and/or anti-podoplanin.

1,5x10⁴ monocytes were directly put in contact with MEFs or placed in cell culture inserts with 0.4µm pores. Additionally, podoplanin blockade was realized when indicated by adding 2µg/mL anti-podoplanin (8.1.1 clone). 18 hours after addition of monocytes and/or anti-podoplanin, medium was removed, cells were washed once with PBS and fixed in 4% PFA for 20 minutes.

Positron Emission Tomographic Imaging/Computed Tomography (PET/CT) and post-PET biodistribution of ⁶⁴Cu-DOTA-ECL1i

For PET/CT, 45 to 60 minutes dynamic scan was performed after injection of ⁶⁴Cu-DOTA-ECL1i (3.7 MBq in 100 µL saline) via tail vein with Inveon PET/CT system (Siemens, Malvern, PA). The PET images were reconstructed with the maximum a posteriori algorithm and analyzed by Inveon Research Workplace. The organ uptake was calculated as percent injected dose per gram of tissue in 3-dimensional regions of interest without the correction for partial volume effect. Right after PET/CT, the mice were euthanized by cervical dislocation. Organs of interest were collected, weighed, and counted in a Beckman 8000 gamma counter (Beckman, Fullerton, CA). Standards were prepared and measured along with the samples to calculate the percentage of the injected dose per gram of tissue.

autoradiography

After the collection of BATs, the radio activities in the tissues were detected by autoradiography using a Storm 840 Phosphorimager (GE, Marlborough, MA).

Microscopy Analysis.

Real Time qPCR.

Total RNA was isolated using the RNeasy Plus Mini Kit and quantified using a Nanodrop. cDNA was prepared using 2,77 ng/µl total RNA by a RT-PCR using a high capacity cDNA reverse transcription kit according to the manufacturer's instructions. Real-time qPCR was performed on cDNA using SYBR Green and GAPDH, β-Actin, CXCL12, CCL2 or TNF-α forward and reverse primers (Invitrogen). qPCRs were performed on the StepOne device (Applied Biosystem). Results were normalized on GAPDH or β-Actin gene expression. All conditions were performed in triplicates. All fold changes are expressed normalized to the untreated control.

Mouse	Primer sequences	
Gene name	Primer Forward (Left)	Primer Reverse (Right)
GAPDH	ACCACAGTCCATGCCATCACTGCCA	GGCCATCCACAGTCTTCTGC
β -Actin	GAGACCTTCAACACCCC	GTGGTGGTGAAGCTGTAGGC
CXCL12	CCAAACTCTCCCCTTCAGAT	ATTTCTGGGTCAATGCACACT
CCL2	CATCCACGTGTTGGCTCA	GATCATCTTGCTGGTGAATGAGT
TNF- α	CACAAGATGCTGGGACAGTGA	TCCTTGATGGTGGTGCATGA

ELISA assays.

Mouse CXCL12 or CCL2 assays were performed on mice serum or bone marrow fluid according to the recommended manufacturer instructions.

Statistical Analysis.

All the data of this paper are expressed in mean \pm SEM. Mann-Whitney test was performed with GraphPad Prism 6 software to test the samples significance comparing either day vs night, Control day vs Adipo $\Delta\Delta$ day or Control night vs Adipo $\Delta\Delta$ night mice (* p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; **** p<0,0001).

Supplemental data

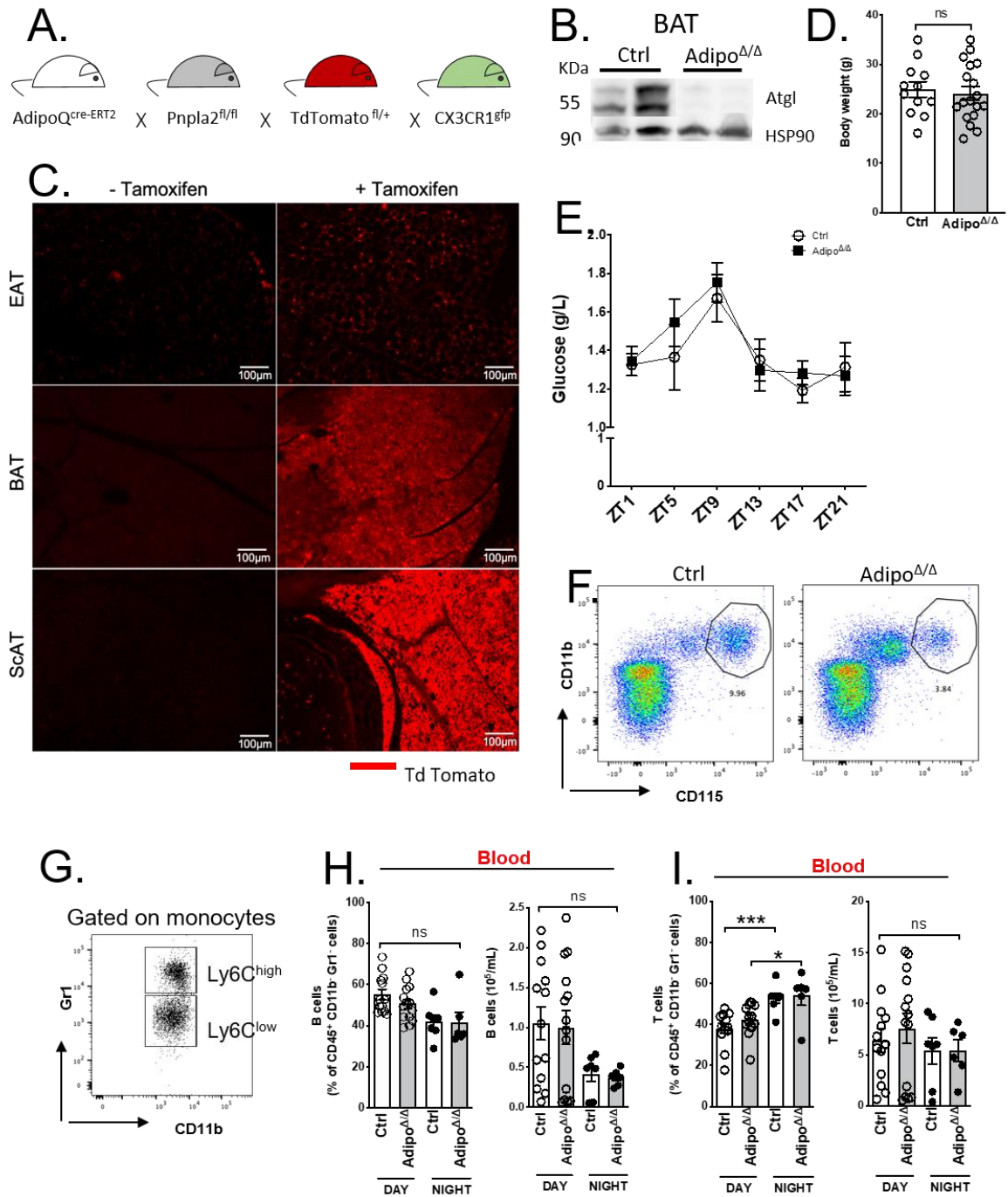


Figure S1.

(A) Breeding scheme for generating Adipo^{Δ/Δ} mice

(B) Atgl protein expression in Adipo^{Δ/Δ} mice brown adipose tissue (BAT) compared to controls (Ctrl) by Western Blot analysis; HSP90 was used as loading control for protein expression.

(C) TdTomato reporter expression (red) in epididymal (EAT), brown (BAT), and subcutaneous (ScAT) adipose tissues by fluorescence microscopy.

(D) Adipo^{Δ/Δ} (day *n*=18; night *n*=9) and control (day *n*=12; night *n*=10) mice body weights.

(E) Glucose circadian levels in Adipo^{Δ/Δ} mice sera (*n*=5-3) compared to controls (*n*=3).

(F) Alternative blood monocytes population gating strategy using CD115 marker.

(G) Blood Ly6C^{high} and Ly6C^{low} monocyte subset flow cytometry gating strategy.

(H) Blood B cell and (I) T cell frequency and number of Adipo^{Δ/Δ} mice (day *n*=14; night *n*=6) compared to controls (day *n*=13; night *n*=7) by flow cytometry.

All data are represented in means ± SEM. Day = ZT3; Night = ZT15. ns *p*>0,05; * *p*<0,05;

** <0,01; *** *p*<0,001; **** *p*<0,0001.

Name	Formula	Condition	Ratio compared to ctrl day	+/- SEM
Laureic acid	C12:0	Ctrl night	1,02939417	0,05832
		Adipo ^{ΔΔ} day	1,0437643	0,0457
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,86628324	0,1026
Myristic acid	C14:0	Ctrl night	0,55333313	0,1471
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,47300615	0,0328
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,4585532	0,1621
Palmitoleic acid	C16:1 n-9	Ctrl night	0,64846449	0,1185
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,96329024	0,1434
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,57783372	0,1402
Methyl palmitoleic acid	C16:1 n-7	Ctrl night	0,56780411	0,2267
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,57340346	0,07513
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,46525552	0,2212
Palmitic acid	C16:0	Ctrl night	0,62721651	0,1335
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,73588931	0,06703
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,52778275	0,1489
Oleic acid	C18:1 n-9	Ctrl night	0,50161424	0,1329
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,74614637	0,08332
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,45056654	0,1474
Trans-vaccenic acid	C18:1 n-7	Ctrl night	0,59967466	0,1414
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,93253779	0,1181
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,56939283	0,1535
Stearic acid	C18:0	Ctrl night	0,78240178	0,08724
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,83793297	0,05683
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,64862492	0,1046
linoleic acid	C18:2 n-6	Ctrl night	0,589779	0,08075
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,83610225	0,04359
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,52935758	0,13
α-linolenic acid	C18:3 n-3	Ctrl night	0,52204965	0,05563
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,7386928	0,03713
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,56189683	0,1601
cis-11-Eicosenoic acid	C20:1 n-9	Ctrl night	0,77191104	0,1398
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,8906383	0,09488
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,62821451	0,1549
dihomo-γ-linolenic acid	C20:3 n-6	Ctrl night	0,82328013	0,1609
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,92904146	0,1156
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,57594767	0,122
Mead acid	C20:3 n-9	Ctrl night	0,61387555	0,07903
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,89803058	0,1329
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,58753696	0,1187
Arachidonic acid	C20:4 n-6	Ctrl night	1,13174181	0,1401
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,9339235	0,109
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,71879955	0,09774

Eicosapentaenoic acid	C20:5 n-3	Ctrl night	0,72359713	0,07285
		Adipo ^{ΔΔ} day	1,00486347	0,1208
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,53984575	0,1022
Docosahexaenoic acid	C22:6 n-3	Ctrl night	0,88459555	0,1501
		Adipo ^{ΔΔ} day	0,90164926	0,1014
		Adipo ^{ΔΔ} night	0,53798013	0,07381

Table S1.

Lipidomic analysis of Adipo^{ΔΔ} mice (day $n=9$; night $n=5$) compared to controls (day $n=7$; night $n=6$).

Data are represented in ratio compared to *Ctrl day* condition \pm SEM.

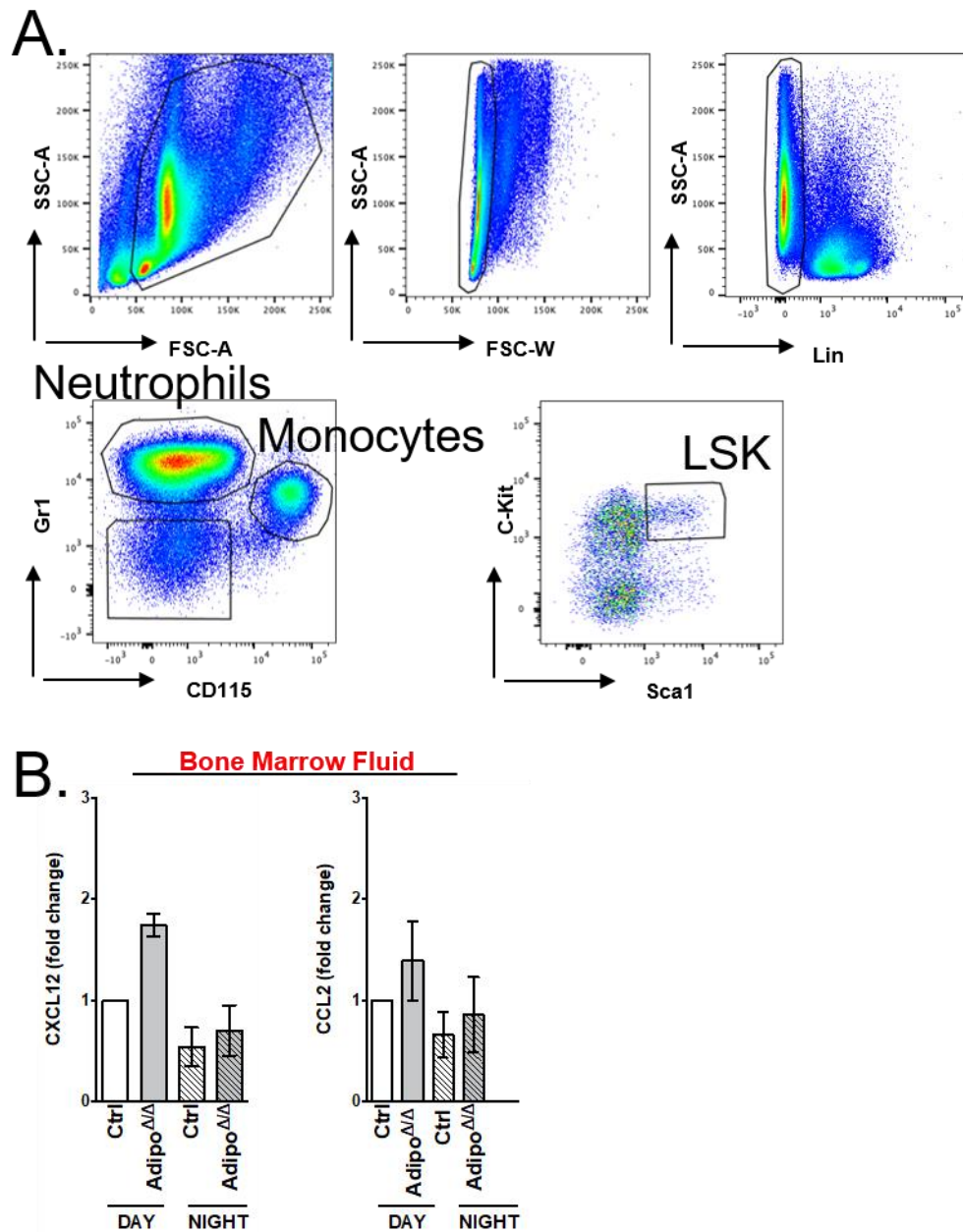
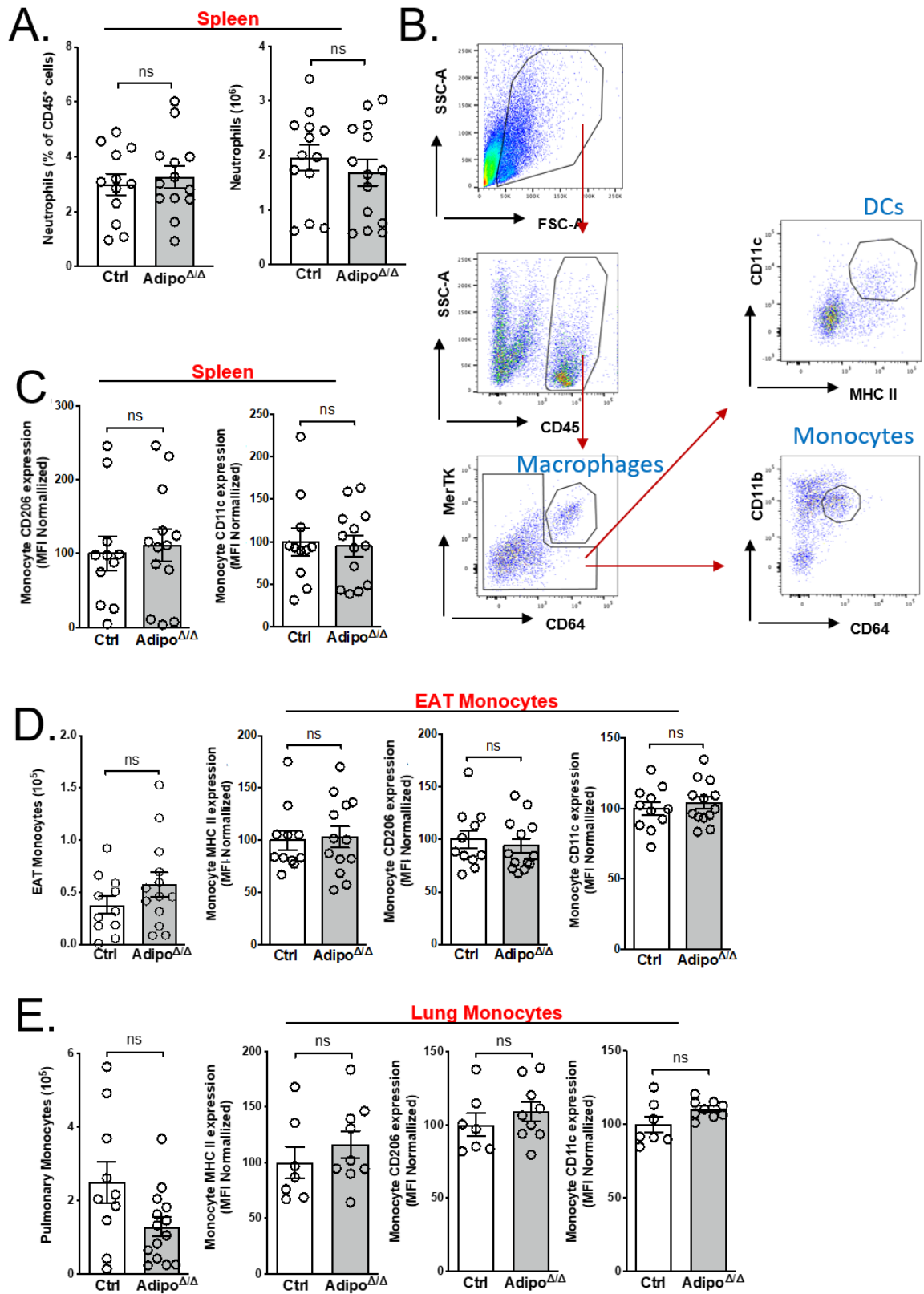


Figure S2.

(A) Bone marrow LSK (Lin⁻, Sca1⁺, c-Kit⁺), monocyte and neutrophil flow cytometry gating strategy.

(B) CXCL12 (*left*) and CCL2 (*right*) mRNA expression in Adipo $\Delta\Delta$ mice bone marrow fluid (day $n=4$; night $n=5$) compared to controls (day $n=7$; night $n=7$) by qPCR analysis. Relative gene expression was analyzed using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. Results were normalized on GAPDH gene expression.

All data are represented in means \pm SEM. Day = ZT3; Night = ZT15. ns $p>0,05$.



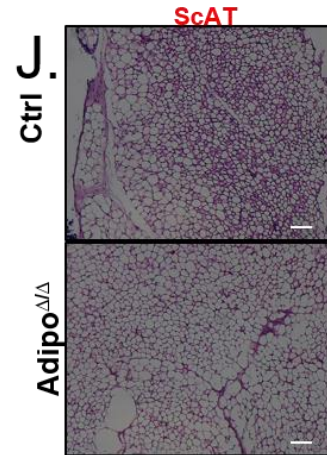
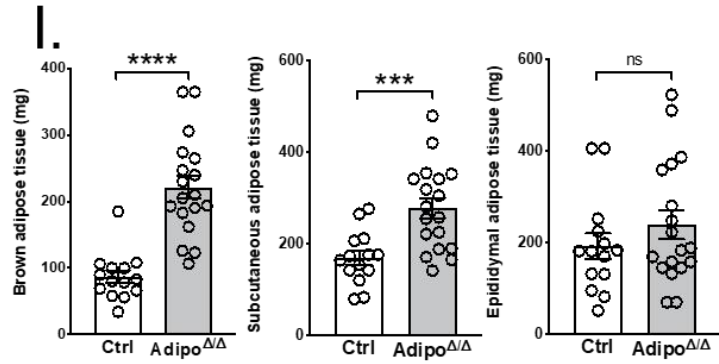
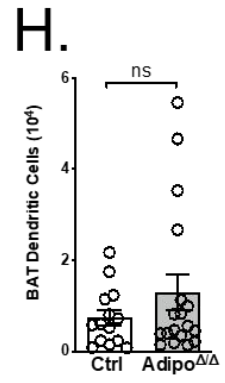
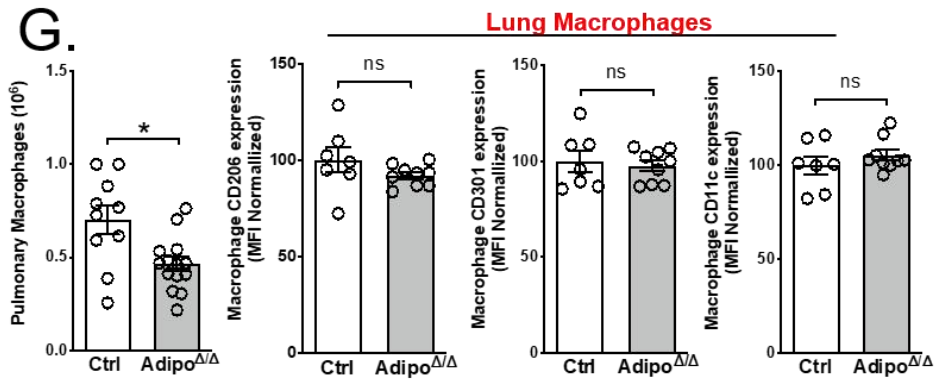
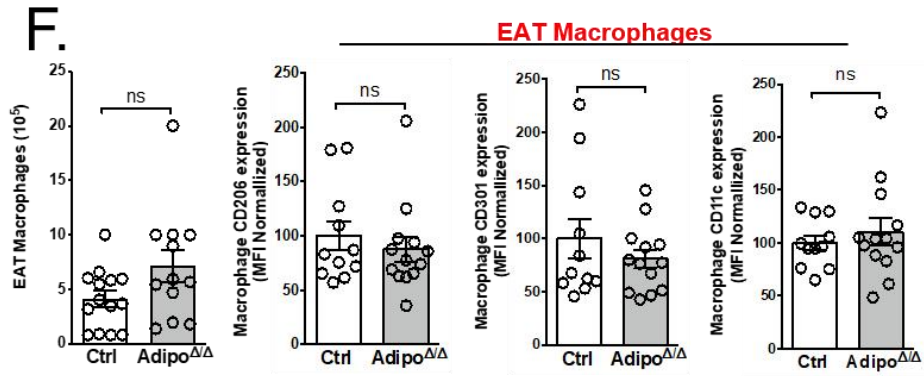


Figure S3.

(A) Spleen neutrophil frequency and number of Adipo^{ΔΔ} mice (day $n=13-10$; night $n=6-3$) compared to controls (day $n=13-9$; night $n=7-4$) by flow cytometry.

(B) Adipose tissues macrophage, Dendritic cell (DC) and monocyte flow cytometry gating strategy.

(C) CD206 and CD11c mean fluorescence intensity (MFI) on BAT monocytes of Adipo^{ΔΔ} mice ($n=13$) compared to controls ($n=11$) at ZT3 by flow cytometry.

(D) Epididymal adipose tissue (EAT) monocyte number (*left*) and MHCII, CD206, CD11c mean fluorescence intensity (MFI) of Adipo^{ΔΔ} mice ($n=13$) compared to controls ($n=11$) at ZT3 by flow cytometry.

(E) Pulmonary monocyte number (*left*) and MHCII, CD206, CD11c mean fluorescence intensity (MFI) of Adipo^{ΔΔ} mice ($n=14-9$) compared to controls ($n=10-7$) at ZT3 by flow cytometry.

(F) Epididymal adipose tissue (EAT) macrophage number (*left*) and MHCII, CD206, CD11c mean fluorescence intensity (MFI) of Adipo^{ΔΔ} mice ($n=11-13$) compared to controls ($n=14-11$) at ZT3 by flow cytometry.

(G) Pulmonary macrophage number (*left*) and MHCII, CD206, CD11c mean fluorescence intensity (MFI) of Adipo^{ΔΔ} mice ($n=14-9$) compared to controls ($n=10-7$) at ZT3 by flow cytometry.

(H) BAT dendritic cell number of Adipo^{ΔΔ} ($n=18$) mice compared to controls ($n=14$) at ZT3.

(I) Adipose tissues weights of Adipo^{ΔΔ} mice (day $n=18$; night $n=9$) compared to controls (day $n=14$; night $n=10$)

(J) Subcutaneous adipose tissue (ScAT) morphology imaging of Adipo^{ΔΔ} mice compared to controls at ZT3.

All data are represented in means \pm SEM. Day = ZT3; Night = ZT15. ns $p>0,05$; * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$; **** $p<0,0001$.

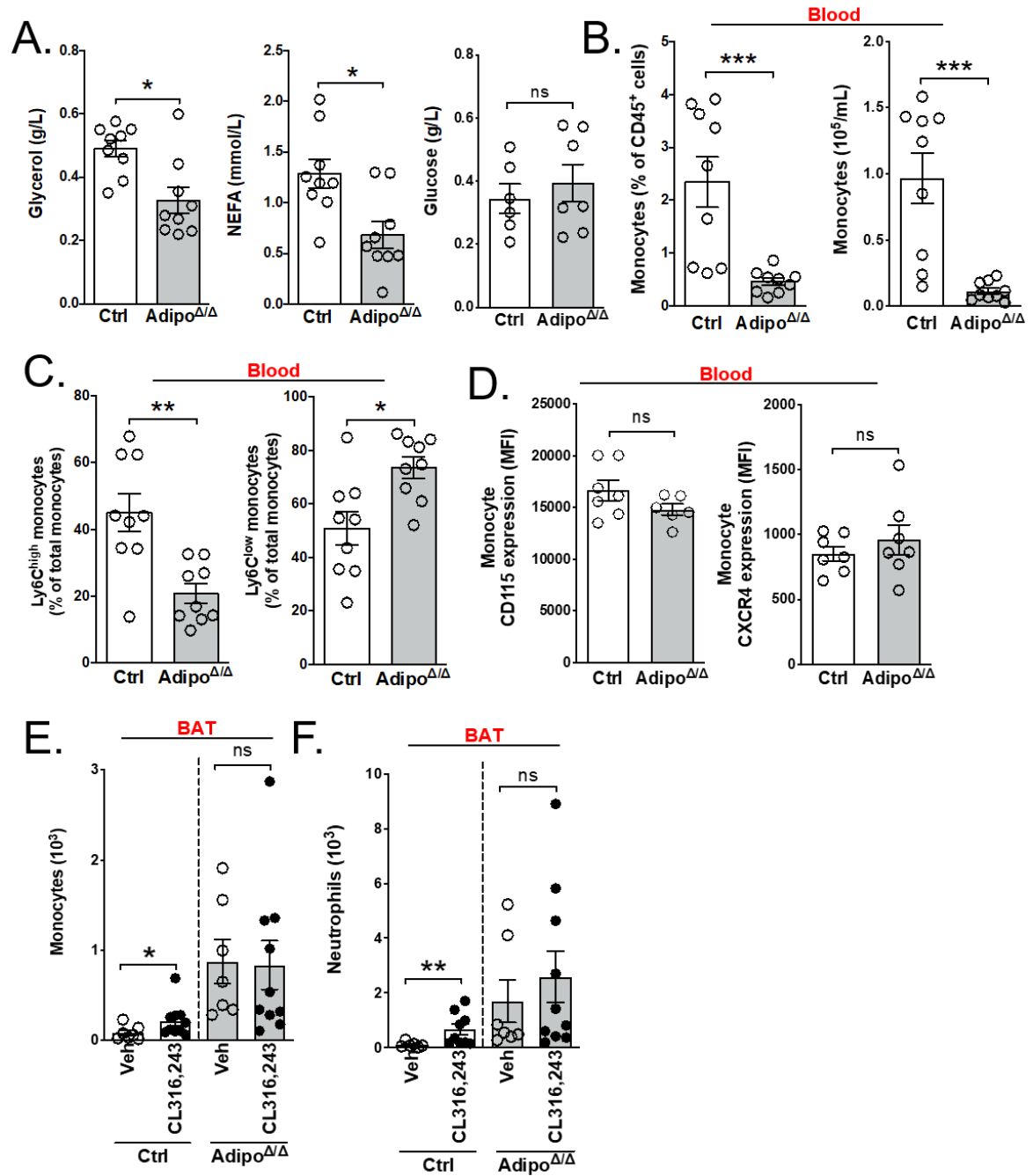


Figure S4.

(A) Glycerol, non-esterified fatty acids (NEFA) and glucose levels in Adipo^{ΔΔ} mice sera (n=9-6) compared to controls (n=9-7) at ZT3 in overnight-fasting condition.

(B) Blood monocyte frequency and number of Adipo^{ΔΔ} mice (n=9) compared to controls (n=9) at ZT3 by flow cytometry in overnight-fasting condition.

(C) Blood Ly6C^{high} and Ly6C^{low} monocyte subset frequency and number of Adipo^{ΔΔ} mice (n=9) compared to controls (n=9) at ZT3 by flow cytometry in overnight-fasting condition.

(D) Blood Monocyte CD115 and CXCR4 mean fluorescence intensity (MFI) of Adipo^{ΔΔ} mice (n=6-7) compared to controls (n=7) at ZT3 by flow cytometry in overnight-fasting condition.

(E) Blood monocyte and (F) neutrophils number at ZT3 by flow cytometry in Adipo^{ΔΔ} mice compared to controls following 2mg/kg Beta-agonist (CL316,243) (n=10) or vehicle injection (n=7).

All data are represented in means ± SEM. Day = ZT3; Night = ZT15. ns p>0,05; * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; **** p<0,0001.

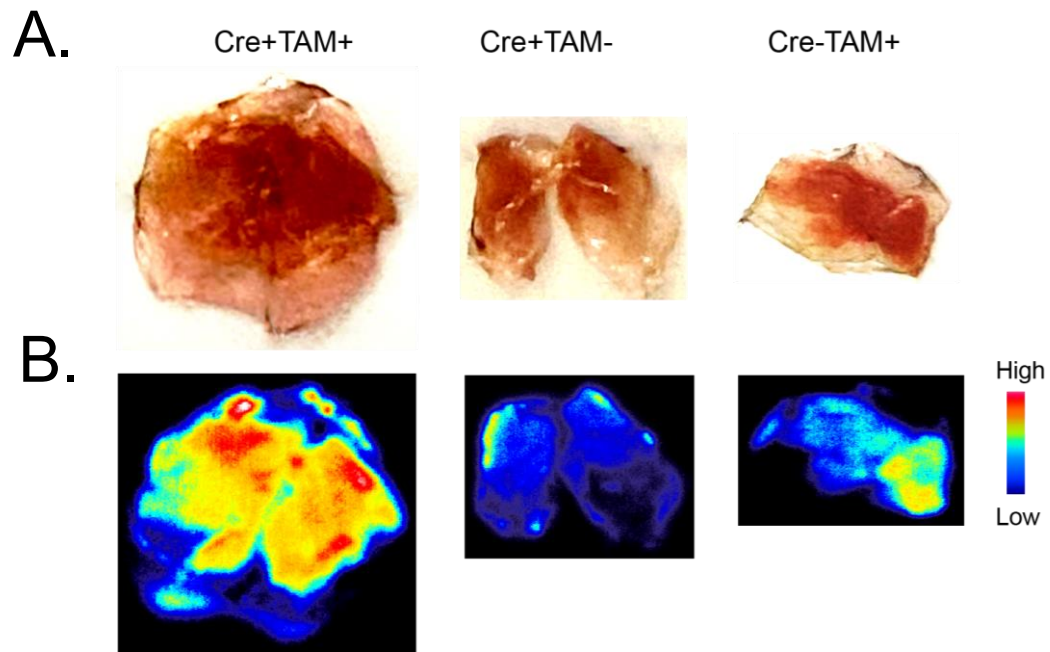


Figure S5.

(A) Representative photos showing the enlarged BAT mice in $Adipo^{\Delta\Delta}$ mice compared to control groups.

(B) Representative autoradiography images showing the increased signals in $Adipo^{\Delta\Delta}$ mice compared to control groups.

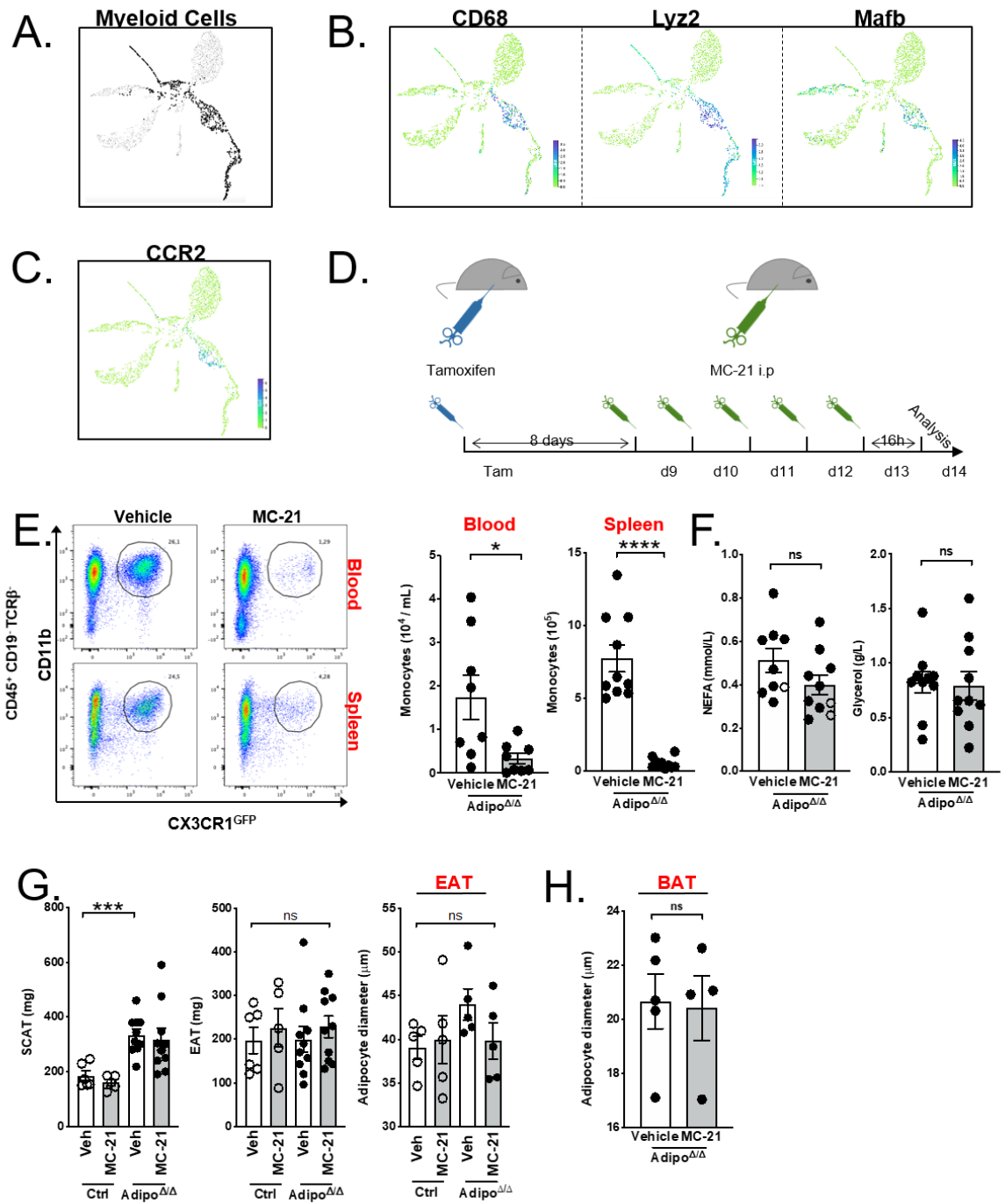


Figure S6.

(A) Single-Cell analysis of BAT myeloid cells (black dots) and their expression of (B) CD68, Lyz2, MafB and (C) CCR2 from the *Tabula Muris Senis* dataset (Tabula Muris, 2020).

(D) Schematic representation of the experimental procedure used for MC-21-mediated monocyte depletion.

(E) Representative dot plots (left) and quantification (right) of blood and spleen monocytes in MC-21 (n=8 and n=10 respectively) or vehicle (n=8 and n=10 respectively) treated Adipo^{ΔΔ} mice.

(F) Glycerol and non-esterified fatty acids (NEFA) levels in MC-21 (n=10) or vehicle (n=10) treated Adipo^{ΔΔ} mice sera.

(G) Subcutaneous adipose tissue (ScAT) and epididymal adipose tissue (EAT) weight of MC-21 or vehicle-treated control (n=6 and n=5 respectively) and Adipo^{ΔΔ} mice (n=10 and n=10 respectively). EAT adipocyte diameter measurement.

(H) Quantification of BAT unilocular adipocyte diameter and density in MC-21 (n=4) or vehicle-treated (n=5) Adipo^{ΔΔ} mice.

All data are represented in means ± SEM. ns p>0,05; * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; **** p<0,0001.

Key resources table

Reagent or resource	Source	Identifier
Antibodies		
CD115 PE (clone AFS98)	eBioscience	Cat# 12-1152-82
CD11b Brilliant Violet 510 (cloneM1/70)	Biolegend	Cat# 101263
Gr1 PerCp-Cy5.5 (clone RB6-8C5)	BD Biosciences	Cat# 552093
F4/80 PE-Cy7 (clone BM8)	Biolegend	Cat# 123114
CD45 APC-Cy7 (clone 30-F11)	BD Biosciences	Cat# 557659
CD64 Brilliant Violet 421 = Fc γ RI (clone X54-5/7.1)	Biolegend	Cat# 139309
CCR2 APC = CD192 (clone SA203G11)	Biolegend	Cat# 150604
CD19 FITC (clone 6D5)	Biolegend	Cat# 115506
CD301 FITC (clone ER-MP23)	Bio-Rad	Cat# MCA2392
MerTK PE (clone 2B10C42)	Biolegend	Cat# 151506
CD11c PE-Cy7 (clone HL3)	BD Biosciences	Cat# 558079
MHC II IA/IE APC (clone M5/114.15.2)	Biolegend	Cat# 107618
CD206 PerCp-Cy5.5 (clone C068C2)	Biolegend	Cat# 141715
TCR β PB (clone H57-597)	Biolegend	Cat# 109226
CD5 APC (clone 53-7.3)	Biolegend	Cat# 100614
CD4 APC (clone GK1.5)	Biolegend	Cat# 100424
CD8 APC (clone 53-6.7)	Biolegend	Cat# 100724
CD3 APC (clone 17A2)	Biolegend	Cat# 100236
NK1.1 APC (clone PK136)	Biolegend	Cat# 108720
Ter119 APC (clone TER-119)	Biolegend	Cat# 116212
B220 APC (clone RA3-6B2)	BD Biosciences	Cat# 561226
CD19 APC (clone REA749)	Miltenyi Biotec	Cat# 130-111-884
CD150 PE-Cy7 (clone TC15-12F12.2)	Biolegend	Cat# 115914
Sca1 PB (clone D7)	Biolegend	Cat# 108120
c-Kit APC-Cy7 (clone ACK2)	eBioscience	Cat# 47-1172-82
CD48 AF488 (clone HM48-1)	Biolegend	Cat# 103414
CXCR4 APC = CD184 (clone 2B11)	eBioscience	Cat# 51-9991-80
CD44 PE-Cy7 (clone IM7)	Biolegend	Cat# 103029
CD11b APC (clone M1/70)	Biolegend	Cat# 101218
MC-21	Dr Mack M.	
Podoplanin (clone 8.1.1)	BioXCell	Cat# BE0236
Ly6G Biotin (clone REA526)	Miltenyi biotec	Cat# 130-116-512
CD3 Biotin (clone REA641)	Miltenyi biotec	Cat# 130-123-861
B220 Biotin (clone REA755)	Miltenyi biotec	Cat# 130-110-844
NK1.1 Biotin (clone REA1162)	Miltenyi biotec	Cat# 130-120-513
Ter-119 Biotin (clone Ter-119)	Miltenyi biotec	Cat# 130-120-828
Chemicals, Peptides, and Recombinant Proteins		
DAPI	Sigma	Cat# D9542
Phalloidin Texas Red	Invitrogen	Cat# T7471
PFA 4%	VWR International	Cat# 9713.1000
Bovine serum Albumin (BSA)	Sigma	Cat# A7030
Tamoxifen	Sigma	Cat# T5648
RPMI medium	Life Technologies	Cat# 21875091
DMEM medium	Life Technologies	Cat# 11960044
Collagenase A	Sigma	Cat# 11088793001
Collagenase D	Sigma	Cat# 11088882001

IHC Antigen retrieval solution	eBiosciences	Cat# 00-4955-58
ImmunoHistoMount	Sigma	Cat# I1161
Thiazolyl blue tetrazolium bromide	Sigma	Cat# M2128
Fetal bovine serum	Fisher Scientific	Cat# 12350273
Lysing buffer	BD Biosciences	Cat# 555899
L-Glutamine	Life Technologies	Cat# 25030024
Penicillin Streptomycin	Life Technologies	Cat# 15070063
Sodium Pyruvate	Life Technologies	Cat# 11360039
Free glycerol reagent	Sigma	Cat# F6428
Power SYBR™ green PCR Master Mix	Applied Biosystems	Cat# 4367659
RIPA buffer	Cell signaling	Cat# 9806
Anti-Biotin MicroBeads	Miltenyi Biotec	Cat# 130-090-858

Critical commercial Assays

High-Capacity cDNA reverse transcription kit	Applied Biosystems	Cat# 4368814
Kit Elisa CCL2 mouse	Bio-Techne	Cat# DY479-05
RNeasy Plus Mini Kit (250)	QIAGEN	Cat# 74136
Mouse CXCL12/SDF-1 DuoSet ELISA	Bio-Techne	Cat# DY460
(Stromal Cell Derived Factor 1), Human, Elisa Kit	EUROMEDEX	Cat# EH3755
NEFA-HR2 R1 + R2 FUJFILM	WAKO	Cat# W1W270-77000
Glucose dosage Kit	BioSentec	Cat# 075
BrdU APC Staining Kit	ThermoFisher	Cat# 8817-6600-42
0.4 µm Cell culture Inserts 24 well format	Falcon	Cat# 353095

Experimental models: Organisms/Strains

Mouse: C57BL/6-Tg(Adipoq-cre/ERT2)1Soff/J	The Jackson laboratory	JaxStock# 025124
Mouse: B6N.129S-Pnpla2 ^{tm1Eek} /J	The Jackson laboratory	JaxStock# 024278
Mouse: B6.129P-Cx3cr1 ^{tm1Litt} /J	The Jackson laboratory	JaxStock# 008451
Mouse: B6.Cg-Gt(ROSA)26Sor ^{tm9(CAG-tdTomato)Hze} /J	The Jackson laboratory	JaxStock# 007909
Cell line: Mouse Embryonic Fibroblasts (MEFs)	Dr Clavel S., INSERM U1065	N/A

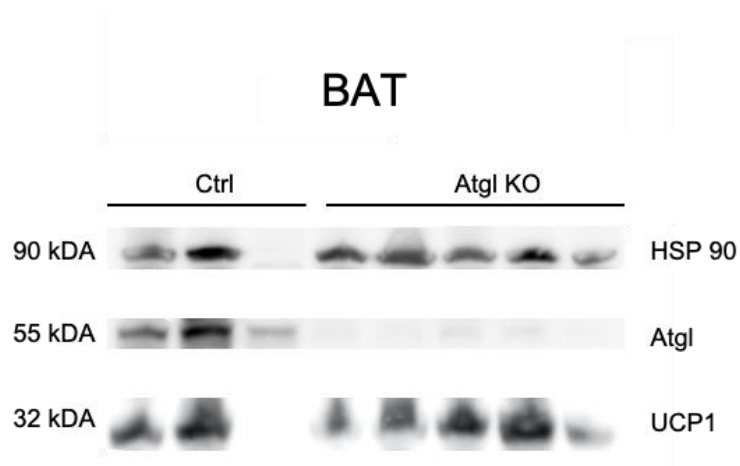
Accessories

Vented animal cabinet	Noroit	Cat# A-BOX 80
StepOne	Applied Biosystem	N/A
Thermo Cycler SimpliAmp	Applied Biosystem	N/A
Nanodrop	OZYME	
MACS Multistand	Miltenyi Biotec	Cat# 130-042-303
MACS LS Columns	Miltenyi Biotec	Cat# 130-042-401

Software and Algorithm

Prism6	GraphPad	N/A
FlowJo	Tree Star	N/A
Fuji	Fiji	N/A
GENEsys	Syngene	N/A
StepOne Software v.2.2.2	Applied Biosystem	N/A

Annexe



Expression protéique d'Atgl et UCP1 du tissu adipeux brun.

Analyse par western blot de l'expression protéique d'ATGL et UCP1 dans le tissu adipeux brun des souris contrôles (Ctrl) (n=3) et Adipo^{ΔΔ} (n=5), en comparaison au gène de ménage HSP 90.

Discussion

Mes travaux de thèse mettent en évidence pour la première fois l'importance des acides gras dans le contrôle de la dynamique des monocytes vers le tissu adipeux brun et leur contribution dans le remodelage de ce tissu. Nos résultats montrent en effet que les acides gras issus de la lipolyse du tissu adipeux (AT), et plus précisément les acides gras à longue chaîne, corrélient avec la disponibilité des monocytes dans la circulation sanguine.

Les acides gras issus de la lipolyse du AT ne contrôlent pas l'hématopoïèse.

Le nombre de monocytes présents dans la circulation reflète la balance entre leur génération au sein de la moelle osseuse et leur recrutement dans les tissus périphériques (Molawi et al., 2014; Patel et al., 2017; Serbina and Pamer, 2006; Swirski et al., 2009). De façon surprenante, l'inhibition spécifique de la lipolyse du AT n'altère pas de façon significative la génération, le nombre, la survie ou encore les axes chimiotactiques responsables de la mobilisation des monocytes vers la circulation sanguine. La moelle osseuse contient cependant un nombre important d'adipocytes dont le rôle dans l'hématopoïèse est encore mal défini (Fazeli et al., 2013; Horowitz et al., 2017). De façon intéressante, l'apport d'acides gras lors d'une restriction calorique repose spécifiquement sur le processus de lipolyse des tissus adipeux périphériques (Cawthorn et al., 2014; Devlin et al., 2010), et entraîne au contraire une expansion du tissu adipeux de la moelle osseuse (BMAT) (Cawthorn et al., 2014; Ghali et al., 2016). Chez l'Homme, les adipocytes de la moelle osseuse présentent également une diminution de l'expression des gènes de la lipolyse en comparaison aux adipocytes du SCAT suggérant une activité et un impact moindre de la lipolyse dans ce compartiment (Attané et al., 2020). Ces données suggèrent donc la lipolyse du tissu adipeux n'est pas essentielle au compartiment médullaire. Afin de mieux appréhender le rôle précis des acides gras issus de la lipolyse du BMAT dans l'hématopoïèse, il serait intéressant de développer des modèles murins permettant d'éliminer les adipocytes de la moelle osseuse de façon spécifique, tout en préservant les adipocytes périphériques. Cependant, l'absence d'adipocytes matures médullaires suite à une irradiation chez la souris est associée à un défaut du repeuplement de la moelle osseuse, leur attribuant un rôle de régulateur de l'hématopoïèse et de maintien des HSC (Naveiras et al., 2009). De plus, les adipocytes sont des acteurs essentiels à la survie des HSC à travers la production de CSF-1 (Zhou et al., 2017). De ce fait, la découverte et la validation de promoteurs

exclusifs et spécifiques des adipocytes du BMAT associés à l'inhibition de l'expression d'Atgl permettraient de déterminer le rôle précis que jouent ces adipocytes dans le contrôle de l'homéostasie monocyttaire.

Les acides gras issus de la lipolyse du AT contrôlent le rythme circadien des monocytes sanguins.

La mobilisation des acides gras dans la circulation sanguine est régulée de façon circadienne (Kooijman et al., 2015; Tse et al., 2018; Yu et al., 2011). En effet, le rythme circadien des acides gras reflète la modulation des voies de signalisation régulant l'apport des nutriments par la nourriture la nuit, et le déstockage des acides gras durant la journée chez la souris (Panda et al., 2002; Paschos et al., 2012; Yu et al., 2011). Notre modèle d'inhibition de la lipolyse du tissu adipeux est un modèle inductible qui permet de provoquer l'inhibition d'Atgl spécifiquement à l'âge adulte et d'éviter les éventuelles compensations et problèmes développementaux associés à une lipolyse altérée qui fausseraient nos observations. Il est également important de noter que l'enzyme HSL possède la capacité d'initier l'hydrolyse des TG dans le tissu adipeux (Schweiger et al., 2006) et donc que notre modèle d'inhibition n'est pas total. En revanche la contribution de HSL reste minime (Haemmerle et al., 2002; Schweiger et al., 2006), nous permettant ainsi d'attribuer nos résultats à l'inhibition effective de la lipolyse du tissu adipeux dépendante d'Atgl. L'inhibition du rythme circadien des acides gras circulants dans notre modèle murin reflète donc l'absence de lipolyse prenant place la journée, entraînant un taux constant d'acides gras et de glycérol similaire à celui observé la nuit. De façon très intéressante, l'absence de rythme circadien des AG est également corrélée dans notre modèle à une perte du rythme circadien monocyttaire dans la circulation sanguine sans altération de leur survie suggérant le contrôle des acides gras sur la mobilisation des monocytes.

L'inhibition de la lipolyse du AT entraîne un statut inflammatoire à très bas bruit spécifiquement dans le BAT.

L'absence d'altération du compartiment médullaire et de la survie des monocytes sanguins, ainsi que l'expression accrue du récepteur CCR2 en leur surface suggèrent donc le recrutement des monocytes Ly6C^{high} vers les tissus périphériques (Lavin et al., 2014; Swirski et al., 2009). Cependant de façon surprenante, seul le BAT présente un nombre accru de monocytes et de macrophages. Ces résultats semblent donc suggérer l'induction d'une inflammation à très bas

bruit suite à l'inhibition de la lipolyse du tissu adipeux, localisée et spécifique au BAT jusqu'ici jamais identifiée à notre connaissance.

Dans le WAT, le recrutement des monocytes contribue à la résolution de l'inflammation (Kamei et al., 2006; Kanda, 2006). A l'état physiologique, le stock de macrophages est maintenu au cours du temps à travers leur capacité d'auto-renouvellement et possèdent essentiellement un rôle anti-inflammatoire (Amano et al., 2014; Hassnain Waqas et al., 2017; Ramon et al., 2016; Sorisky et al., 2013; Zamarron et al., 2017). Dans le BAT, les macrophages et monocytes pourraient jouer un rôle similaire qui reste cependant à déterminer (Ivanov et al., 2018). De façon intéressante, la disponibilité réduite des acides gras dans notre modèle entraîne le recrutement des monocytes Ly6C^{high} vers le BAT associé à l'augmentation de l'expression du marqueur de surface MHC II sur les monocytes. L'expression de ce marqueur est augmentée sur les monocytes suite à leur entrée dans les tissus périphériques (Jakubzick et al., 2013), confirmant leur recrutement récent dans notre modèle. Ce recrutement est associé à une diminution d'expression des marqueurs CD206 et CD301 typiquement associés aux macrophages anti-inflammatoire M2 (Lumeng et al., 2008). Par ailleurs, l'expression du marqueur CD11c, spécifique des macrophages M1 (Lumeng et al., 2008), est inchangée dans les souris déficientes pour la lipolyse du tissu adipeux. Ces résultats suggèrent deux possibilités : (1) les macrophages présentent un état d'activation particulier au sein du BAT qui ne dépend pas de l'expression des marqueurs CD206 et CD301, à l'image des travaux de Becker et coll. qui remettent en question le profil d'activation classique M1/M2 des macrophages dans le tissu adipeux (Coats et al., 2017; Kratz et al., 2014), (2) il existe au sein du tissu adipeux brun un autre type de population responsable de l'inflammation qui n'a pas encore été identifié. De façon intéressante dans le WAT, l'inflammation est associée à l'utilisation majoritaire de la FAO par les macrophages suggérant que l'inflammation du tissu soit essentiellement dû au nombre de macrophages présents plutôt qu'à leur état d'activation (Xu et al., 2013). Ainsi, le recrutement des monocytes pourrait également être responsable des changements observés dans le BAT, indifféremment de l'état d'activation des macrophages résidents. Afin de conclure sur ces observations, il serait intéressant d'étudier le profil métabolique et la signature transcriptionnelle des macrophages et monocytes du BAT et de déterminer précisément leur état d'activation dans un contexte de disponibilité lipidique limitée. De même, il est nécessaire d'étudier le profil cytokinique du BAT pour déterminer l'importance de l'inflammation et son impact sur l'organisme. L'utilisation de la nouvelle technologie SCENITH (ZENITH) (Argüello et al., 2020) permettrait notamment d'identifier par cytométrie en flux les différentes

signatures métaboliques exprimées au sein d'une même population cellulaire et de définir leur rôle précis dans l'inflammation du BAT. Finalement, l'utilisation d'un promoteur spécifique des adipocytes du BAT (Ucp1^{cre}) associé à l'inhibition ciblée d'ATGL, permettrait de savoir si le recrutement des monocytes est dépendant spécifiquement des niveaux d'acide gras au sein du BAT ou s'il s'agit d'un effet systémique.

Le recrutement des monocytes vers le BAT entraîne le *whitening* du tissu mais n'altère par la thermogénèse.

L'inhibition de la lipolyse du tissu adipeux entraîne l'accumulation de TG dans les gouttelettes lipidiques des adipocytes (Olzmann and Carvalho, 2019). De façon intéressante, nos résultats montrent que le recrutement des monocytes est également corrélé avec la formation d'adipocytes similaires à des adipocytes blancs possédant une unique gouttelette lipidique et responsable du *whitening* du BAT. Par ailleurs, le *whitening* est associé à un défaut de thermogénèse et de dépense énergétique (Kotzbeck et al., 2018). Ces observations semblent indiquer que le recrutement des monocytes en l'absence de lipolyse du AT pourrait contribuer à un défaut de thermogénèse dans les souris Adipo^{ΔΔ}. Cependant, nous n'avons pas détecté d'altération de l'expression de la protéine UCP1 (Annexe), essentielle au découplage de la respiration mitochondriale pour la production de chaleur (Nicholls, 2017). Ces résultats concordent avec ceux de Schreiber et coll., montrant que l'inhibition spécifique d'Atgl suite à une exposition au froid n'induit pas de défaut de thermogénèse dans le tissu adipeux brun (Schreiber et al., 2017). Dans le SCAT, les monocytes et les macrophages sont au contraire impliqués dans l'innervation du tissu, le *browning* des adipocytes, et participent à l'activation de la thermogénèse (Qiu et al., 2014), suggérant un mécanisme différent selon le type de tissu adipeux. Chez la souris, l'activation du BAT par administration d'un agoniste des récepteurs β-3 adrénergiques stimule la lipolyse du tissu adipeux et est associée au recrutement de monocytes et de neutrophiles *in situ* ainsi qu'à un profil pro-inflammatoire (Mottillo et al., 2007; Silva et al., 2019). En revanche, l'activation des récepteurs adrénergiques par un agoniste synthétique en absence de lipolyse du AT n'entraîne pas d'accumulation de monocytes chez nos souris. Nos résultats suggèrent donc que la lipolyse est essentielle pour l'infiltration des monocytes dans le BAT suite à la stimulation β-3 adrénergique.

Les monocytes sont responsables du remodelage du BAT.

L'utilisation d'un inhibiteur spécifique du récepteur CCR2 est un outil très efficace pour étudier l'implication des monocytes dans les processus biologiques. De façon intéressante, la déplétion des monocytes sanguins par un anticorps dirigé spécifiquement contre le récepteur CCR2 (Mack et al., 2001) entraîne également la déplétion des monocytes au sein du BAT. Dans ce modèle, l'absence de monocytes est associée à la formation d'un nombre important de *crown-like structures* (CLS) aux abords des adipocytes. Les CLS se forment notamment à proximité des adipocytes nécrotiques et sont le siège de la prolifération des macrophages *in situ* (Cinti et al., 2005; Hill et al., 2018). Cependant, les CSL sont également rencontrées dans les tissus adipeux en l'absence d'inflammation. Par exemple, la thermo-neutralité, c'est à dire lorsque la thermogenèse n'est pas requise par l'organisme pour maintenir sa température corporelle, entraîne le *whitening* du BAT, également associé à la formation de CLS (Kotzbeck et al., 2018). Ainsi les CSL sont potentiellement le simple reflet des modifications morphologiques qui s'opèrent dans le tissu. Cependant, il est à noter que la perte des monocytes de la circulation sanguine pourrait potentiellement induire des défauts d'intégrité de l'endothélium vasculaire menant à une fuite de cellules circulantes (leucocytes ou érythrocytes) vers les tissus périphériques et contribuant ainsi à nos observations. Afin de contrer ces effets, il serait intéressant de développer des stratégies génétiques permettant de cibler spécifiquement les monocytes entrant dans le BAT, notamment à travers l'expression de marqueurs spécifiques exprimés par les monocytes nouvellement recrutés. Cependant, dans notre modèle, la déplétion des monocytes du BAT est également associée à la diminution du poids du tissu. Ces résultats indiquent donc que les monocytes jouent un rôle sur l'expansion du tissu et suggèrent l'existence d'un dialogue entre les monocytes recrutés et la matrice extracellulaire responsable de l'extensibilité du tissu. La formation des CLS dans notre modèle d'inhibition de CCR2 serait donc le reflet d'un stress mécanique induit par l'absence des monocytes, empêchant le *whitening* et l'expansion du BAT. En effet, l'expansion des tissus périphériques dépend notamment de modifications morphologiques qui s'opèrent au sein de la matrice extracellulaire. Au sein des ganglions lymphatiques, les fibroblastes sont les cellules impliquées dans leurs changements morphologiques (Acton et al., 2014; Astarita et al., 2015). De façon très intéressante, *in vitro*, notre modèle de co-culture semble indiquer que les monocytes jouent un rôle dans l'allongement des fibroblastes et de leurs protrusions. *In vivo*, les cellules dendritiques ont la capacité de moduler la contractilité des fibroblastes dans les ganglions lymphatiques (Acton et al., 2014), suggérant que les cellules immunitaires sont potentiellement capables

d'influencer le remodelage des tissus à travers leur interaction avec les fibroblastes. Par ailleurs, la liaison de Clec2 (C-type lectin-like receptor 2) à la podoplanine exprimée en surface des fibroblastes est responsable de la contractilité de ces derniers (Fu and Xia, 2016; Suzuki-Inoue et al., 2007). Nos résultats montrent en effet que la podoplanine est associée aux changements morphologiques que nous observons sur les fibroblastes. Cependant de façon très surprenante, le contact cellule-cellule ne semble pas être un facteur indispensable dans notre modèle *in vitro*. Ces résultats semblent indiquer que les monocytes libèrent dans le milieu des facteurs solubles responsables de la décontraction des fibroblastes. L'identification de ces facteurs par des approches de détection pharmacologiques permettrait de définir leur rôle de façon précise et de comprendre l'importance du dialogue et/ou de l'interaction fibroblaste-monocyte dans le tissu adipeux brun et les changements morphologiques associés. L'ensemble de ces résultats soulèvent de nouvelles questions : les monocytes ont-ils un impact direct sur la morphologie et le *whitening* des adipocytes bruns à travers la sécrétion de cytokines particulières ? Les monocytes sont-ils responsables de la décontraction des fibroblastes *in vivo*, pouvant induire le remodelage de la matrice extracellulaire et la sécrétions de signaux responsables de l'expansion des adipocytes bruns et de leur *whitening*, ayant pour conséquence l'expansion du tissu ?

Perspectives

Un rôle du rythme circadien ?

Notre étude met en lumière de nouvelles pistes dans la compréhension et la régulation des tissus adipeux, nécessitant de plus amples investigations. Le recrutement des monocytes vers le BAT est-il également soumis aux variations circadiennes observées ? Les acides gras ont-ils un impact sur le contrôle circadien des monocytes ou bien est-ce que le recrutement massif et systématique des monocytes vers le BAT ne permet pas l'accumulation de ces derniers dans le sang, nous empêchant d'observer leur rythme ? Par ailleurs, des expériences de parabiose permettraient d'interconnecter les systèmes sanguins de souris contrôles et de souris déficientes pour *Atgl* afin de déterminer si l'apport d'acide gras par la circulation sanguine de la souris contrôlée permet de rétablir le phénotype du BAT des souris *Adipo^{ΔΔ}* et de préciser ainsi la part que joue l'inhibition d'*Atgl* dans le BAT.

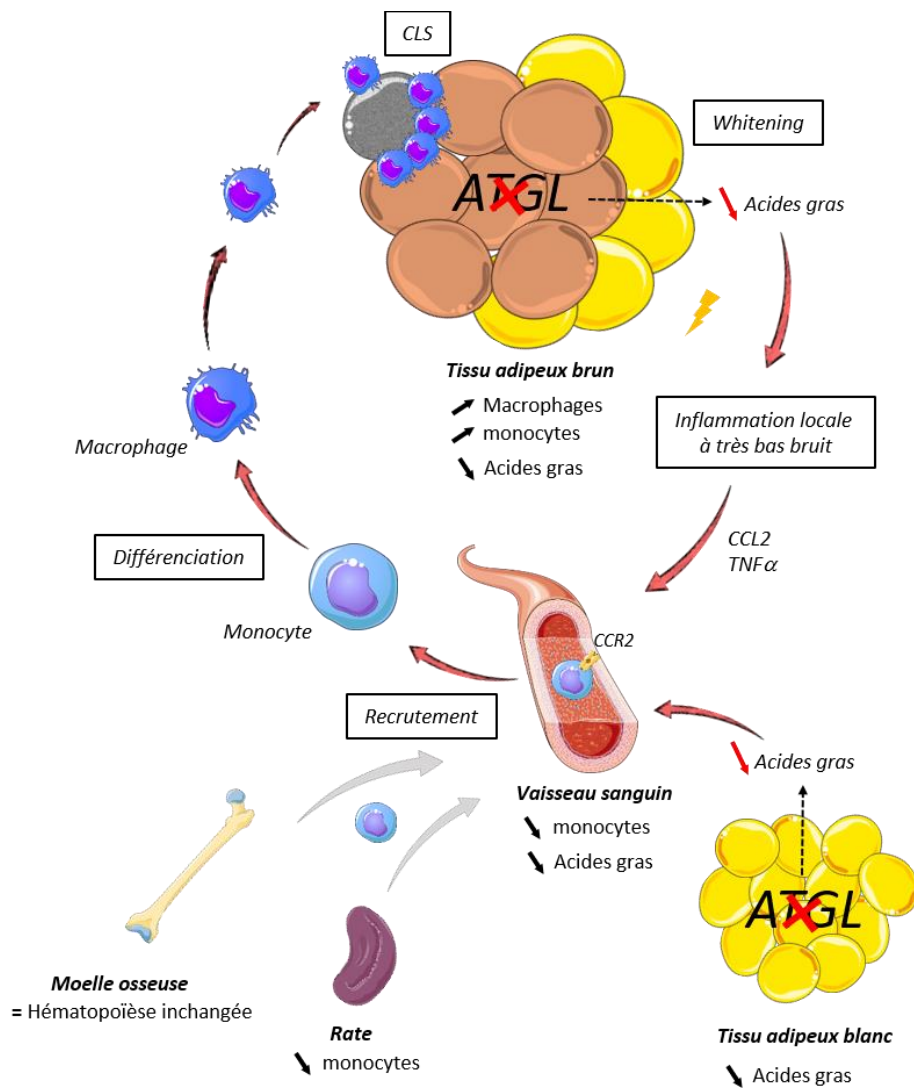
Conséquences cardio-métaboliques ?

Le dérèglement de la balance énergétique est notamment associé au développement de maladies cardio-métaboliques dont l'incidence est en constante augmentation (Manzel et al., 2014). Ces pathologies se traduisent par une inflammation chronique à bas bruit, entraînant l'attraction de cellules immunitaires sur le site de l'inflammation contribuant à la mise en place d'un cercle vicieux responsable de l'aggravation de la pathologie (Lumeng and Saltiel, 2011). Dans le cas de l'athérosclérose et de l'obésité, l'augmentation du nombre de monocytes circulants est notamment un facteur de risque indépendant (Breznik et al., 2018; Nasir et al., 2005; Tacke et al., 2007). De ce fait, le contrôle des monocytes semble être une piste prometteuse. Le développement d'antagonistes pour le récepteur CCR2 est actuellement une piste thérapeutique très convoitée. L'inhibition de CCR2, associée à la diminution du recrutement des monocytes, semble notamment très prometteuse dans le contrôle du diabète de type 2, le VIH ou encore les cancers (Lefebvre et al., 2016); Clinical trials NCT01712061). Cependant, l'utilisation d'un antagoniste de CCR2 ne permet pas d'agir en amont et de prévenir la mise en place de la pathologie. Dans les maladies cardio-métaboliques telles que l'obésité ou l'athérosclérose, l'hyperlipidémie est un facteur de risque prédictif. Il est donc important de développer une stratégie permettant de réduire les niveaux lipidiques circulants. De ce fait, notre modèle semble être une piste prometteuse sur le long terme dans la prévention de ces

pathologies. L'inhibition de la lipolyse du AT permettrait en effet de diminuer l'hyperlipidémie des patients dès leur détection par prise sang. Les souris déficientes pour la lipolyse du tissu adipeux ne présentent en effet pas de susceptibilité au développement de l'obésité se traduisant par une meilleure tolérance au glucose et sensibilité à l'insuline (Hoy et al., 2011). L'absence de perturbation du métabolisme du glucose semble donc indiquer une certaine protection contre le développement de maladies métaboliques dans ce modèle. Par ailleurs, les modifications morphologiques du BAT associées au recrutement des monocytes sanguins semblent être un mécanisme permettant de limiter le stress mécanique du tissu via son expansion et le *whitening* des adipocytes. De ce fait, les monocytes contribueraient au maintien de l'homéostasie du BAT. De plus, l'absence d'inflammation dans les autres organes semble indiquer un réel effet protecteur de l'inhibition de la lipolyse du tissu adipeux. Cependant, ces résultats ont été obtenus chez la souris et doivent donc encore être confirmés chez l'Homme dans l'optique de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Conclusion générale

Dans cette étude nous avons donc pu mettre en évidence que l'inhibition de la lipolyse du tissu adipeux entraîne le recrutement spécifique des monocytes sanguins vers le BAT à travers l'expression de CCR2. L'accumulation des monocytes est ainsi responsable de la mise en place d'un contexte pro-inflammatoire à très bas bruit dans ce tissu, indépendant de l'hématopoïèse médullaire. Nos résultats nous permettent également de proposer un tout nouveau mécanisme selon lequel les monocytes contribuent à l'expansion du tissu adipeux brun à travers la sécrétion de médiateurs solubles, permettant de contrôler la contractilité des fibroblastes et facilitant ainsi l'expansion du tissu.



References bibliographiques

Acar, M., Kocherlakota, K.S., Murphy, M.M., Peyer, J.G., Oguro, H., Inra, C.N., Jaiyeola, C., Zhao, Z., Luby-Phelps, K., and Morrison, S.J. (2015). Deep imaging of bone marrow shows non-dividing stem cells are mainly perisinusoidal. *Nature* 526, 126–130.

Ackermann, M., Liebhaber, S., Klusmann, J., and Lachmann, N. (2015). Lost in translation: pluripotent stem cell-derived hematopoiesis. *EMBO Mol. Med.* 7, 1388–1402.

Acton, S.E., Farrugia, A.J., Astarita, J.L., Mourão-Sá, D., Jenkins, R.P., Nye, E., Hooper, S., van Blijswijk, J., Rogers, N.C., Snelgrove, K.J., et al. (2014). Dendritic cells control fibroblastic reticular network tension and lymph node expansion. *Nature* 514, 498–502.

Adolfsson, J., Månsson, R., Buza-Vidas, N., Hultquist, A., Liuba, K., Jensen, C.T., Bryder, D., Yang, L., Borge, O.-J., Thoren, L.A.M., et al. (2005). Identification of Flt3+ Lympho-Myeloid Stem Cells Lacking Erythro-Megakaryocytic Potential. *Cell* 121, 295–306.

Ahmadian, M., Wang, Y., and Sul, H.S. (2010). Lipolysis in adipocytes. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 42, 555–559.

Ajami, B., Bennett, J.L., Krieger, C., Tetzlaff, W., and Rossi, F.M.V. (2007). Local self-renewal can sustain CNS microglia maintenance and function throughout adult life. *Nat. Neurosci.* 10, 1538–1543.

Ajami, B., Bennett, J.L., Krieger, C., McNagny, K.M., and Rossi, F.M.V. (2011). Infiltrating monocytes trigger EAE progression, but do not contribute to the resident microglia pool. *Nat. Neurosci.* 14, 1142–1149.

Alexander, C.M., Kasza, I., Yen, C.-L.E., Reeder, S.B., Hernando, D., Gallo, R.L., Jahoda, C.A.B., Horsley, V., and MacDougald, O.A. (2015). Dermal white adipose tissue: a new component of the thermogenic response. *J. Lipid Res.* 56, 2061–2069.

Alliot, F., Godin, I., and Pessac, B. (1999). Microglia derive from progenitors, originating from the yolk sac, and which proliferate in the brain. *Dev. Brain Res.* 117, 145–152.

Alvarez-Curto, E., and Milligan, G. (2016). Metabolism meets immunity: The role of free fatty acid receptors in the immune system. *Biochem. Pharmacol.* 114, 3–13.

Amano, S.U., Cohen, J.L., Vangala, P., Tencerova, M., Nicoloro, S.M., Yawe, J.C., Shen, Y., Czech, M.P., and Aouadi, M. (2014). Local Proliferation of Macrophages Contributes to Obesity-Associated Adipose Tissue Inflammation. *Cell Metab.* 19, 162–171.

Arch, J.R.S. (2011). Challenges in β 3 -adrenoceptor agonist drug development. *Ther. Adv. Endocrinol. Metab.* 2, 59–64.

Ardawi, M.S.M., and Newsholme, E.A. (1983). Glutamine metabolism in lymphocytes of the rat. *Biochem. J.* 212, 835–842.

Argüello, R.J., Combes, A.J., Char, R., Bousiquot, E., Gigan, J.-P., Camosseto, V., Samad, B., Tsui, J., Yan, P., Boissoneau, S., et al. (2020). ZENITH: A flow cytometry based method for functional profiling energy metabolism with single cell resolution (*Immunology*).

Astarita, J.L., Cremasco, V., Fu, J., Darnell, M.C., Peck, J.R., Nieves-Bonilla, J.M., Song, K., Kondo, Y., Woodruff, M.C., Gogineni, A., et al. (2015). The CLEC-2–podoplanin axis controls the contractility of fibroblastic reticular cells and lymph node microarchitecture. *Nat. Immunol.* 16, 75–84.

Atit, R., Sgaier, S.K., Mohamed, O.A., Taketo, M.M., Dufort, D., Joyner, A.L., Niswander, L., and Conlon, R.A. (2006). β -catenin activation is necessary and sufficient to specify the dorsal dermal fate in the mouse. *Dev. Biol.* 296, 164–176.

Attané, C., Estève, D., Chaoui, K., Iacovoni, J.S., Corre, J., Moutahir, M., Valet, P., Schiltz, O., Reina, N., and Muller, C. (2020). Human Bone Marrow Is Comprised of Adipocytes with Specific Lipid Metabolism. *Cell Rep.* 30, 949-958.e6.

Auffray, C., Fogg, D., Garfa, M., Elain, G., Join-Lambert, O., Kayal, S., Sarnacki, S., Cumano, A., Lauvau, G., and Geissmann, F. (2007). Monitoring of Blood Vessels and Tissues by a Population of Monocytes with Patrolling Behavior. *Science* 317, 666–670.

Babaev, V.R., Runner, R.P., Fan, D., Ding, L., Zhang, Y., Tao, H., Erbay, E., Görgün, C.Z., Fazio, S., Hotamisligil, G.S., et al. (2011). Macrophage *Mall* Deficiency Suppresses Atherosclerosis in Low-Density Lipoprotein Receptor–Null Mice by Activating Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ –Regulated Genes. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31, 1283–1290.

Bachman, E.S. (2002). beta AR Signaling Required for Diet-Induced Thermogenesis and Obesity Resistance. *Science* 297, 843–845.

Baglietto-Vargas, D., López-Téllez, J.F., Moreno-González, I., Gutiérrez, A., and Aledo, J.C. (2004). Segregation of two glutaminase isoforms in islets of Langerhans. *Biochem. J.* 381, 483–487.

Bain, C.C., Scott, C.L., Uronen-Hansson, H., Gudjonsson, S., Jansson, O., Grip, O., Guilliams, M., Malissen, B., Agace, W.W., and Mowat, A.M. (2013). Resident and pro-

inflammatory macrophages in the colon represent alternative context-dependent fates of the same Ly6Chi monocyte precursors. *Mucosal Immunol.* 6, 498–510.

Bain, C.C., Bravo-Blas, A., Scott, C.L., Gomez Perdiguero, E., Geissmann, F., Henri, S., Malissen, B., Osborne, L.C., Artis, D., and Mowat, A.M. (2014). Constant replenishment from circulating monocytes maintains the macrophage pool in the intestine of adult mice. *Nat. Immunol.* 15, 929–937.

Bal, N.C., Maurya, S.K., Sopariwala, D.H., Sahoo, S.K., Gupta, S.C., Shaikh, S.A., Pant, M., Rowland, L.A., Bombardier, E., Goonasekera, S.A., et al. (2012). Sarcolipin is a newly identified regulator of muscle-based thermogenesis in mammals. *Nat. Med.* 18, 1575–1579.

Barbosa, A.D., and Siniossoglou, S. (2017). Function of lipid droplet-organelle interactions in lipid homeostasis. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res.* 1864, 1459–1468.

Barr, V.A., Malide, D., Zarnowski, M.J., Taylor, S.I., and Cushman, S.W. (1997). Insulin Stimulates Both Leptin Secretion and Production by Rat White Adipose Tissue. *Endocrinology* 138, 4463–4472.

Baseler, W.A., Davies, L.C., Quigley, L., Ridnour, L.A., Weiss, J.M., Hussain, S.P., Wink, D.A., and McVicar, D.W. (2016). Autocrine IL-10 functions as a rheostat for M1 macrophage glycolytic commitment by tuning nitric oxide production. *Redox Biol.* 10, 12–23.

Batch, B.C., Shah, S.H., Newgard, C.B., Turer, C.B., Haynes, C., Bain, J.R., Muehlbauer, M., Patel, M.J., Stevens, R.D., Appel, L.J., et al. (2013). Branched chain amino acids are novel biomarkers for discrimination of metabolic wellness. *Metabolism* 62, 961–969.

Beattie, L., Sawtell, A., Mann, J., Frame, T.C.M., Teal, B., de Labastida Rivera, F., Brown, N., Walwyn-Brown, K., Moore, J.W.J., MacDonald, S., et al. (2016). Bone marrow-derived and resident liver macrophages display unique transcriptomic signatures but similar biological functions. *J. Hepatol.* 65, 758–768.

Bellet, M.M., Deriu, E., Liu, J.Z., Grimaldi, B., Blaschitz, C., Zeller, M., Edwards, R.A., Sahar, S., Dandekar, S., Baldi, P., et al. (2013). Circadian clock regulates the host response to Salmonella. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110, 9897–9902.

Bennett, M.L., Bennett, F.C., Liddel, S.A., Ajami, B., Zamanian, J.L., Fernhoff, N.B., Mulinyawe, S.B., Bohlen, C.J., Adil, A., Tucker, A., et al. (2016). New tools for studying microglia in the mouse and human CNS. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113, E1738–E1746.

van den Berg, S.M., van Dam, A.D., Rensen, P.C.N., de Winther, M.P.J., and Lutgens, E. (2017). Immune Modulation of Brown(ing) Adipose Tissue in Obesity. *Endocr. Rev.* 38, 46–68.

Bertholet, A.M., and Kirichok, Y. (2017). UCP1: A transporter for H⁺ and fatty acid anions. *Biochimie* 134, 28–34.

Bézaire, V., and Langin, D. (2009). Regulation of adipose tissue lipolysis revisited: Symposium on ‘Frontiers in adipose tissue biology.’ *Proc. Nutr. Soc.* 68, 350–360.

Bielczyk-Maczynska, E. (2019). White Adipocyte Plasticity in Physiology and Disease. *Cells* 8, 1507.

Boche, D., Perry, V.H., and Nicoll, J.A.R. (2013). Review: Activation patterns of microglia and their identification in the human brain: Microglia in human brain. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 39, 3–18.

Bogle, R.G., Baydoun, A.R., Pearson, J.D., Moncada, S., and Mann, G.E. (1992). l-arginine transport is increased in macrophages generating nitric oxide. *Biochem. J.* 284, 15–18.

Bornstein, S.R., Abu-Asab, M., Glasow, A., Path, G., Hauner, H., Tsokos, M., Chrousos, G.P., and Scherbaum, W.A. (2000). Immunohistochemical and ultrastructural localization of leptin and leptin receptor in human white adipose tissue and differentiating human adipose cells in primary culture. *Diabetes* 49, 532–538.

Boström, P., Wu, J., Jedrychowski, M.P., Korde, A., Ye, L., Lo, J.C., Rasbach, K.A., Boström, E.A., Choi, J.H., Long, J.Z., et al. (2012). A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 481, 463–468.

Breznik, J.A., Naidoo, A., Foley, K.P., Schulz, C., Lau, T.C., Loukov, D., Sloboda, D.M., Bowdish, D.M.E., and Schertzer, J.D. (2018). TNF, but not hyperinsulinemia or hyperglycemia, is a key driver of obesity-induced monocytosis revealing that inflammatory monocytes correlate with insulin in obese male mice. *Physiol. Rep.* 6, e13937.

Briseño, C.G., Haldar, M., Kretzer, N.M., Wu, X., Theisen, D.J., Kc, W., Durai, V., Grajales-Reyes, G.E., Iwata, A., Bagadia, P., et al. (2016). Distinct Transcriptional Programs Control Cross-Priming in Classical and Monocyte-Derived Dendritic Cells. *Cell Rep.* 15, 2462–2474.

Brosnan, J.T. (2003). Interorgan Amino Acid Transport and its Regulation. *J. Nutr.* 133, 2068S-2072S.

Brown, Z., Gerritsen, M.E., Carley, W.W., Strieter, R.M., Kunkel, S.L., and Westwick, J. (1994). Chemokine gene expression and secretion by cytokine-activated human microvascular endothelial cells. Differential regulation of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in response to interferon-gamma. *Am. J. Pathol.* 145, 913–921.

Bruns, I., Lucas, D., Pinho, S., Ahmed, J., Lambert, M.P., Kunisaki, Y., Scheiermann, C., Schiff, L., Poncz, M., Bergman, A., et al. (2014). Megakaryocytes regulate hematopoietic stem cell quiescence through CXCL4 secretion. *Nat. Med.* 20, 1315–1320.

Bryant, C., and Fitzgerald, K.A. (2009). Molecular mechanisms involved in inflammasome activation. *Trends Cell Biol.* 19, 455–464.

Buettner, C., Muse, E.D., Cheng, A., Chen, L., Scherer, T., Poci, A., Su, K., Cheng, B., Li, X., Harvey-White, J., et al. (2008). Leptin controls adipose tissue lipogenesis via central, STAT3-independent mechanisms. *Nat. Med.* 14, 667–675.

Buhr, E.D., Yoo, S.-H., and Takahashi, J.S. (2010). Temperature as a Universal Resetting Cue for Mammalian Circadian Oscillators. *Science* 330, 379–385.

Butler, J.M., Nolan, D.J., Vertes, E.L., Varnum-Finney, B., Kobayashi, H., Hooper, A.T., Seandel, M., Shido, K., White, I.A., Kobayashi, M., et al. (2010). Endothelial Cells Are Essential for the Self-Renewal and Repopulation of Notch-Dependent Hematopoietic Stem Cells. *Cell Stem Cell* 6, 251–264.

Butovsky, O., Jedrychowski, M.P., Moore, C.S., Cialic, R., Lanser, A.J., Gabriely, G., Koeglspenger, T., Dake, B., Wu, P.M., Doykan, C.E., et al. (2014). Identification of a unique TGF- β -dependent molecular and functional signature in microglia. *Nat. Neurosci.* 17, 131–143.

Buttgereit, A., Lelios, I., Yu, X., Vrohligs, M., Krakoski, N.R., Gautier, E.L., Nishinakamura, R., Becher, B., and Greter, M. (2016). *Sall1* is a transcriptional regulator defining microglia identity and function. *Nat. Immunol.* 17, 1397–1406.

Cabezas-Wallscheid, N., Klimmeck, D., Hansson, J., Lipka, D.B., Reyes, A., Wang, Q., Weichenhan, D., Lier, A., von Paleske, L., Renders, S., et al. (2014). Identification of Regulatory Networks in HSCs and Their Immediate Progeny via Integrated Proteome, Transcriptome, and DNA Methylation Analysis. *Cell Stem Cell* 15, 507–522.

Calderon, B., Carrero, J.A., Ferris, S.T., Sojka, D.K., Moore, L., Epelman, S., Murphy, K.M., Yokoyama, W.M., Randolph, G.J., and Unanue, E.R. (2015). The pancreas anatomy conditions the origin and properties of resident macrophages. *J. Exp. Med.* 212, 1497–1512.

Calvi, L.M., Adams, G.B., Weibrecht, K.W., Weber, J.M., Olson, D.P., Knight, M.C., Martin, R.P., Schipani, E., Divieti, P., Bringham, F.R., et al. (2003). Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature* 425, 841–846.

Cannon, B., and Nedergaard, J. (2004). Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. *Physiol. Rev.* 84, 277–359.

Carlin, L.M., Stamatiades, E.G., Auffray, C., Hanna, R.N., Glover, L., Vizcay-Barrena, G., Hedrick, C.C., Cook, H.T., Diebold, S., and Geissmann, F. (2013). Nr4a1-Dependent Ly6Clow Monocytes Monitor Endothelial Cells and Orchestrate Their Disposal. *Cell* 153, 362–375.

Carpenter, K.L.H., van der Veen, C., Taylor, S.E., Hardwick, S.J., Clare, K., Hegyi, L., and Mitchinson, M.J. (1995). MACROPHAGES, LIPID OXIDATION, CEROID ACCUMULATION AND ALPHA-TOCOPHEROL DEPLETION IN HUMAN ATHEROSCLEROTIC LESIONS. *Gerontology* 41, 53–68.

Carter, S.J., Durrington, H.J., Gibbs, J.E., Blaikley, J., Loudon, A.S., Ray, D.W., and Sabroe, I. (2016). A matter of time: study of circadian clocks and their role in inflammation. *J. Leukoc. Biol.* 99, 549–560.

Casanova-Acebes, M., Pitaval, C., Weiss, L.A., Nombela-Arrieta, C., Chèvre, R., A-González, N., Kunisaki, Y., Zhang, D., van Rooijen, N., Silberstein, L.E., et al. (2013). Rhythmic Modulation of the Hematopoietic Niche through Neutrophil Clearance. *Cell* 153, 1025–1035.

Cassado, A. dos A., Dâ€™ImpÃ©rio Lima, M.R., and Bortoluci, K.R. (2015). Revisiting Mouse Peritoneal Macrophages: Heterogeneity, Development, and Function. *Front. Immunol.* 6.

Castro, É., Silva, T.E.O., and Festuccia, W.T. (2017). Critical review of beige adipocyte thermogenic activation and contribution to whole-body energy expenditure. *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.* 31.

Cawthorn, W.P., Scheller, E.L., Learman, B.S., Parlee, S.D., Simon, B.R., Mori, H., Ning, X., Bree, A.J., Schell, B., Broome, D.T., et al. (2014). Bone Marrow Adipose Tissue Is an Endocrine Organ that Contributes to Increased Circulating Adiponectin during Caloric Restriction. *Cell Metab.* 20, 368–375.

Cerovic, V., Bain, C.C., Mowat, A.M., and Milling, S.W.F. (2014). Intestinal macrophages and dendritic cells: what's the difference? *Trends Immunol.* 35, 270–277.

Chakrabarti, P., Kim, J.Y., Singh, M., Shin, Y.-K., Kim, J., Kumbrink, J., Wu, Y., Lee, M.-J., Kirsch, K.H., Fried, S.K., et al. (2013). Insulin Inhibits Lipolysis in Adipocytes via the Evolutionarily Conserved mTORC1-Egr1-ATGL-Mediated Pathway. *Mol. Cell. Biol.* 33, 3659–3666.

Chang, P.V., Hao, L., Offermanns, S., and Medzhitov, R. (2014). The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111, 2247–2252.

Chappuis, S., Ripperger, J.A., Schnell, A., Rando, G., Jud, C., Wahli, W., and Albrecht, U. (2013). Role of the circadian clock gene *Per2* in adaptation to cold temperature. *Mol. Metab.* 2, 184–193.

Charrière, G., Cousin, B., Arnaud, E., André, M., Bacou, F., Pénicaud, L., and Casteilla, L. (2003). Preadipocyte Conversion to Macrophage: EVIDENCE OF PLASTICITY. *J. Biol. Chem.* 278, 9850–9855.

Chazenbalk, G., Bertolotto, C., Heneidi, S., Jumabay, M., Trivax, B., Aronowitz, J., Yoshimura, K., Simmons, C.F., Dumesic, D.A., and Azziz, R. (2011). Novel Pathway of Adipogenesis through Cross-Talk between Adipose Tissue Macrophages, Adipose Stem Cells and Adipocytes: Evidence of Cell Plasticity. *PLoS ONE* 6, e17834.

Choe, S.S., Huh, J.Y., Hwang, I.J., Kim, J.I., and Kim, J.B. (2016). Adipose Tissue Remodeling: Its Role in Energy Metabolism and Metabolic Disorders. *Front. Endocrinol.* 7.

Chong, S.Z., Evrard, M., Devi, S., Chen, J., Lim, J.Y., See, P., Zhang, Y., Adrover, J.M., Lee, B., Tan, L., et al. (2016). CXCR4 identifies transitional bone marrow premonocytes that replenish the mature monocyte pool for peripheral responses. *J. Exp. Med.* 213, 2293–2314.

Christensen, J.L., Wright, D.E., Wagers, A.J., and Weissman, I.L. (2004). Circulation and Chemotaxis of Fetal Hematopoietic Stem Cells. *PLoS Biol.* 2, e75.

Cinti, S. (2018). Pink Adipocytes. *Trends Endocrinol. Metab.* 29, 651–666.

Cinti, S., Mitchell, G., Barbatelli, G., Murano, I., Ceresi, E., Faloia, E., Wang, S., Fortier, M., Greenberg, A.S., and Obin, M.S. (2005). Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J. Lipid Res.* 46, 2347–2355.

Clementi, E., Brown, G.C., Feelisch, M., and Moncada, S. (1998). Persistent inhibition of cell respiration by nitric oxide: Crucial role of S-nitrosylation of mitochondrial complex I and protective action of glutathione. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95, 7631–7636.

Coats, B.R., Schoenfelt, K.Q., Barbosa-Lorenzi, V.C., Peris, E., Cui, C., Hoffman, A., Zhou, G., Fernandez, S., Zhai, L., Hall, B.A., et al. (2017). Metabolically Activated Adipose Tissue Macrophages Perform Detrimental and Beneficial Functions during Diet-Induced Obesity. *Cell Rep.* 20, 3149–3161.

Coe, N.R., Smith, A.J., Frohnert, B.I., Watkins, P.A., and Bernlohr, D.A. (1999). The Fatty Acid Transport Protein (FATP1) Is a Very Long Chain Acyl-CoA Synthetase. *J. Biol. Chem.* 274, 36300–36304.

Coelho, M., Oliveira, T., and Fernandes, R. (2013). State of the art paper Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Arch. Med. Sci.* 2, 191–200.

Cohen, L.A., Chan, P.C., and Wynder, E.L. (1981). The role of a high-fat diet in enhancing the development of mammary tumors in ovariectomized rats. *Cancer* 47, 66–71.

Colonna, M., and Butovsky, O. (2017). Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration. *Annu. Rev. Immunol.* 35, 441–468.

Combadière, C., Potteaux, S., Rodero, M., Simon, T., Pezard, A., Esposito, B., Merval, R., Proudfoot, A., Tedgui, A., and Mallat, Z. (2008). Combined Inhibition of CCL2, CX3CR1, and CCR5 Abrogates Ly6C^{hi} and Ly6C^{lo} Monocytosis and Almost Abolishes Atherosclerosis in Hypercholesterolemic Mice. *Circulation* 117, 1649–1657.

Congdon, K.L., and Reya, T. (2008). Divide and conquer: how asymmetric division shapes cell fate in the hematopoietic system. *Curr. Opin. Immunol.* 20, 302–307.

Corrales, P., Vivas, Y., Izquierdo-Lahuerta, A., Horrillo, D., Seoane-Collazo, P., Velasco, I., Torres, L., Lopez, Y., Martínez, C., López, M., et al. (2019). Long-term caloric restriction ameliorates deleterious effects of aging on white and brown adipose tissue plasticity. *Aging Cell* 18, e12948.

Covarrubias, A.J., Aksoylar, H.I., Yu, J., Snyder, N.W., Worth, A.J., Iyer, S.S., Wang, J., Ben-Sahra, I., Byles, V., Polynne-Stapornkul, T., et al. (2016). Akt-mTORC1 signaling regulates Acly to integrate metabolic input to control of macrophage activation. *ELife* 5, e11612.

Cronk, J.C., Filiano, A.J., Louveau, A., Marin, I., Marsh, R., Ji, E., Goldman, D.H., Smirnov, I., Geraci, N., Acton, S., et al. (2018). Peripherally derived macrophages can engraft the brain independent of irradiation and maintain an identity distinct from microglia. *J. Exp. Med.* 215, 1627–1647.

Curi, R., Newsholme, P., Pithon-Curi, T.C., Pires-de-Melo, M., Garcia, C., Homem-de-Bittencourt Jr., P.I., and Guimaraes, A.R.P. (1999). Metabolic fate of glutamine in lymphocytes, macrophages and neutrophils. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 32, 15–21.

Curi, R., de Siqueira Mendes, R., de Campos Crispin, L.A., Norata, G.D., Sampaio, S.C., and Newsholme, P. (2017). A past and present overview of macrophage metabolism and functional outcomes. *Clin. Sci.* 131, 1329–1342.

Curtis, A.M., Bellet, M.M., Sassone-Corsi, P., and O’Neill, L.A.J. (2014). Circadian Clock Proteins and Immunity. *Immunity* 40, 178–186.

Cypess, A.M., Lehman, S., Williams, G., Tal, I., Rodman, D., Goldfine, A.B., Kuo, F.C., Palmer, E.L., Tseng, Y.-H., Doria, A., et al. (2009). Identification and Importance of Brown Adipose Tissue in Adult Humans. *N. Engl. J. Med.* 360, 1509–1517.

Cypess, A.M., Chen, Y.-C., Sze, C., Wang, K., English, J., Chan, O., Holman, A.R., Tal, I., Palmer, M.R., Kolodny, G.M., et al. (2012). Cold but not sympathomimetics activates human brown adipose tissue in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 10001–10005.

Cypess, A.M., Weiner, L.S., Roberts-Toler, C., Elía, E.F., Kessler, S.H., Kahn, P.A., English, J., Chatman, K., Trauger, S.A., Doria, A., et al. (2015). Activation of Human Brown Adipose Tissue by a β 3-Adrenergic Receptor Agonist. *Cell Metab.* 21, 33–38.

Dai, X.-M., Ryan, G.R., Hapel, A.J., Dominguez, M.G., Russell, R.G., Kapp, S., Sylvestre, V., and Stanley, E.R. (2002). Targeted disruption of the mouse colony-stimulating factor 1 receptor gene results in osteopetrosis, mononuclear phagocyte deficiency, increased primitive progenitor cell frequencies, and reproductive defects. *Blood* 99, 111–120.

Dal-Secco, D., Wang, J., Zeng, Z., Kolaczowska, E., Wong, C.H.Y., Petri, B., Ransohoff, R.M., Charo, I.F., Jenne, C.N., and Kubes, P. (2015). A dynamic spectrum of monocytes arising from the in situ reprogramming of CCR2⁺ monocytes at a site of sterile injury. *J. Exp. Med.* 212, 447–456.

Damiola, F. (2000). Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes Dev.* 14, 2950–2961.

Darvey, I.G. (1998). How does the ratio of ATP yield from the complete oxidation of palmitic acid to that of glucose compare with the relative energy contents of fat and carbohydrate? *Biochem. Educ.* 26, 22–23.

Davies, L.C., Jenkins, S.J., Allen, J.E., and Taylor, P.R. (2013). Tissue-resident macrophages. *Nat. Immunol.* 14, 986–995.

Delezie, J., Dumont, S., Dardente, H., Oudart, H., Gréchez-Cassiau, A., Klosen, P., Teboul, M., Delaunay, F., Pévet, P., and Challet, E. (2012). The nuclear receptor REV-ERB α is required for the daily balance of carbohydrate and lipid metabolism. *FASEB J.* 26, 3321–3335.

Dennis, P.B. (2001). Mammalian TOR: A Homeostatic ATP Sensor. *Science* 294, 1102–1105.

Devlin, M.J., Cloutier, A.M., Thomas, N.A., Panus, D.A., Lotinun, S., Pinz, I., Baron, R., Rosen, C.J., and Buxsein, M.L. (2010). Caloric restriction leads to high marrow adiposity and low bone mass in growing mice. *J. Bone Miner. Res.* 25, 2078–2088.

Dichlberger, A., Schlager, S., Maaninka, K., Schneider, W.J., and Kovanen, P.T. (2014). Adipose triglyceride lipase regulates eicosanoid production in activated human mast cells. *J. Lipid Res.* 55, 2471–2478.

Dietl, K., Renner, K., Dettmer, K., Timischl, B., Eberhart, K., Dorn, C., Hellerbrand, C., Kastenberger, M., Kunz-Schughart, L.A., Oefner, P.J., et al. (2010). Lactic Acid and Acidification Inhibit TNF Secretion and Glycolysis of Human Monocytes. *J. Immunol.* 184, 1200–1209.

Ding, L., and Morrison, S.J. (2013). Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches. *Nature* 495, 231–235.

Drissen, R., Buza-Vidas, N., Woll, P., Thongjuea, S., Gambardella, A., Giustacchini, A., Mancini, E., Zriwil, A., Lutteropp, M., Grover, A., et al. (2016). Distinct myeloid progenitor–differentiation pathways identified through single-cell RNA sequencing. *Nat. Immunol.* 17, 666–676.

Duncan, R.E., Ahmadian, M., Jaworski, K., Sarkadi-Nagy, E., and Sul, H.S. (2007). Regulation of Lipolysis in Adipocytes. *Annu. Rev. Nutr.* 27, 79–101.

Duncan, R.E., Wang, Y., Ahmadian, M., Lu, J., Sarkadi-Nagy, E., and Sul, H.S. (2010). Characterization of desnutrin functional domains: critical residues for triacylglycerol hydrolysis in cultured cells. *J. Lipid Res.* 51, 309–317.

Eleftheriou, F., Ahn, J.D., Takeda, S., Starbuck, M., Yang, X., Liu, X., Kondo, H., Richards, W.G., Bannan, T.W., Noda, M., et al. (2005). Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART. *Nature* 434, 514–520.

Elgazar-Carmon, V., Rudich, A., Hadad, N., and Levy, R. (2008). Neutrophils transiently infiltrate intra-abdominal fat early in the course of high-fat feeding. *J. Lipid Res.* 49, 1894–1903.

Elmore, M.R.P., Najafi, A.R., Koike, M.A., Dagher, N.N., Spangenberg, E.E., Rice, R.A., Kitazawa, M., Matusow, B., Nguyen, H., West, B.L., et al. (2014). Colony-Stimulating Factor 1 Receptor Signaling Is Necessary for Microglia Viability, Unmasking a Microglia Progenitor Cell in the Adult Brain. *Neuron* 82, 380–397.

Endemann, G., Stanton, L.W., Madden, K.S., Bryant, C.M., White, R.T., and Protter, A.A. (1993). CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J. Biol. Chem.* 268, 11811–11816.

Esteve Ràfols, M. (2014). Tejido adiposo: heterogeneidad celular y diversidad funcional. *Endocrinol. Nutr.* 61, 100–112.

Farmer, S.R. (2006). Transcriptional control of adipocyte formation. *Cell Metab.* 4, 263–273.

Farmer, S.R. (2019). Boning Up on Irisin. *N. Engl. J. Med.* 380, 1480–1482.

Fazeli, P.K., Horowitz, M.C., MacDougald, O.A., Scheller, E.L., Rodeheffer, M.S., Rosen, C.J., and Klibanski, A. (2013). Marrow Fat and Bone—New Perspectives. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98, 935–945.

Fedorenko, A., Lishko, P.V., and Kirichok, Y. (2012). Mechanism of Fatty-Acid-Dependent UCP1 Uncoupling in Brown Fat Mitochondria. *Cell* 151, 400–413.

Fiala, M., Lin, J., Ringman, J., Kermani-Arab, V., Tsao, G., Patel, A., Lossinsky, A.S., Graves, M.C., Gustavson, A., Sayre, J., et al. (2005). Ineffective phagocytosis of amyloid- β by macrophages of Alzheimer's disease patients. *J. Alzheimers Dis.* 7, 221–232.

Fisher, R.M., and Gertow, K. (2005). Fatty acid transport proteins and insulin resistance: *Curr. Opin. Lipidol.* 16, 173–178.

Flynn, M.C., Kraakman, M.J., Tikellis, C., Lee, M.K., Hanssen, N.M., Kammoun, H.L., Pickering, R., Dragoljevic, D., Al-Sharea, A., Barrett, T.J., et al. (2020). Transient Intermittent Hyperglycemia Accelerates Atherosclerosis by Promoting Myelopoiesis. *Circ. Res.* CIRCRESAHA.120.316653.

Fred W. Turek, Corinne Joshu, Akira Kohsaka, Emily Lin, Ganka Ivanova, Erin McDearmon, and Aaron Laposky (2000). Resetting of Circadian Time in Peripheral Tissues by Glucocorticoid Signaling. *Science* 289, 2344–2347.

Frederich, R.C., Hamann, A., Anderson, S., Löllmann, B., Lowell, B.B., and Flier, J.S. (1995). Leptin levels reflect body lipid content in mice: Evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat. Med.* 1, 1311–1314.

Freemerman, A.J., Johnson, A.R., Sacks, G.N., Milner, J.J., Kirk, E.L., Troester, M.A., Macintyre, A.N., Goraksha-Hicks, P., Rathmell, J.C., and Makowski, L. (2014). Metabolic Reprogramming of Macrophages: GLUCOSE TRANSPORTER 1 (GLUT1)-MEDIATED GLUCOSE METABOLISM DRIVES A PROINFLAMMATORY PHENOTYPE. *J. Biol. Chem.* 289, 7884–7896.

Freemerman, A.J., Zhao, L., Pingili, A.K., Teng, B., Cozzo, A.J., Fuller, A.M., Johnson, A.R., Milner, J.J., Lim, M.F., Galanko, J.A., et al. (2019). Myeloid Slc2a1 -Deficient Murine Model Revealed Macrophage Activation and Metabolic Phenotype Are Fueled by GLUT1. *J. Immunol.* 202, 1265–1286.

Freigang, S., Ampenberger, F., Weiss, A., Kanneganti, T.-D., Iwakura, Y., Hersberger, M., and Kopf, M. (2013). Fatty acid-induced mitochondrial uncoupling elicits inflammasome-independent IL-1 α and sterile vascular inflammation in atherosclerosis. *Nat. Immunol.* 14, 1045–1053.

Froy, O., and Garaulet, M. (2018). The Circadian Clock in White and Brown Adipose Tissue: Mechanistic, Endocrine, and Clinical Aspects. *Endocr. Rev.* 39, 261–273.

Fu, J., and Xia, L. (2016). CLEC-2 and podoplanin, partners again. *Blood* 127, 1629–1630.

Fu, Y., Luo, N., and Lopes-Virella, M.F. (2000). Oxidized LDL induces the expression of ALBP/aP2 mRNA and protein in human THP-1 macrophages. *J. Lipid Res.* 41, 2017–2023.

Fujisaki, J., Wu, J., Carlson, A.L., Silberstein, L., Putheti, P., Larocca, R., Gao, W., Saito, T.I., Celso, C.L., Tsuyuzaki, H., et al. (2011). In vivo imaging of Treg cells providing immune privilege to the haematopoietic stem-cell niche. *Nature* 474, 216–219.

van Furth, R. (1980). Cells of the Mononuclear Phagocyte System. In *Mononuclear Phagocytes*, R. van Furth, ed. (Dordrecht: Springer Netherlands), pp. 1–40.

van Furth, R., Cohn, Z.A., Hirsch, J.G., Humphrey, J.H., Spector, W.G., and Langevoort, H.L. (1972). The mononuclear phagocyte system: a new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells. *Bull. World Health Organ.* 46, 845–852.

Furuhashi, M. (2019). Fatty Acid-Binding Protein 4 in Cardiovascular and Metabolic Diseases. *J. Atheroscler. Thromb.* 26, 216–232.

Furuhashi, M., Ishimura, S., Ota, H., and Miura, T. (2011). Lipid Chaperones and Metabolic Inflammation. *Int. J. Inflamm.* 2011, 1–12.

Furuhashi, M., Fuseya, T., Murata, M., Hoshina, K., Ishimura, S., Mita, T., Watanabe, Y., Omori, A., Matsumoto, M., Sugaya, T., et al. (2016). Local Production of Fatty Acid-Binding Protein 4 in Epicardial/Perivascular Fat and Macrophages Is Linked to Coronary Atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 36, 825–834.

Gaber, T., Strehl, C., and Buttgerit, F. (2017). Metabolic regulation of inflammation. *Nat. Rev. Rheumatol.* 13, 267–279.

Gaidhu, M.P., Fediuc, S., Anthony, N.M., So, M., Mirpourian, M., Perry, R.L.S., and Ceddia, R.B. (2009). Prolonged AICAR-induced AMP-kinase activation promotes energy dissipation in white adipocytes: novel mechanisms integrating HSL and ATGL. *J. Lipid Res.* 50, 704–715.

Gally, F., Kosmider, B., Weaver, M.R., Pate, K.M., Hartshorn, K.L., and Oberley-Deegan, R.E. (2013). FABP5 deficiency enhances susceptibility to H1N1 influenza A virus-induced lung inflammation. *Am. J. Physiol.-Lung Cell. Mol. Physiol.* 305, L64–L72.

Gamrekelashvili, J., Giagnorio, R., Jussofie, J., Soehnlein, O., Duchene, J., Briseño, C.G., Ramasamy, S.K., Krishnasamy, K., Limbourg, A., Häger, C., et al. (2016). Regulation of monocyte cell fate by blood vessels mediated by Notch signalling. *Nat. Commun.* 7, 12597.

Ganeshan, K., and Chawla, A. (2014). Metabolic Regulation of Immune Responses. *Annu. Rev. Immunol.* 32, 609–634.

Gauthier, M.-S., Miyoshi, H., Souza, S.C., Cacicedo, J.M., Saha, A.K., Greenberg, A.S., and Ruderman, N.B. (2008). AMP-activated Protein Kinase Is Activated as a Consequence of Lipolysis in the Adipocyte: POTENTIAL MECHANISM AND PHYSIOLOGICAL RELEVANCE. *J. Biol. Chem.* 283, 16514–16524.

Gautier, E.L., Ivanov, S., Williams, J.W., Huang, S.C.-C., Marcelin, G., Fairfax, K., Wang, P.L., Francis, J.S., Leone, P., Wilson, D.B., et al. (2014). Gata6 regulates aspartoacylase expression in resident peritoneal macrophages and controls their survival. *J. Exp. Med.* 211, 1525–1531.

Geissmann, F., Jung, S., and Littman, D.R. (2003). Blood Monocytes Consist of Two Principal Subsets with Distinct Migratory Properties. *Immunity* 19, 71–82.

Geissmann, F., Auffray, C., Palframan, R., Wirrig, C., Ciocca, A., Campisi, L., Narni-Mancinelli, E., and Lauvau, G. (2008). Blood monocytes: distinct subsets, how they relate to dendritic cells, and their possible roles in the regulation of T-cell responses. *Immunol. Cell Biol.* 86, 398–408.

Gerhart-Hines, Z., Feng, D., Emmett, M.J., Everett, L.J., Loro, E., Briggs, E.R., Bugge, A., Hou, C., Ferrara, C., Seale, P., et al. (2013). The nuclear receptor Rev-erb α controls circadian thermogenic plasticity. *Nature* 503, 410–413.

Ghali, O., Al Rassy, N., Hardouin, P., and Chauveau, C. (2016). Increased Bone Marrow Adiposity in a Context of Energy Deficit: The Tip of the Iceberg? *Front. Endocrinol.* 7.

Ghosh, S., Zhao, B., Bie, J., and Song, J. (2010). Macrophage cholesteryl ester mobilization and atherosclerosis. *Vascul. Pharmacol.* 52, 1–10.

Gibbs, J.E., Blaikley, J., Beesley, S., Matthews, L., Simpson, K.D., Boyce, S.H., Farrow, S.N., Else, K.J., Singh, D., Ray, D.W., et al. (2012). The nuclear receptor REV-ERB α mediates circadian regulation of innate immunity through selective regulation of inflammatory cytokines. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 582–587.

Ginhoux, F., and Jung, S. (2014). Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis. *Nat. Rev. Immunol.* 14, 392–404.

Ginhoux, F., Greter, M., Leboeuf, M., Nandi, S., See, P., Gokhan, S., Mehler, M.F., Conway, S.J., Ng, L.G., Stanley, E.R., et al. (2010). Fate Mapping Analysis Reveals That Adult Microglia Derive from Primitive Macrophages. *Science* 330, 841–845.

Giordano, A., Murano, I., Mondini, E., Perugini, J., Smorlesi, A., Severi, I., Barazzoni, R., Scherer, P.E., and Cinti, S. (2013). Obese adipocytes show ultrastructural features of stressed cells and die of pyroptosis. *J. Lipid Res.* 54, 2423–2436.

Girousse, A., and Langin, D. (2012). Adipocyte lipases and lipid droplet-associated proteins: insight from transgenic mouse models. *Int. J. Obes.* 36, 581–594.

Golan, K., Kumari, A., Kollet, O., Khatib-Massalha, E., Subramaniam, M.D., Ferreira, Z.S., Avemaria, F., Rzeszotek, S., García-García, A., Xie, S., et al. (2018). Daily Onset of Light and Darkness Differentially Controls Hematopoietic Stem Cell Differentiation and Maintenance. *Cell Stem Cell* 23, 572-585.e7.

Golozoubova, V., Hohtola, E., Matthias, A., Jacobsson, A., Cannon, B., and Nedergaard, J. (2001). Only UCP1 can mediate adaptive nonshivering thermogenesis in the cold. *FASEB J.* 15, 2048–2050.

Gomez Perdiguero, E., Klapproth, K., Schulz, C., Busch, K., Azzoni, E., Crozet, L., Garner, H., Trouillet, C., de Bruijn, M.F., Geissmann, F., et al. (2015). Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors. *Nature* 518, 547–551.

Goodpaster, B.H., Kelley, D.E., Wing, R.R., Meier, A., and Thaete, F.L. (1999). Effects of weight loss on regional fat distribution and insulin sensitivity in obesity. *Diabetes* 48, 839–847.

Goossens, G.H. (2008). The role of adipose tissue dysfunction in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Physiol. Behav.* 94, 206–218.

Gordon, S., and Taylor, P.R. (2005). Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat. Rev. Immunol.* 5, 953–964.

Görgens, A., Ludwig, A.-K., Möllmann, M., Krawczyk, A., Dürig, J., Hanenberg, H., Horn, P.A., and Giebel, B. (2014). Multipotent Hematopoietic Progenitors Divide Asymmetrically to Create Progenitors of the Lymphomyeloid and Erythromyeloid Lineages. *Stem Cell Rep.* 3, 1058–1072.

Gosselin, D., Link, V.M., Romanoski, C.E., Fonseca, G.J., Eichenfield, D.Z., Spann, N.J., Stender, J.D., Chun, H.B., Garner, H., Geissmann, F., et al. (2014). Environment Drives Selection and Function of Enhancers Controlling Tissue-Specific Macrophage Identities. *Cell* 159, 1327–1340.

Greenbaum, A., Hsu, Y.-M.S., Day, R.B., Schuettpelz, L.G., Christopher, M.J., Borgerding, J.N., Nagasawa, T., and Link, D.C. (2013). CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for haematopoietic stem-cell maintenance. *Nature* 495, 227–230.

Greenow, K., Pearce, N.J., and Ramji, D.P. (2005). The key role of apolipoprotein E in atherosclerosis. *J. Mol. Med.* 83, 329–342.

Greter, M., Lelios, I., Pelczar, P., Hoeffel, G., Price, J., Leboeuf, M., Kündig, T.M., Frei, K., Ginhoux, F., Merad, M., et al. (2012). Stroma-Derived Interleukin-34 Controls the Development and Maintenance of Langerhans Cells and the Maintenance of Microglia. *Immunity* 37, 1050–1060.

Grijalva, A., Xu, X., and Ferrante, A.W. (2016). Autophagy Is Dispensable for Macrophage-Mediated Lipid Homeostasis in Adipose Tissue. *Diabetes* 65, 967–980.

Grimaldi, B., Bellet, M.M., Katada, S., Astarita, G., Hirayama, J., Amin, R.H., Granneman, J.G., Piomelli, D., Leff, T., and Sassone-Corsi, P. (2010). PER2 Controls Lipid Metabolism by Direct Regulation of PPAR γ . *Cell Metab.* 12, 509–520.

Guan, H.-P., Li, Y., Jensen, M.V., Newgard, C.B., Stepan, C.M., and Lazar, M.A. (2002). A futile metabolic cycle activated in adipocytes by antidiabetic agents. *Nat. Med.* 8, 1122–1128.

Guilliams, M., Ginhoux, F., Jakubzick, C., Naik, S.H., Onai, N., Schraml, B.U., Segura, E., Tussiwand, R., and Yona, S. (2014). Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny. *Nat. Rev. Immunol.* 14, 571–578.

Guilliams, M., Mildner, A., and Yona, S. (2018). Developmental and Functional Heterogeneity of Monocytes. *Immunity* 49, 595–613.

Guillot, A., and Tacke, F. (2019). Liver Macrophages: Old Dogmas and New Insights. *Hepatology Commun.* 3, 730–743.

Guo, X., Xu, Y., He, H., Cai, H., Zhang, J., Li, Y., Yan, X., Zhang, M., Zhang, N., Maddela, R.L., et al. (2018). Effects of a Meal Replacement on Body Composition and Metabolic Parameters among Subjects with Overweight or Obesity. *J. Obes.* 2018, 1–10.

Guruharsha, K.G., Kankel, M.W., and Artavanis-Tsakonas, S. (2012). The Notch signalling system: recent insights into the complexity of a conserved pathway. *Nat. Rev. Genet.* 13, 654–666.

Gyoneva, S., Kim, D., Katsumoto, A., Kokiko-Cochran, O.N., Lamb, B.T., and Ransohoff, R.M. (2015). Ccr2 deletion dissociates cavity size and tau pathology after mild traumatic brain injury. *J. Neuroinflammation* 12, 228.

Haemmerle, G. (2006). Defective Lipolysis and Altered Energy Metabolism in Mice Lacking Adipose Triglyceride Lipase. *Science* 312, 734–737.

Haemmerle, G., Zimmermann, R., Strauss, J.G., Kratky, D., Riederer, M., Knipping, G., and Zechner, R. (2002). Hormone-sensitive Lipase Deficiency in Mice Changes the Plasma

Lipid Profile by Affecting the Tissue-specific Expression Pattern of Lipoprotein Lipase in Adipose Tissue and Muscle. *J. Biol. Chem.* 277, 12946–12952.

Hafidi, M.E., Buelna-Chontal, M., Sánchez-Muñoz, F., and Carbó, R. (2019). Adipogenesis: A Necessary but Harmful Strategy. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 3657.

Hamilton, J.A., Vairo, G., and Lingelbach, S.R. (1986). CSF-1 stimulates glucose uptake in murine bone marrow-derived macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 138, 445–454.

Han, S., Sun, H.M., Hwang, K.-C., and Kim, S.-W. (2015). Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Cells: Update on Clinical Utility and Efficacy. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 25, 145–152.

Hankin, J.H., and Rawlings, V. (1978). Diet and breast cancer: a review. *Am. J. Clin. Nutr.* 31, 2005–2016.

Hankir, M.K., and Klingenspor, M. (2018). Brown adipocyte glucose metabolism: a heated subject. *EMBO Rep.* 19.

Hanna, R.N., Carlin, L.M., Hubbeling, H.G., Nackiewicz, D., Green, A.M., Punt, J.A., Geissmann, F., and Hedrick, C.C. (2011). The transcription factor NR4A1 (Nur77) controls bone marrow differentiation and the survival of Ly6C[−] monocytes. *Nat. Immunol.* 12, 778–785.

Hanna, R.N., Cekic, C., Sag, D., Tacke, R., Thomas, G.D., Nowyhed, H., Herrley, E., Rasquinha, N., McArdle, S., Wu, R., et al. (2015). Patrolling monocytes control tumor metastasis to the lung. *Science* 350, 985–990.

Harms, M., and Seale, P. (2013). Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nat. Med.* 19, 1252–1263.

Harper, A.E., Miller, R.H., and Block, K.P. (1984). Branched-Chain Amino Acid Metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* 4, 409–454.

Hashimoto, D., Chow, A., Noizat, C., Teo, P., Beasley, M.B., Leboeuf, M., Becker, C.D., See, P., Price, J., Lucas, D., et al. (2013). Tissue-Resident Macrophages Self-Maintain Locally throughout Adult Life with Minimal Contribution from Circulating Monocytes. *Immunity* 38, 792–804.

Hassnain Waqas, S.F., Noble, A., Hoang, A.C., Ampem, G., Popp, M., Strauß, S., Guille, M., and Röszer, T. (2017). Adipose tissue macrophages develop from bone marrow-independent progenitors in *Xenopus laevis* and mouse. *J. Leukoc. Biol.* 102, 845–855.

Hastings, M.H., Maywood, E.S., and Brancaccio, M. (2018). Generation of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus. *Nat. Rev. Neurosci.* 19, 453–469.

Hausman, D.B., DiGirolamo, M., Bartness, T.J., Hausman, G.J., and Martin, R.J. (2001). The biology of white adipocyte proliferation. *Obes. Rev.* 2, 239–254.

Heeren, J., and Scheja, L. (2018). Brown adipose tissue and lipid metabolism: *Curr. Opin. Lipidol.* 29, 180–185.

Heidt, T., Sager, H.B., Courties, G., Dutta, P., Iwamoto, Y., Zaltsman, A., von zur Muhlen, C., Bode, C., Fricchione, G.L., Denninger, J., et al. (2014). Chronic variable stress activates hematopoietic stem cells. *Nat. Med.* 20, 754–758.

Hettinger, J., Richards, D.M., Hansson, J., Barra, M.M., Joschko, A.-C., Krijgsveld, J., and Feuerer, M. (2013). Origin of monocytes and macrophages in a committed progenitor. *Nat. Immunol.* 14, 821–830.

Hilgendorf, I., Gerhardt, L.M.S., Tan, T.C., Winter, C., Holderried, T.A.W., Chousterman, B.G., Iwamoto, Y., Liao, R., Zirlik, A., Scherer-Crosbie, M., et al. (2014). Ly-6C high Monocytes Depend on Nr4a1 to Balance Both Inflammatory and Reparative Phases in the Infarcted Myocardium. *Circ. Res.* 114, 1611–1622.

Hill, D.A., Lim, H.-W., Kim, Y.H., Ho, W.Y., Foong, Y.H., Nelson, V.L., Nguyen, H.C.B., Chegireddy, K., Kim, J., Habertheuer, A., et al. (2018). Distinct macrophage populations direct inflammatory versus physiological changes in adipose tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 115, E5096–E5105.

Hittelman, K.J., Lindberg, O., and Cannon, B. (1969). Oxidative Phosphorylation and Compartmentation of Fatty Acid Metabolism in Brown Fat Mitochondria. *Eur. J. Biochem.* 11, 183–192.

Hoeffel, G., Chen, J., Lavin, Y., Low, D., Almeida, F.F., See, P., Beaudin, A.E., Lum, J., Low, I., Forsberg, E.C., et al. (2015). C-Myb⁺ Erythro-Myeloid Progenitor-Derived Fetal Monocytes Give Rise to Adult Tissue-Resident Macrophages. *Immunity* 42, 665–678.

Horowitz, M.C., Berry, R., Holtrup, B., Sebo, Z., Nelson, T., Fretz, J.A., Lindskog, D., Kaplan, J.L., Ables, G., Rodeheffer, M.S., et al. (2017). Bone marrow adipocytes. *Adipocyte* 6, 193–204.

Hotamisligil, G.S., and Bernlohr, D.A. (2015). Metabolic functions of FABPs—mechanisms and therapeutic implications. *Nat. Rev. Endocrinol.* 11, 592–605.

Hotamisligil, G.S., Arner, P., Caro, J.F., Atkinson, R.L., and Spiegelman, B.M. (1995). Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 95, 2409–2415.

Hoy, A.J., Bruce, C.R., Turpin, S.M., Morris, A.J., Febbraio, M.A., and Watt, M.J. (2011). Adipose Triglyceride Lipase-Null Mice Are Resistant to High-Fat Diet–Induced Insulin Resistance Despite Reduced Energy Expenditure and Ectopic Lipid Accumulation. *Endocrinology* 152, 48–58.

Huang, S.C.-C., Everts, B., Ivanova, Y., O’Sullivan, D., Nascimento, M., Smith, A.M., Beatty, W., Love-Gregory, L., Lam, W.Y., O’Neill, C.M., et al. (2014). Cell-intrinsic lysosomal lipolysis is essential for macrophage alternative activation. *Nat. Immunol.* 15, 846–855.

Huang, Y., Zhao, L., Jia, B., Wu, L., Li, Y., Curthoys, N., and Zheng, J.C. (2011). Glutaminase Dysregulation in HIV-1-Infected Human Microglia Mediates Neurotoxicity: Relevant to HIV-1-Associated Neurocognitive Disorders. *J. Neurosci.* 31, 15195–15204.

Huttunen, P., Hirvonen, J., and Kinnula, V. (1981). The occurrence of brown adipose tissue in outdoor workers. *Eur. J. Appl. Physiol.* 46, 339–345.

Ikeda, K., Kang, Q., Yoneshiro, T., Camporez, J.P., Maki, H., Homma, M., Shinoda, K., Chen, Y., Lu, X., Maretich, P., et al. (2017). UCP1-independent signaling involving SERCA2b-mediated calcium cycling regulates beige fat thermogenesis and systemic glucose homeostasis. *Nat. Med.* 23, 1454–1465.

Ingersoll, M.A., Spanbroek, R., Lottaz, C., Gautier, E.L., Frankenberger, M., Hoffmann, R., Lang, R., Haniffa, M., Collin, M., Tacke, F., et al. (2010). Comparison of gene expression profiles between human and mouse monocyte subsets. *Blood* 115, e10-19.

Inoue, I., Shinoda, Y., Ikeda, M., Hayashi, K., Kanazawa, K., Nomura, M., Matsunaga, T., Xu, H., Kawai, S., Awata, T., et al. (2005). CLOCK/BMAL1 is involved in lipid metabolism via transactivation of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) response element. *J. Atheroscler. Thromb.* 12, 169–174.

Itkin, T., Gur-Cohen, S., Spencer, J.A., Schajnovitz, A., Ramasamy, S.K., Kusumbe, A.P., Ledergor, G., Jung, Y., Milo, I., Poulos, M.G., et al. (2016). Distinct bone marrow blood vessels differentially regulate haematopoiesis. *Nature* 532, 323–328.

Ito, K., Carracedo, A., Weiss, D., Arai, F., Ala, U., Avigan, D.E., Schafer, Z.T., Evans, R.M., Suda, T., Lee, C.-H., et al. (2012). A PML–PPAR- δ pathway for fatty acid oxidation regulates hematopoietic stem cell maintenance. *Nat. Med.* 18, 1350–1358.

Ivanov, S., Merlin, J., Lee, M.K.S., Murphy, A.J., and Guinamard, R.R. (2018). Biology and function of adipose tissue macrophages, dendritic cells and B cells. *Atherosclerosis* 271, 102–110.

Ivanov, S., Gallerand, A., Gros, M., Stunault, M.I., Merlin, J., Vaillant, N., Yvan-Charvet, L., and Guinamard, R.R. (2019). Mesothelial cell CSF1 sustains peritoneal macrophage proliferation. *Eur. J. Immunol.* 49, 2012–2018.

Ivanovs, A., Rytsov, S., Anderson, R.A., Turner, M.L., and Medvinsky, A. (2014). Identification of the Niche and Phenotype of the First Human Hematopoietic Stem Cells. *Stem Cell Rep.* 2, 449–456.

Jacobsson, A., Stadler, U., Glotzer, M.A., and Kozak, L.P. (1985). Mitochondrial uncoupling protein from mouse brown fat. Molecular cloning, genetic mapping, and mRNA expression. *J. Biol. Chem.* 260, 16250–16254.

Jakubzick, C., Gautier, E.L., Gibbins, S.L., Sojka, D.K., Schlitzer, A., Johnson, T.E., Ivanov, S., Duan, Q., Bala, S., Condon, T., et al. (2013). Minimal Differentiation of Classical Monocytes as They Survey Steady-State Tissues and Transport Antigen to Lymph Nodes. *Immunity* 39, 599–610.

Jang, Y.-Y., and Sharkis, S.J. (2007). A low level of reactive oxygen species selects for primitive hematopoietic stem cells that may reside in the low-oxygenic niche. *Blood* 110, 3056–3063.

Jankovic, A., Golic, I., Markelic, M., Stancic, A., Otasevic, V., Buzadzic, B., Korac, A., and Korac, B. (2015). Two key temporally distinguishable molecular and cellular components of white adipose tissue browning during cold acclimation: Browning of white adipose tissue during cold acclimation. *J. Physiol.* 593, 3267–3280.

Jenkins, C.M., Mancuso, D.J., Yan, W., Sims, H.F., Gibson, B., and Gross, R.W. (2004). Identification, Cloning, Expression, and Purification of Three Novel Human Calcium-independent Phospholipase A 2 Family Members Possessing Triacylglycerol Lipase and Acylglycerol Transacylase Activities. *J. Biol. Chem.* 279, 48968–48975.

Jenkins, S.J., Ruckerl, D., Cook, P.C., Jones, L.H., Finkelman, F.D., van Rooijen, N., MacDonald, A.S., and Allen, J.E. (2011). Local Macrophage Proliferation, Rather than Recruitment from the Blood, Is a Signature of TH2 Inflammation. *Science* 332, 1284–1288.

Jha, A.K., Huang, S.C.-C., Sergushichev, A., Lampropoulou, V., Ivanova, Y., Loginicheva, E., Chmielewski, K., Stewart, K.M., Ashall, J., Everts, B., et al. (2015). Network Integration of Parallel Metabolic and Transcriptional Data Reveals Metabolic Modules that Regulate Macrophage Polarization. *Immunity* 42, 419–430.

Joe, A.W.B., Yi, L., Even, Y., Vogl, A.W., and Rossi, F.M.V. (2009). Depot-Specific Differences in Adipogenic Progenitor Abundance and Proliferative Response to High-Fat Diet. *Stem Cells* 27, 2563–2570.

Johnson, A.R., Justin Milner, J., and Makowski, L. (2012). The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunol. Rev.* 249, 218–238.

Johnson, A.R., Qin, Y., Cozzo, A.J., Freemerman, A.J., Huang, M.J., Zhao, L., Sampey, B.P., Milner, J.J., Beck, M.A., Damania, B., et al. (2016). Metabolic reprogramming through fatty acid transport protein 1 (FATP1) regulates macrophage inflammatory potential and adipose inflammation. *Mol. Metab.* 5, 506–526.

Jung, R.T., Shetty, P.S., James, W.P.T., Barrand, M.A., and Callingham, B.A. (1979). Reduced thermogenesis in obesity. *Nature* 279, 322–323.

Kamei, N., Tobe, K., Suzuki, R., Ohsugi, M., Watanabe, T., Kubota, N., Ohtsuka-Kawatari, N., Kumagai, K., Sakamoto, K., Kobayashi, M., et al. (2006). Overexpression of Monocyte Chemoattractant Protein-1 in Adipose Tissues Causes Macrophage Recruitment and Insulin Resistance. *J. Biol. Chem.* 281, 26602–26614.

Kamphorst, J.J., Nofal, M., Commisso, C., Hackett, S.R., Lu, W., Grabocka, E., Vander Heiden, M.G., Miller, G., Drebin, J.A., Bar-Sagi, D., et al. (2015). Human Pancreatic Cancer Tumors Are Nutrient Poor and Tumor Cells Actively Scavenge Extracellular Protein. *Cancer Res.* 75, 544–553.

Kanda, H. (2006). MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J. Clin. Invest.* 116, 1494–1505.

Karlsson, M., Contreras, J.A., Hellman, U., Tornqvist, H., and Holm, C. (1997). cDNA Cloning, Tissue Distribution, and Identification of the Catalytic Triad of Monoglyceride Lipase: EVOLUTIONARY RELATIONSHIP TO ESTERASES, LYSOPHOSPHOLIPASES, AND HALOPEROXIDASES. *J. Biol. Chem.* 272, 27218–27223.

Katayama, Y., Battista, M., Kao, W.-M., Hidalgo, A., Peired, A.J., Thomas, S.A., and Frenette, P.S. (2006). Signals from the Sympathetic Nervous System Regulate Hematopoietic Stem Cell Egress from Bone Marrow. *Cell* 124, 407–421.

Kawamura, S., Onai, N., Miya, F., Sato, T., Tsunoda, T., Kurabayashi, K., Yotsumoto, S., Kuroda, S., Takenaka, K., Akashi, K., et al. (2017). Identification of a Human Clonogenic Progenitor with Strict Monocyte Differentiation Potential: A Counterpart of Mouse cMoPs. *Immunity* 46, 835-848.e4.

Kazak, L., Chouchani, E.T., Jedrychowski, M.P., Erickson, B.K., Shinoda, K., Cohen, P., Vetrivelan, R., Lu, G.Z., Laznik-Bogoslavski, D., Hasenfuss, S.C., et al. (2015). A Creatine-Driven Substrate Cycle Enhances Energy Expenditure and Thermogenesis in Beige Fat. *Cell* 163, 643–655.

Kazemi, M.R., McDonald, C.M., Shigenaga, J.K., Grunfeld, C., and Feingold, K.R. (2005). Adipocyte Fatty Acid-Binding Protein Expression and Lipid Accumulation Are Increased During Activation of Murine Macrophages by Toll-Like Receptor Agonists. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25, 1220–1224.

Kelly, B., and O’Neill, L.A. (2015). Metabolic reprogramming in macrophages and dendritic cells in innate immunity. *Cell Res.* 25, 771–784.

Kennedy, D.W., and Abkowitz, J.L. (1997). Kinetics of central nervous system microglial and macrophage engraftment: analysis using a transgenic bone marrow transplantation model. *Blood* 90, 986–993.

Kershaw, E.E., and Flier, J.S. (2004). Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89, 2548–2556.

Kim, C. (2010). Homeostatic and pathogenic extramedullary hematopoiesis. *J. Blood Med.* 13.

Kim, D.-H., Sarbassov, D.D., Ali, S.M., King, J.E., Latek, R.R., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., and Sabatini, D.M. (2002). mTOR Interacts with Raptor to Form a Nutrient-Sensitive Complex that Signals to the Cell Growth Machinery. *Cell* 110, 163–175.

Kir, S., White, J.P., Kleiner, S., Kazak, L., Cohen, P., Baracos, V.E., and Spiegelman, B.M. (2014). Tumour-derived PTH-related protein triggers adipose tissue browning and cancer cachexia. *Nature* 513, 100–104.

Kiskinis, E., Chatzeli, L., Curry, E., Kaforou, M., Frontini, A., Cinti, S., Montana, G., Parker, M.G., and Christian, M. (2014). RIP140 Represses the “Brown-in-White” Adipocyte Program Including a Futile Cycle of Triacylglycerol Breakdown and Synthesis. *Mol. Endocrinol.* 28, 344–356.

Kitchen, G.B., Cunningham, P.S., Poolman, T.M., Iqbal, M., Maidstone, R., Baxter, M., Bagnall, J., Begley, N., Saer, B., Hussell, T., et al. (2020). The clock gene *Bmal1* inhibits macrophage motility, phagocytosis, and impairs defense against pneumonia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 117, 1543–1551.

Knutsson, A., Hallquist, J., Reuterwall, C., Theorell, T., and Akerstedt, T. (1999). Shiftwork and myocardial infarction: a case-control study. *Occup. Environ. Med.* 56, 46–50.

Kohyama, M., Ise, W., Edelson, B.T., Wilker, P.R., Hildner, K., Mejia, C., Frazier, W.A., Murphy, T.L., and Murphy, K.M. (2009). Role for Spi-C in the development of red pulp macrophages and splenic iron homeostasis. *Nature* 457, 318–321.

Kollet, O., Dar, A., Shvitiel, S., Kalinkovich, A., Lapid, K., Sztainberg, Y., Tesio, M., Samstein, R.M., Goichberg, P., Spiegel, A., et al. (2006). Osteoclasts degrade endosteal components and promote mobilization of hematopoietic progenitor cells. *Nat. Med.* 12, 657–664.

Kooijman, S., van den Berg, R., Ramkisoensing, A., Boon, M.R., Kuipers, E.N., Loef, M., Zonneveld, T.C.M., Lucassen, E.A., Sips, H.C.M., Chatzisprou, I.A., et al. (2015). Prolonged daily light exposure increases body fat mass through attenuation of brown adipose tissue activity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112, 6748–6753.

Kopp, H.-G., Avecilla, S.T., Hooper, A.T., and Rafii, S. (2005). The Bone Marrow Vascular Niche: Home of HSC Differentiation and Mobilization. *Physiology* 20, 349–356.

Korsten, J., Grossman, H., Winchester, P.H., and Canale, V.C. (1970). Extramedullary Hematopoiesis in Patients with Thalassemia Anemia. *Radiology* 95, 257–263.

Koso, H., Tshako, A., Lai, C.-Y., Baba, Y., Otsu, M., Ueno, K., Nagasaki, M., Suzuki, Y., and Watanabe, S. (2016). Conditional rod photoreceptor ablation reveals Sall1 as a microglial marker and regulator of microglial morphology in the retina: Sall1 Marks Microglia and Regulates its Shape. *Glia* 64, 2005–2024.

Kotzbeck, P., Giordano, A., Mondini, E., Murano, I., Severi, I., Venema, W., Cecchini, M.P., Kershaw, E.E., Barbatelli, G., Haemmerle, G., et al. (2018). Brown adipose tissue whitening leads to brown adipocyte death and adipose tissue inflammation. *J. Lipid Res.* 59, 784–794.

Kratofil, R.M., Kubes, P., and Deniset, J.F. (2017). Monocyte Conversion During Inflammation and Injury. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 37, 35–42.

Kratz, M., Coats, B.R., Hisert, K.B., Hagman, D., Mutskov, V., Peris, E., Schoenfelt, K.Q., Kuzma, J.N., Larson, I., Billing, P.S., et al. (2014). Metabolic Dysfunction Drives a Mechanistically Distinct Proinflammatory Phenotype in Adipose Tissue Macrophages. *Cell Metab.* 20, 614–625.

Kricun, M.E. (1985). Red-yellow marrow conversion: Its effect on the location of some solitary bone lesions. *Skeletal Radiol.* 14, 10–19.

Kumar, A., D'Souza, S.S., and Thakur, A.S. (2019). Understanding the Journey of Human Hematopoietic Stem Cell Development. *Stem Cells Int.* 2019, 1–13.

Kunisaki, Y., and Frenette, P.S. (2014). Influences of vascular niches on hematopoietic stem cell fate. *Int. J. Hematol.* 99, 699–705.

Kunisaki, Y., Bruns, I., Scheiermann, C., Ahmed, J., Pinho, S., Zhang, D., Mizoguchi, T., Wei, Q., Lucas, D., Ito, K., et al. (2013). Arteriolar niches maintain haematopoietic stem cell quiescence. *Nature* 502, 637–643.

Kurotaki, D., Osato, N., Nishiyama, A., Yamamoto, M., Ban, T., Sato, H., Nakabayashi, J., Umehara, M., Miyake, N., Matsumoto, N., et al. (2013). Essential role of the IRF8-KLF4 transcription factor cascade in murine monocyte differentiation. *Blood* 121, 1839–1849.

Kurz, H., and Christ, B. (1998). Embryonic CNS macrophages and microglia do not stem from circulating, but from extravascular precursors. *Glia* 22, 98–102.

Lammers, B., Chandak, P.G., Aflaki, E., Van Puijvelde, G.H.M., Radovic, B., Hildebrand, R.B., Meurs, I., Out, R., Kuiper, J., Van Berkel, T.J.C., et al. (2011). Macrophage adipose triglyceride lipase deficiency attenuates atherosclerotic lesion development in low-density lipoprotein receptor knockout mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31, 67–73.

Lampreaia, F.P., Carmelo, J.G., and Anjos-Afonso, F. (2017). Notch Signaling in the Regulation of Hematopoietic Stem Cell. *Curr. Stem Cell Rep.* 3, 202–209.

Lass, A., Zimmermann, R., Haemmerle, G., Riederer, M., Schoiswohl, G., Schweiger, M., Kienesberger, P., Strauss, J.G., Gorkiewicz, G., and Zechner, R. (2006). Adipose triglyceride lipase-mediated lipolysis of cellular fat stores is activated by CGI-58 and defective in Chanarin-Dorfman Syndrome. *Cell Metab.* 3, 309–319.

Lass, A., Zimmermann, R., Oberer, M., and Zechner, R. (2011). Lipolysis – A highly regulated multi-enzyme complex mediates the catabolism of cellular fat stores. *Prog. Lipid Res.* 50, 14–27.

Lasselin, J., Rehman, J., Åkerstedt, T., Lekander, M., and Axelsson, J. (2015). Effect of long-term sleep restriction and subsequent recovery sleep on the diurnal rhythms of white blood cell subpopulations. *Brain. Behav. Immun.* 47, 93–99.

Lavin, Y., Winter, D., Blecher-Gonen, R., David, E., Keren-Shaul, H., Merad, M., Jung, S., and Amit, I. (2014). Tissue-Resident Macrophage Enhancer Landscapes Are Shaped by the Local Microenvironment. *Cell* 159, 1312–1326.

Lefebvre, E., Gottwald, M., Lasseter, K., Chang, W., Willett, M., Smith, P., Somasunderam, A., and Utay, N. (2016). Pharmacokinetics, Safety, and CCR2/CCR5 Antagonist Activity of Cenicriviroc in Participants With Mild or Moderate Hepatic Impairment: Cenicriviroc in Hepatic-Impaired Participants. *Clin. Transl. Sci.* 9, 139–148.

Lessard, A.-J., LeBel, M., Egarnes, B., Préfontaine, P., Thériault, P., Droit, A., Brunet, A., Rivest, S., and Gosselin, J. (2017). Triggering of NOD2 Receptor Converts Inflammatory Ly6C high into Ly6C low Monocytes with Patrolling Properties. *Cell Rep.* 20, 1830–1843.

Li, Y., Fromme, T., Schweizer, S., Schöttl, T., and Klingenspor, M. (2014). Taking control over intracellular fatty acid levels is essential for the analysis of thermogenic function in cultured primary brown and brite/beige adipocytes. *EMBO Rep.* 15, 1069–1076.

Liaskou, E., Zimmermann, H.W., Li, K.-K., Oo, Y.H., Suresh, S., Stamataki, Z., Qureshi, O., Lalor, P.F., Shaw, J., Syn, W., et al. (2013). Monocyte subsets in human liver disease show distinct phenotypic and functional characteristics. *Hepatology* 57, 385–398.

Lin, C., Tang, X., Zhu, Z., Liao, X., Zhao, R., Fu, W., Chen, B., Jiang, J., Qian, R., and Guo, D. (2014). The rhythmic expression of clock genes attenuated in human plaque-derived vascular smooth muscle cells. *Lipids Health Dis.* 13, 14.

Linke, M., Pham, H.T.T., Katholnig, K., Schnöller, T., Miller, A., Demel, F., Schütz, B., Rosner, M., Kovacic, B., Sukhbaatar, N., et al. (2017). Chronic signaling via the metabolic checkpoint kinase mTORC1 induces macrophage granuloma formation and marks sarcoidosis progression. *Nat. Immunol.* 18, 293–302.

Liu, D., Zhang, H., Gu, W., Liu, Y., and Zhang, M. (2013). Neuroprotective Effects of Ginsenoside Rb1 on High Glucose-Induced Neurotoxicity in Primary Cultured Rat Hippocampal Neurons. *PLoS ONE* 8, e79399.

Liu, P.-S., Wang, H., Li, X., Chao, T., Teav, T., Christen, S., Di Conza, G., Cheng, W.-C., Chou, C.-H., Vavakova, M., et al. (2017). α -ketoglutarate orchestrates macrophage activation through metabolic and epigenetic reprogramming. *Nat. Immunol.* 18, 985–994.

Locke, R.M., Rial, E., Scott, I.D., and Nicholls, D.G. (1982). Fatty Acids as Acute Regulators of the Proton Conductance of Hamster Brown-Fat Mitochondria. *Eur. J. Biochem.* 129, 373–380.

Longo, N., Frigeni, M., and Pasquali, M. (2016). Carnitine transport and fatty acid oxidation. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res.* 1863, 2422–2435.

Lowell, B.B., S-Susulic, V., Hamann, A., Lawitts, J.A., Himms-Hagen, J., Boyer, B.B., Kozak, L.P., and Flier, J.S. (1993). Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature* 366, 740–742.

Lucas, D., Battista, M., Shi, P.A., Isola, L., and Frenette, P.S. (2008). Mobilized Hematopoietic Stem Cell Yield Depends on Species-Specific Circadian Timing. *Cell Stem Cell* 3, 364–366.

Lumeng, C.N., and Saltiel, A.R. (2011). Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J. Clin. Invest.* 121, 2111–2117.

Lumeng, C.N., Bodzin, J.L., and Saltiel, A.R. (2007). Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J. Clin. Invest.* 117, 175–184.

Lumeng, C.N., DelProposto, J.B., Westcott, D.J., and Saltiel, A.R. (2008). Phenotypic Switching of Adipose Tissue Macrophages With Obesity Is Generated by Spatiotemporal Differences in Macrophage Subtypes. *Diabetes* 57, 3239–3246.

Lunt, S.Y., and Vander Heiden, M.G. (2011). Aerobic Glycolysis: Meeting the Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 27, 441–464.

Luong, Q., Huang, J., and Lee, K.Y. (2019). Deciphering White Adipose Tissue Heterogeneity. *Biology* 8, 23.

Lusis, A.J. (2000). Atherosclerosis. *Nature* 407, 233–241.

Mack, M., Cihak, J., Simonis, C., Luckow, B., Proudfoot, A.E.I., Plachý, J., Brühl, H., Frink, M., Anders, H.-J., Vielhauer, V., et al. (2001). Expression and Characterization of the Chemokine Receptors CCR2 and CCR5 in Mice. *J. Immunol.* 166, 4697–4704.

MacMicking, J., Xie, Q., and Nathan, C. (1997). NITRIC OXIDE AND MACROPHAGE FUNCTION. *Annu. Rev. Immunol.* 15, 323–350.

Makowski, L., Boord, J.B., Maeda, K., Babaev, V.R., Uysal, K.T., Morgan, M.A., Parker, R.A., Suttles, J., Fazio, S., Hotamisligil, G.S., et al. (2001). Lack of macrophage fatty-acid-binding protein aP2 protects mice deficient in apolipoprotein E against atherosclerosis. *Nat. Med.* 7, 699–705.

Malandrino, M.I., Fucho, R., Weber, M., Calderon-Dominguez, M., Mir, J.F., Valcarcel, L., Escoté, X., Gómez-Serrano, M., Peral, B., Salvadó, L., et al. (2015). Enhanced fatty acid oxidation in adipocytes and macrophages reduces lipid-induced triglyceride accumulation and inflammation. *Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab.* 308, E756–E769.

Malone, J.D., Richards, M., and Kahn, A.J. (1986). Human peripheral monocytes express putative receptors for neuroexcitatory amino acids. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 83, 3307–3310.

Man, K., Loudon, A., and Chawla, A. (2016). Immunity around the clock. *Science* 354, 999–1003.

Mansour, A., Abou-Ezzi, G., Sitnicka, E., W. Jacobsen, S.E., Wakkach, A., and Blin-Wakkach, C. (2012). Osteoclasts promote the formation of hematopoietic stem cell niches in the bone marrow. *J. Exp. Med.* 209, 537–549.

Manzel, A., Muller, D.N., Hafler, D.A., Erdman, S.E., Linker, R.A., and Kleinewietfeld, M. (2014). Role of “Western Diet” in Inflammatory Autoimmune Diseases. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 14, 404.

Maridas, D.E., Rendina-Ruedy, E., Helderman, R.C., DeMambro, V.E., Brooks, D., Guntur, A.R., Lanske, B., Bouxsein, M.L., and Rosen, C.J. (2019). Progenitor recruitment and adipogenic lipolysis contribute to the anabolic actions of parathyroid hormone on the skeleton. *FASEB J.* 33, 2885–2898.

Mass, E., Ballesteros, I., Farlik, M., Halbritter, F., Gunther, P., Crozet, L., Jacome-Galarza, C.E., Handler, K., Klughammer, J., Kobayashi, Y., et al. (2016). Specification of tissue-resident macrophages during organogenesis. *Science* 353, aaf4238–aaf4238.

Matsushita, M., Yoneshiro, T., Aita, S., Kameya, T., Sugie, H., and Saito, M. (2014). Impact of brown adipose tissue on body fatness and glucose metabolism in healthy humans. *Int. J. Obes.* 38, 812–817.

Mayeuf-Louchart, A., Zecchin, M., Staels, B., and Duez, H. (2017). Circadian control of metabolism and pathological consequences of clock perturbations. *Biochimie* 143, 42–50.

McKercher, S.R., Torbett, B.E., Anderson, K.L., Henkel, G.W., Vestal, D.J., Baribault, H., Klemsz, M., Feeney, A.J., Wu, G.E., Paige, C.J., et al. (1996). Targeted disruption of the PU.1 gene results in multiple hematopoietic abnormalities. *EMBO J.* 15, 5647–5658.

McKim, D.B., Yin, W., Wang, Y., Cole, S.W., Godbout, J.P., and Sheridan, J.F. (2018). Social Stress Mobilizes Hematopoietic Stem Cells to Establish Persistent Splenic Myelopoiesis. *Cell Rep.* 25, 2552-2562.e3.

McNelis, J.C., and Olefsky, J.M. (2014). Macrophages, Immunity, and Metabolic Disease. *Immunity* 41, 36–48.

Medvinsky, A., and Dzierzak, E. (1996). Definitive Hematopoiesis Is Autonomously Initiated by the AGM Region. *Cell* 86, 897–906.

Méndez-Ferrer, S., Lucas, D., Battista, M., and Frenette, P.S. (2008). Haematopoietic stem cell release is regulated by circadian oscillations. *Nature* 452, 442–447.

Méndez-Ferrer, S., Michurina, T.V., Ferraro, F., Mazloom, A.R., MacArthur, B.D., Lira, S.A., Scadden, D.T., Ma’ayan, A., Enikolopov, G.N., and Frenette, P.S. (2010a). Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature* 466, 829–834.

Méndez-Ferrer, S., Battista, M., and Frenette, P.S. (2010b). Cooperation of β 2- and β 3-adrenergic receptors in hematopoietic progenitor cell mobilization: β -adrenoceptors in bone marrow microenvironment. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1192, 139–144.

Metallo, C.M., Gameiro, P.A., Bell, E.L., Mattaini, K.R., Yang, J., Hiller, K., Jewell, C.M., Johnson, Z.R., Irvine, D.J., Guarente, L., et al. (2012). Reductive glutamine metabolism by IDH1 mediates lipogenesis under hypoxia. *Nature* 481, 380–384.

Michaud, J.-P., Bellavance, M.-A., Préfontaine, P., and Rivest, S. (2013). Real-Time In Vivo Imaging Reveals the Ability of Monocytes to Clear Vascular Amyloid Beta. *Cell Rep.* 5, 646–653.

Michl, J., Ohlbaum, D.J., and Silverstein, S.C. (1976). 2-Deoxyglucose selectively inhibits Fc and complement receptor-mediated phagocytosis in mouse peritoneal macrophages II. Dissociation of the inhibitory effects of 2-deoxyglucose on phagocytosis and ATP generation. *J. Exp. Med.* 144, 1484–1493.

Miharada, K., Karlsson, G., Rehn, M., Rörby, E., Siva, K., Cammenga, J., and Karlsson, S. (2011). Cripto Regulates Hematopoietic Stem Cells as a Hypoxic-Niche-Related Factor through Cell Surface Receptor GRP78. *Cell Stem Cell* 9, 330–344.

Mildner, A., Schmidt, H., Nitsche, M., Merkler, D., Hanisch, U.-K., Mack, M., Heikenwalder, M., Brück, W., Priller, J., and Prinz, M. (2007). Microglia in the adult brain arise from Ly-6ChiCCR2+ monocytes only under defined host conditions. *Nat. Neurosci.* 10, 1544–1553.

Milner, J.D., Orekov, T., Ward, J.M., Cheng, L., Torres-Velez, F., Junttila, I., Sun, G., Buller, M., Morris, S.C., Finkelman, F.D., et al. (2010). Sustained IL-4 exposure leads to a novel pathway for hemophagocytosis, inflammation, and tissue macrophage accumulation. *Blood* 116, 2476–2483.

Mirza, A.Z., Althagafi, I.I., and Shamshad, H. (2019). Role of PPAR receptor in different diseases and their ligands: Physiological importance and clinical implications. *Eur. J. Med. Chem.* 166, 502–513.

Molawi, K., Wolf, Y., Kandalla, P.K., Favret, J., Hagemeyer, N., Frenzel, K., Pinto, A.R., Klapproth, K., Henri, S., Malissen, B., et al. (2014). Progressive replacement of embryo-derived cardiac macrophages with age. *J. Exp. Med.* 211, 2151–2158.

Moon, J.-S., Hisata, S., Park, M.-A., DeNicola, G.M., Ryter, S.W., Nakahira, K., and Choi, A.M.K. (2015). mTORC1-Induced HK1-Dependent Glycolysis Regulates NLRP3 Inflammasome Activation. *Cell Rep.* 12, 102–115.

Morales-Nebreda, L., Misharin, A.V., Perlman, H., and Budinger, G.R.S. (2015). The heterogeneity of lung macrophages in the susceptibility to disease. *Eur. Respir. Rev.* 24, 505–509.

Morikawa, T., and Takubo, K. (2016). Hypoxia regulates the hematopoietic stem cell niche. *Pflüg. Arch. - Eur. J. Physiol.* 468, 13–22.

Morioka, S., Perry, J.S.A., Raymond, M.H., Medina, C.B., Zhu, Y., Zhao, L., Serbulea, V., Onengut-Gumuscu, S., Leitinger, N., Kucenas, S., et al. (2018). Efferocytosis induces a novel SLC program to promote glucose uptake and lactate release. *Nature* 563, 714–718.

Morris, C.J., Purvis, T.E., Hu, K., and Scheer, F.A.J.L. (2016). Circadian misalignment increases cardiovascular disease risk factors in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113, E1402–E1411.

Morrison, S.J., and Scadden, D.T. (2014). The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature* 505, 327–334.

Morrison, S.J., and Spradling, A.C. (2008). Stem Cells and Niches: Mechanisms That Promote Stem Cell Maintenance throughout Life. *Cell* 132, 598–611.

Mottillo, E.P., Shen, X.J., and Granneman, J.G. (2007). Role of hormone-sensitive lipase in β -adrenergic remodeling of white adipose tissue. *Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab.* 293, E1188–E1197.

Movita, D., Kreefft, K., Biesta, P., van Oudenaren, A., Leenen, P.J.M., Janssen, H.L.A., and Boonstra, A. (2012). Kupffer cells express a unique combination of phenotypic and functional characteristics compared with splenic and peritoneal macrophages. *J. Leukoc. Biol.* 92, 723–733.

Mucenski, M.L., McLain, K., Kier, A.B., Swerdlow, S.H., Schreiner, C.M., Miller, T.A., Pietryga, D.W., Scott, W.J., and Potter, S.S. (1991). A functional c-myb gene is required for normal murine fetal hepatic hematopoiesis. *Cell* 65, 677–689.

Mueller, W.M., Gregoire, F.M., Stanhope, K.L., Mobbs, C.V., Mizuno, T.M., Warden, C.H., Stern, J.S., and Havel, P.J. (1998). Evidence That Glucose Metabolism Regulates Leptin Secretion from Cultured Rat Adipocytes*. *Endocrinology* 139, 551–558.

Muller, P.A., Koscsó, B., Rajani, G.M., Stevanovic, K., Berres, M.-L., Hashimoto, D., Mortha, A., Leboeuf, M., Li, X.-M., Mucida, D., et al. (2014). Crosstalk between Muscularis Macrophages and Enteric Neurons Regulates Gastrointestinal Motility. *Cell* 158, 300–313.

Nagai, K., Nishio, T., Nakagawa, H., Nakamura, S., and Fukuda, Y. (1978). Effect of bilateral lesions of the suprachiasmatic nuclei on the circadian rhythm of food-intake. *Brain Res.* 142, 384–389.

Namgaladze, D., and Brüne, B. (2014). Fatty acid oxidation is dispensable for human macrophage IL-4-induced polarization. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1841, 1329–1335.

Nandakumar, S.K., Ulirsch, J.C., and Sankaran, V.G. (2016). Advances in understanding erythropoiesis: evolving perspectives. *Br. J. Haematol.* 173, 206–218.

Nandy, D., Janardhanan, R., Mukhopadhyay, D., and Basu, A. (2011). Effect of Hyperglycemia on Human Monocyte Activation. *J. Investig. Med.* 59, 661–667.

Narkar, V.A., Downes, M., Yu, R.T., Embler, E., Wang, Y.-X., Banayo, E., Mihaylova, M.M., Nelson, M.C., Zou, Y., Juguilon, H., et al. (2008). AMPK and PPAR δ Agonists Are Exercise Mimetics. *Cell* 134, 405–415.

Nasir, K., Guallar, E., Navas-Acien, A., Criqui, M.H., and Lima, J.A.C. (2005). Relationship of Monocyte Count and Peripheral Arterial Disease: Results From the National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2002. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25, 1966–1971.

Natali, A., Gastaldelli, A., Camastra, S., Baldi, S., Quagliarini, F., Minicocci, I., Bruno, C., Pennisi, E., and Arca, M. (2013). Metabolic Consequences of Adipose Triglyceride Lipase Deficiency in Humans: An In Vivo Study in Patients With Neutral Lipid Storage Disease With Myopathy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98, E1540–E1548.

Nathan, C. (1992). Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J.* 6, 3051–3064.

Naveiras, O., Nardi, V., Wenzel, P.L., Hauschka, P.V., Fahey, F., and Daley, G.Q. (2009). Bone-marrow adipocytes as negative regulators of the haematopoietic microenvironment. *Nature* 460, 259–263.

Nedergaard, J., Cannon, B., and Lindberg, O. (1977). Microcalorimetry of isolated mammalian cells. *Nature* 267, 518–520.

Newgard, C.B., An, J., Bain, J.R., Muehlbauer, M.J., Stevens, R.D., Lien, L.F., Haqq, A.M., Shah, S.H., Arlotto, M., Slentz, C.A., et al. (2009). A Branched-Chain Amino Acid-Related Metabolic Signature that Differentiates Obese and Lean Humans and Contributes to Insulin Resistance. *Cell Metab.* 9, 311–326.

Newsholme, P., Curi, R., Gordon, S., and Newsholme, E.A. (1986). Metabolism of glucose, glutamine, long-chain fatty acids and ketone bodies by murine macrophages. *Biochem. J.* 239, 121–125.

Nguyen, K.D., Fentress, S.J., Qiu, Y., Yun, K., Cox, J.S., and Chawla, A. (2013). Circadian Gene *Bmal1* Regulates Diurnal Oscillations of Ly6Chi Inflammatory Monocytes. *Science* 341, 1483–1488.

Nguyen, M.T.A., Favelyukis, S., Nguyen, A.-K., Reichart, D., Scott, P.A., Jenn, A., Liu-Bryan, R., Glass, C.K., Neels, J.G., and Olefsky, J.M. (2007). A Subpopulation of Macrophages Infiltrates Hypertrophic Adipose Tissue and Is Activated by Free Fatty Acids via Toll-like Receptors 2 and 4 and JNK-dependent Pathways. *J. Biol. Chem.* 282, 35279–35292.

Nicholls, D.G. (2017). The hunt for the molecular mechanism of brown fat thermogenesis. *Biochimie* 134, 9–18.

Nicklin, P., Bergman, P., Zhang, B., Triantafellow, E., Wang, H., Nyfeler, B., Yang, H., Hild, M., Kung, C., Wilson, C., et al. (2009). Bidirectional Transport of Amino Acids Regulates mTOR and Autophagy. *Cell* 136, 521–534.

Nie, Y., Han, Y.-C., and Zou, Y.-R. (2008). CXCR4 is required for the quiescence of primitive hematopoietic cells. *J. Exp. Med.* 205, 777–783.

Nishimura, S., Manabe, I., Nagasaki, M., Hosoya, Y., Yamashita, H., Fujita, H., Ohsugi, M., Tobe, K., Kadowaki, T., Nagai, R., et al. (2007). Adipogenesis in Obesity Requires Close Interplay Between Differentiating Adipocytes, Stromal Cells, and Blood Vessels. *Diabetes* 56, 1517–1526.

Nishiyama, K., Fujita, T., Fujimoto, Y., Nakajima, H., Takeuchi, T., and Azuma, Y.-T. (2018). Fatty acid transport protein 1 enhances the macrophage inflammatory response by coupling with ceramide and c-Jun N-terminal kinase signaling. *Int. Immunopharmacol.* 55, 205–215.

Nishizawa, T., Kanter, J.E., Kramer, F., Barnhart, S., Shen, X., Vivekanandan-Giri, A., Wall, V.Z., Kowitz, J., Devaraj, S., O'Brien, K.D., et al. (2014). Testing the Role of Myeloid Cell Glucose Flux in Inflammation and Atherosclerosis. *Cell Rep.* 7, 356–365.

Nomura, M., Liu, J., Rovira, I.I., Gonzalez-Hurtado, E., Lee, J., Wolfgang, M.J., and Finkel, T. (2016). Fatty acid oxidation in macrophage polarization. *Nat. Immunol.* 17, 216–217.

Notta, F., Zandi, S., Takayama, N., Dobson, S., Gan, O.I., Wilson, G., Kaufmann, K.B., McLeod, J., Laurenti, E., Dunant, C.F., et al. (2016). Distinct routes of lineage development reshape the human blood hierarchy across ontogeny. *Science* 351, aab2116–aab2116.

Oburoglu, L., Tardito, S., Fritz, V., de Barros, S.C., Merida, P., Craveiro, M., Mamede, J., Cretenet, G., Mongellaz, C., An, X., et al. (2014). Glucose and Glutamine Metabolism Regulate Human Hematopoietic Stem Cell Lineage Specification. *Cell Stem Cell* 15, 169–184.

O'Connor, R.S., Guo, L., Ghassemi, S., Snyder, N.W., Worth, A.J., Weng, L., Kam, Y., Philipson, B., Trefely, S., Nunez-Cruz, S., et al. (2018). The CPT1a inhibitor, etomoxir induces severe oxidative stress at commonly used concentrations. *Sci. Rep.* 8, 6289.

Oda, A., Tezuka, T., Ueno, Y., Hosoda, S., Amemiya, Y., Notsu, C., Kasahara, T., Nishiyama, C., and Goitsuka, R. (2018). Niche-induced extramedullary hematopoiesis in the spleen is regulated by the transcription factor Tlx1. *Sci. Rep.* 8, 8308.

Oh, D.Y., Walenta, E., Akiyama, T.E., Lagakos, W.S., Lackey, D., Pessentheiner, A.R., Sasik, R., Hah, N., Chi, T.J., Cox, J.M., et al. (2014). A Gpr120-selective agonist improves insulin resistance and chronic inflammation in obese mice. *Nat. Med.* 20, 942–947.

Okada, S., Nakauchi, H., Nagayoshi, K., Nishikawa, S., Miura, Y., and Suda, T. (1992). In vivo and in vitro stem cell function of c-kit- and Sca-1-positive murine hematopoietic cells. *Blood* 80, 3044–3050.

Olivecrona, G. (2016). Role of lipoprotein lipase in lipid metabolism: *Curr. Opin. Lipidol.* 27, 233–241.

Olsson, A., Venkatasubramanian, M., Chaudhri, V.K., Aronow, B.J., Salomonis, N., Singh, H., and Grimes, H.L. (2016). Single-cell analysis of mixed-lineage states leading to a binary cell fate choice. *Nature* 537, 698–702.

Olzmann, J.A., and Carvalho, P. (2019). Dynamics and functions of lipid droplets. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 20, 137–155.

Omatsu, Y., Sugiyama, T., Kohara, H., Kondoh, G., Fujii, N., Kohno, K., and Nagasawa, T. (2010). The Essential Functions of Adipo-osteogenic Progenitors as the Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Niche. *Immunity* 33, 387–399.

O'Neill, L.A.J. (2016). A Metabolic Roadblock in Inflammatory Macrophages. *Cell Rep.* 17, 625–626.

O'Neill, L.A.J., Kishton, R.J., and Rathmell, J. (2016). A guide to immunometabolism for immunologists. *Nat. Rev. Immunol.* 16, 553–565.

Osborn, O., and Olefsky, J.M. (2012). The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat. Med.* 18, 363–374.

Osuga, J. -i., Ishibashi, S., Oka, T., Yagyū, H., Tozawa, R., Fujimoto, A., Shionoiri, F., Yahagi, N., Kraemer, F.B., Tsutsumi, O., et al. (2000). Targeted disruption of hormone-sensitive lipase results in male sterility and adipocyte hypertrophy, but not in obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97, 787–792.

Ouellet, V., Routhier-Labadie, A., Bellemare, W., Lakhali-Chaieb, L., Turcotte, E., Carpentier, A.C., and Richard, D. (2011). Outdoor Temperature, Age, Sex, Body Mass Index, and Diabetic Status Determine the Prevalence, Mass, and Glucose-Uptake Activity of ¹⁸F-FDG-Detected BAT in Humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 96, 192–199.

Ouellet, V., Labbé, S.M., Blondin, D.P., Phoenix, S., Guérin, B., Haman, F., Turcotte, E.E., Richard, D., and Carpentier, A.C. (2012). Brown adipose tissue oxidative metabolism contributes to energy expenditure during acute cold exposure in humans. *J. Clin. Invest.* 122, 545–552.

Ouimet, M., Franklin, V., Mak, E., Liao, X., Tabas, I., and Marcel, Y.L. (2011). Autophagy Regulates Cholesterol Efflux from Macrophage Foam Cells via Lysosomal Acid Lipase. *Cell Metab.* 13, 655–667.

Palis, J. (2001). Yolk-sac hematopoiesis The first blood cells of mouse and man. *Exp. Hematol.* 29, 927–936.

Palmer, C.S., Anzinger, J.J., Zhou, J., Gouillou, M., Landay, A., Jaworowski, A., McCune, J.M., and Crowe, S.M. (2014). Glucose Transporter 1–Expressing Proinflammatory Monocytes Are Elevated in Combination Antiretroviral Therapy–Treated and Untreated HIV + Subjects. *J. Immunol.* 193, 5595–5603.

Panda, S., Antoch, M.P., Miller, B.H., Su, A.I., Schook, A.B., Straume, M., Schultz, P.G., Kay, S.A., Takahashi, J.S., and Hogenesch, J.B. (2002). Coordinated Transcription of Key Pathways in the Mouse by the Circadian Clock. *Cell* 109, 307–320.

Parmar, K., Mauch, P., Vergilio, J.-A., Sackstein, R., and Down, J.D. (2007). Distribution of hematopoietic stem cells in the bone marrow according to regional hypoxia. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 5431–5436.

Paschos, G.K., Ibrahim, S., Song, W.-L., Kunieda, T., Grant, G., Reyes, T.M., Bradfield, C.A., Vaughan, C.H., Eiden, M., Masoodi, M., et al. (2012). Obesity in mice with adipocyte-specific deletion of clock component Arntl. *Nat. Med.* 18, 1768–1777.

Passlick, B., Flieger, D., and Ziegler-Heitbrock, H.W. (1989). Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. *Blood* 74, 2527–2534.

Patel, A.A., Zhang, Y., Fullerton, J.N., Boelen, L., Rongvaux, A., Maini, A.A., Bigley, V., Flavell, R.A., Gilroy, D.W., Asquith, B., et al. (2017). The fate and lifespan of human monocyte subsets in steady state and systemic inflammation. *J. Exp. Med.* 214, 1913–1923.

Pelton, P.D., Zhou, L., Demarest, K.T., and Burris, T.P. (1999). PPAR γ Activation Induces the Expression of the Adipocyte Fatty Acid Binding Protein Gene in Human Monocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 261, 456–458.

Peng, Y., Latchman, Y., and Elkon, K.B. (2009). Ly6C low Monocytes Differentiate into Dendritic Cells and Cross-Tolerize T Cells through PDL-1. *J. Immunol.* 182, 2777–2785.

Petruzzelli, M., Schweiger, M., Schreiber, R., Campos-Olivas, R., Tsoli, M., Allen, J., Swarbrick, M., Rose-John, S., Rincon, M., Robertson, G., et al. (2014). A Switch from White to Brown Fat Increases Energy Expenditure in Cancer-Associated Cachexia. *Cell Metab.* 20, 433–447.

Pietras, E.M., Reynaud, D., Kang, Y.-A., Carlin, D., Calero-Nieto, F.J., Leavitt, A.D., Stuart, J.M., Göttgens, B., and Passegué, E. (2015). Functionally Distinct Subsets of Lineage-Biased Multipotent Progenitors Control Blood Production in Normal and Regenerative Conditions. *Cell Stem Cell* 17, 35–46.

Pinho, S., Lacombe, J., Hanoun, M., Mizoguchi, T., Bruns, I., Kunisaki, Y., and Frenette, P.S. (2013). PDGFR α and CD51 mark human Nestin⁺ sphere-forming mesenchymal stem cells capable of hematopoietic progenitor cell expansion. *J. Exp. Med.* 210, 1351–1367.

Poggiogalle, E., Jamshed, H., and Peterson, C.M. (2018). Circadian regulation of glucose, lipid, and energy metabolism in humans. *Metabolism* 84, 11–27.

Popescu, D.-M., Botting, R.A., Stephenson, E., Green, K., Webb, S., Jardine, L., Calderbank, E.F., Polanski, K., Goh, I., Efremova, M., et al. (2019). Decoding human fetal liver haematopoiesis. *Nature* 574, 365–371.

Pourcet, B., Zecchin, M., Ferri, L., Beauchamp, J., Sitaula, S., Billon, C., Delhaye, S., Vanhoutte, J., Mayeuf-Louchart, A., Thorel, Q., et al. (2018). Nuclear Receptor Subfamily 1 Group D Member 1 Regulates Circadian Activity of NLRP3 Inflammasome to Reduce the Severity of Fulminant Hepatitis in Mice. *Gastroenterology* 154, 1449-1464.e20.

Priller, J., Flügel, A., Wehner, T., Boentert, M., Haas, C.A., Prinz, M., Fernández-Klett, F., Prass, K., Bechmann, I., de Boer, B.A., et al. (2001). Targeting gene-modified hematopoietic cells to the central nervous system: Use of green fluorescent protein uncovers microglial engraftment. *Nat. Med.* 7, 1356–1361.

Prunet-Marcassus, B., Cousin, B., Caton, D., André, M., Pénicaud, L., and Casteilla, L. (2006). From heterogeneity to plasticity in adipose tissues: Site-specific differences. *Exp. Cell Res.* 312, 727–736.

Qiu, Y., Nguyen, K.D., Odegaard, J.I., Cui, X., Tian, X., Locksley, R.M., Palmiter, R.D., and Chawla, A. (2014). Eosinophils and Type 2 Cytokine Signaling in Macrophages Orchestrate Development of Functional Beige Fat. *Cell* 157, 1292–1308.

Quintar, A., McArdle, S., Wolf, D., Marki, A., Ehinger, E., Vassallo, M., Miller, J., Mikulski, Z., Ley, K., and Buscher, K. (2017). Endothelial Protective Monocyte Patrolling in Large Arteries Intensified by Western Diet and Atherosclerosis. *Circ. Res.* 120, 1789–1799.

Rafael, J., Ludolph, H.J., and Hohorst, H.J. (1969). [Mitochondria from brown adipose tissue: uncoupling of respiratory chain phosphorylation by long fatty acids and recoupling by guanosine triphosphate]. *Hoppe. Seylers Z. Physiol. Chem.* 350, 1121–1131.

Ramon, S., Dalli, J., Sanger, J.M., Winkler, J.W., Aursnes, M., Tungen, J.E., Hansen, T.V., and Serhan, C.N. (2016). The Protectin PCTR1 Is Produced by Human M2 Macrophages and Enhances Resolution of Infectious Inflammation. *Am. J. Pathol.* 186, 962–973.

Rao, R.R., Long, J.Z., White, J.P., Svensson, K.J., Lou, J., Lokurkar, I., Jedrychowski, M.P., Ruas, J.L., Wrann, C.D., Lo, J.C., et al. (2014). Meteorin-like Is a Hormone that Regulates Immune-Adipose Interactions to Increase Beige Fat Thermogenesis. *Cell* 157, 1279–1291.

Ren, D., Li, Y., Hu, B., Wang, H., and Hu, B. (2015). Melatonin regulates the rhythmic migration of neutrophils in live zebrafish. *J. Pineal Res.* 58, 452–460.

Ren, W., Liu, G., Yin, J., Tan, B., Wu, G., Bazer, F.W., Peng, Y., and Yin, Y. (2017). Amino-acid transporters in T-cell activation and differentiation. *Cell Death Dis.* 8, e2655–e2655.

Reppert, S.M., and Weaver, D.R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* 418, 935–941.

Ries, S., Büchler, C., Langmann, T., Fehring, P., Aslanidis, C., and Schmitz, G. (1998). Transcriptional regulation of lysosomal acid lipase in differentiating monocytes is mediated by transcription factors Sp1 and AP-2. *J. Lipid Res.* 39, 2125–2134.

Rivollier, A., He, J., Kole, A., Valatas, V., and Kelsall, B.L. (2012). Inflammation switches the differentiation program of Ly6Chi monocytes from antiinflammatory macrophages to inflammatory dendritic cells in the colon. *J. Exp. Med.* 209, 139–155.

Robbins, C.S., Chudnovskiy, A., Rauch, P.J., Figueiredo, J.-L., Iwamoto, Y., Gorbатов, R., Etzrodt, M., Weber, G.F., Ueno, T., van Rooijen, N., et al. (2012). Extramedullary Hematopoiesis Generates Ly-6C high Monocytes That Infiltrate Atherosclerotic Lesions. *Circulation* 125, 364–374.

Rodriguez, A.-M., Elabd, C., Amri, E.-Z., Ailhaud, G., and Dani, C. (2005). The human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Biochimie* 87, 125–128.

Rohleder, N., Marin, T.J., Ma, R., and Miller, G.E. (2009). Biologic Cost of Caring for a Cancer Patient: Dysregulation of Pro- and Anti-Inflammatory Signaling Pathways. *J. Clin. Oncol.* 27, 2909–2915.

Rosen, E.D., and MacDougald, O.A. (2006). Adipocyte differentiation from the inside out. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7, 885–896.

Rosen, E.D., and Spiegelman, B.M. (2000). Molecular Regulation of Adipogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16, 145–171.

Russo, L., and Lumeng, C.N. (2018). Properties and functions of adipose tissue macrophages in obesity. *Immunology* 155, 407–417.

Rutter, J., Reick, M., and McKnight, S.L. (2002). Metabolism and the Control of Circadian Rhythms. *Annu. Rev. Biochem.* 71, 307–331.

Rydel, T.J., Williams, J.M., Krieger, E., Moshiri, F., Stallings, W.C., Brown, S.M., Pershing, J.C., Purcell, J.P., and Alibhai, M.F. (2003). The Crystal Structure, Mutagenesis, and Activity Studies Reveal that Patatin Is a Lipid Acyl Hydrolase with a Ser-Asp Catalytic Dyad ‡. *Biochemistry* 42, 6696–6708.

Saito, M., Okamatsu-Ogura, Y., Matsushita, M., Watanabe, K., Yoneshiro, T., Nio-Kobayashi, J., Iwanaga, T., Miyagawa, M., Kameya, T., Nakada, K., et al. (2009). High Incidence of Metabolically Active Brown Adipose Tissue in Healthy Adult Humans: Effects of Cold Exposure and Adiposity. *Diabetes* 58, 1526–1531.

Sakai, M., Troutman, T.D., Seidman, J.S., Ouyang, Z., Spann, N.J., Abe, Y., Ego, K.M., Bruni, C.M., Deng, Z., Schlachetzki, J.C.M., et al. (2019). Liver-Derived Signals Sequentially Reprogram Myeloid Enhancers to Initiate and Maintain Kupffer Cell Identity. *Immunity* 51, 655-670.e8.

Salgueiro-Pereira, A.R., Duprat, F., Pousinha, P.A., Loucif, A., Douchamps, V., Regondi, C., Ayrault, M., Eugie, M., Stunault, M.I., Escayg, A., et al. (2019). A two-hit story: Seizures and genetic mutation interaction sets phenotype severity in SCN1A epilepsies. *Neurobiol. Dis.* 125, 31–44.

Saraswathi, V., and Hasty, A.H. (2009). Inhibition of long-chain acyl coenzyme A synthetases during fatty acid loading induces lipotoxicity in macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 29, 1937–1943.

Saresella, M., Marventano, I., Calabrese, E., Piancone, F., Rainone, V., Gatti, A., Alberoni, M., Nemni, R., and Clerici, M. (2013). A Complex Proinflammatory Role for Peripheral Monocytes in Alzheimer's Disease. *J. Alzheimers Dis.* 38, 403–413.

Sárvári, A.K., Doan-Xuan, Q.-M., Bacsó, Z., Csomós, I., Balajthy, Z., and Fésüs, L. (2015). Interaction of differentiated human adipocytes with macrophages leads to trogocytosis and selective IL-6 secretion. *Cell Death Dis.* 6, e1613–e1613.

Satoh, T., Nakagawa, K., Sugihara, F., Kuwahara, R., Ashihara, M., Yamane, F., Minowa, Y., Fukushima, K., Ebina, I., Yoshioka, Y., et al. (2017). Identification of an atypical monocyte and committed progenitor involved in fibrosis. *Nature* 541, 96–101.

Satpathy, A.T., Kc, W., Albring, J.C., Edelson, B.T., Kretzer, N.M., Bhattacharya, D., Murphy, T.L., and Murphy, K.M. (2012). *Zbtb46* expression distinguishes classical dendritic cells and their committed progenitors from other immune lineages. *J. Exp. Med.* 209, 1135–1152.

Saxton, R.A., and Sabatini, D.M. (2017). mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell* 168, 960–976.

Scarpace, P.J., and Matheny, M. (1998). Leptin induction of UCP1 gene expression is dependent on sympathetic innervation. *Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab.* 275, E259–E264.

Schaffer, J.E., and Lodish, H.F. (1994). Expression cloning and characterization of a novel adipocyte long chain fatty acid transport protein. *Cell* 79, 427–436.

Scheiermann, C., Kunisaki, Y., Lucas, D., Chow, A., Jang, J.-E., Zhang, D., Hashimoto, D., Merad, M., and Frenette, P.S. (2012). Adrenergic Nerves Govern Circadian Leukocyte Recruitment to Tissues. *Immunity* 37, 290–301.

Schipper, H.S., Prakken, B., Kalkhoven, E., and Boes, M. (2012). Adipose tissue-resident immune cells: key players in immunometabolism. *Trends Endocrinol. Metab.* 23, 407–415.

Schlager, S., Goeritzer, M., Jandl, K., Frei, R., Vujic, N., Kolb, D., Strohmaier, H., Dorow, J., Eichmann, T.O., Rosenberger, A., et al. (2015). Adipose triglyceride lipase acts on neutrophil lipid droplets to regulate substrate availability for lipid mediator synthesis. *J. Leukoc. Biol.* 98, 837–850.

Schoettl, T., Fischer, I.P., and Ussar, S. (2018). Heterogeneity of adipose tissue in development and metabolic function. *J. Exp. Biol.* 221, jeb162958.

Schoiswohl, G., Stefanovic-Racic, M., Menke, M.N., Wills, R.C., Surlow, B.A., Basantani, M.K., Sitnick, M.T., Cai, L., Yazbeck, C.F., Stolz, D.B., et al. (2015). Impact of Reduced

ATGL-Mediated Adipocyte Lipolysis on Obesity-Associated Insulin Resistance and Inflammation in Male Mice. *Endocrinology* 156, 3610–3624.

Schönfeld, P., and Wojtczak, L. (2016). Short- and medium-chain fatty acids in energy metabolism: the cellular perspective. *J. Lipid Res.* 57, 943–954.

Schreiber, R., Diwoky, C., Schoiswohl, G., Feiler, U., Wongsiriroj, N., Abdellatif, M., Kolb, D., Hoeks, J., Kershaw, E.E., Sedej, S., et al. (2017). Cold-Induced Thermogenesis Depends on ATGL-Mediated Lipolysis in Cardiac Muscle, but Not Brown Adipose Tissue. *Cell Metab.* 26, 753-763.e7.

Schreiber, R., Xie, H., and Schweiger, M. (2019). Of mice and men: The physiological role of adipose triglyceride lipase (ATGL). *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1864, 880–899.

Schuldiner, M., and Bohnert, M. (2017). A different kind of love – lipid droplet contact sites. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1862, 1188–1196.

Schulz, C., Perdiguero, E.G., Chorro, L., Szabo-Rogers, H., Cagnard, N., Kierdorf, K., Prinz, M., Wu, B., Jacobsen, S.E.W., Pollard, J.W., et al. (2012). A Lineage of Myeloid Cells Independent of Myb and Hematopoietic Stem Cells. *Science* 336, 86–90.

Schwartz, W., and Gainer, H. (1977). Suprachiasmatic nucleus: use of ¹⁴C-labeled deoxyglucose uptake as a functional marker. *Science* 197, 1089–1091.

Schweiger, M., Schreiber, R., Haemmerle, G., Lass, A., Fledelius, C., Jacobsen, P., Tornqvist, H., Zechner, R., and Zimmermann, R. (2006). Adipose Triglyceride Lipase and Hormone-sensitive Lipase Are the Major Enzymes in Adipose Tissue Triacylglycerol Catabolism. *J. Biol. Chem.* 281, 40236–40241.

Schweiger, M., Schoiswohl, G., Lass, A., Radner, F.P.W., Haemmerle, G., Malli, R., Graier, W., Cornaciu, I., Oberer, M., Salvayre, R., et al. (2008). The C-terminal Region of Human Adipose Triglyceride Lipase Affects Enzyme Activity and Lipid Droplet Binding. *J. Biol. Chem.* 283, 17211–17220.

Schweiger, M., Romauch, M., Schreiber, R., Grabner, G.F., Hütter, S., Kotzbeck, P., Benedikt, P., Eichmann, T.O., Yamada, S., Knittelfelder, O., et al. (2017). Pharmacological inhibition of adipose triglyceride lipase corrects high-fat diet-induced insulin resistance and hepatosteatosis in mice. *Nat. Commun.* 8, ncomms14859.

Scott, C.L., Zheng, F., De Baetselier, P., Martens, L., Saeys, Y., De Prijck, S., Lippens, S., Abels, C., Schoonooghe, S., Raes, G., et al. (2016). Bone marrow-derived monocytes give rise to self-renewing and fully differentiated Kupffer cells. *Nat. Commun.* 7, 10321.

Seale, P., Bjork, B., Yang, W., Kajimura, S., Chin, S., Kuang, S., Scimè, A., Devarakonda, S., Conroe, H.M., Erdjument-Bromage, H., et al. (2008). PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature* 454, 961–967.

Serbina, N.V., and Pamer, E.G. (2006). Monocyte emigration from bone marrow during bacterial infection requires signals mediated by chemokine receptor CCR2. *Nat. Immunol.* 7, 311–317.

Serbina, N.V., Jia, T., Hohl, T.M., and Pamer, E.G. (2008). Monocyte-Mediated Defense Against Microbial Pathogens. *Annu. Rev. Immunol.* 26, 421–452.

Serin, Y., and Acar Tek, N. (2019). Effect of Circadian Rhythm on Metabolic Processes and the Regulation of Energy Balance. *Ann. Nutr. Metab.* 74, 322–330.

Serra, M.C., Blumenthal, J.B., Addison, O.R., Miller, A.J., Goldberg, A.P., and Ryan, A.S. (2017). Effects of Weight Loss with and without Exercise on Regional Body Fat Distribution in Postmenopausal Women. *Ann. Nutr. Metab.* 70, 312–320.

Shabalina, I.G., Ost, M., Petrovic, N., Vrbacky, M., Nedergaard, J., and Cannon, B. (2010). Uncoupling protein-1 is not leaky. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Bioenerg.* 1797, 773–784.

Shah, S.H., Bain, J.R., Muehlbauer, M.J., Stevens, R.D., Crosslin, D.R., Haynes, C., Dungan, J., Newby, L.K., Hauser, E.R., Ginsburg, G.S., et al. (2010). Association of a Peripheral Blood Metabolic Profile With Coronary Artery Disease and Risk of Subsequent Cardiovascular Events. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 3, 207–214.

Shemer, A., Erny, D., Jung, S., and Prinz, M. (2015). Microglia Plasticity During Health and Disease: An Immunological Perspective. *Trends Immunol.* 36, 614–624.

Shen, J., Tanida, M., Nijijima, A., and Nagai, K. (2007). In vivo effects of leptin on autonomic nerve activity and lipolysis in rats. *Neurosci. Lett.* 416, 193–197.

Shen, W.-J., Liang, Y., Hong, R., Patel, S., Natu, V., Sridhar, K., Jenkins, A., Bernlohr, D.A., and Kraemer, F.B. (2001). Characterization of the Functional Interaction of Adipocyte Lipid-binding Protein with Hormone-sensitive Lipase. *J. Biol. Chem.* 276, 49443–49448.

Shi, C., and Pamer, E.G. (2011). Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 11, 762–774.

Shikama, Y., Aki, N., Hata, A., Nishimura, M., Oyadomari, S., and Funaki, M. (2015). Palmitate-Stimulated Monocytes Induce Adhesion Molecule Expression in Endothelial Cells via IL-1 Signaling Pathway: PAL INDIRECTLY INDUCES ADHESION MOLECULES. *J. Cell. Physiol.* 230, 732–742.

Shikama, Y., Kudo, Y., Ishimaru, N., and Funaki, M. (2017). Potential Role of Free Fatty Acids in the Pathogenesis of Periodontitis and Primary Sjögren's Syndrome. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 836.

Shin, H., Ma, Y., Chanturiya, T., Cao, Q., Wang, Y., Kadegowda, A.K.G., Jackson, R., Rumore, D., Xue, B., Shi, H., et al. (2017). Lipolysis in Brown Adipocytes Is Not Essential for Cold-Induced Thermogenesis in Mice. *Cell Metab.* 26, 764-777.e5.

Shoelson, S.E., Herrero, L., and Naaz, A. (2007). Obesity, Inflammation, and Insulin Resistance. *Gastroenterology* 132, 2169–2180.

Sichien, D., Scott, C.L., Martens, L., Vanderkerken, M., Van Gassen, S., Plantinga, M., Joeris, T., De Prijck, S., Vanhoutte, L., Vanheerswynghels, M., et al. (2016). IRF8 Transcription Factor Controls Survival and Function of Terminally Differentiated Conventional and Plasmacytoid Dendritic Cells, Respectively. *Immunity* 45, 626–640.

Sieweke, M.H., and Allen, J.E. (2013). Beyond Stem Cells: Self-Renewal of Differentiated Macrophages. *Science* 342, 1242974–1242974.

Siiteri, P.K. (1987). Adipose tissue as a source of hormones. *Am. J. Clin. Nutr.* 45, 277–282.

Silva, H.M., Báfica, A., Rodrigues-Luiz, G.F., Chi, J., Santos, P. d'Emery A., Reis, B.S., Hoytema van Konijnenburg, D.P., Crane, A., Arifa, R.D.N., Martin, P., et al. (2019). Vasculature-associated fat macrophages readily adapt to inflammatory and metabolic challenges. *J. Exp. Med.* 216, 786–806.

Silva, L.S., Poschet, G., Nonnenmacher, Y., Becker, H.M., Sapcariu, S., Gaupel, A., Schlotter, M., Wu, Y., Kneisel, N., Seiffert, M., et al. (2017). Branched-chain ketoacids secreted by glioblastoma cells via MCT 1 modulate macrophage phenotype. *EMBO Rep.* 18, 2172–2185.

Sima, C., Paster, B., and Van Dyke, T.E. (2018). Function of Pro-Resolving Lipid Mediator Resolvin E1 in Type 2 Diabetes. *Crit. Rev. Immunol.* 38, 343–365.

Simsek, T., Kocabas, F., Zheng, J., DeBerardinis, R.J., Mahmoud, A.I., Olson, E.N., Schneider, J.W., Zhang, C.C., and Sadek, H.A. (2010). The Distinct Metabolic Profile of Hematopoietic Stem Cells Reflects Their Location in a Hypoxic Niche. *Cell Stem Cell* 7, 380–390.

Sinclair, L.V., Rolf, J., Emslie, E., Shi, Y.-B., Taylor, P.M., and Cantrell, D.A. (2013). Control of amino-acid transport by antigen receptors coordinates the metabolic reprogramming essential for T cell differentiation. *Nat. Immunol.* 14, 500–508.

Singh, R., Kaushik, S., Wang, Y., Xiang, Y., Novak, I., Komatsu, M., Tanaka, K., Cuervo, A.M., and Czaja, M.J. (2009). Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature* 458, 1131–1135.

Sinha, M.K., Sturis, J., Ohannesian, J., Magosin, S., Stephens, T., Heiman, M.L., Polonsky, K.S., and Caro, J.F. (1996). Ultradian Oscillations of Leptin Secretion in Humans. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 228, 733–738.

Sivanand, S., and Vander Heiden, M.G. (2020). Emerging Roles for Branched-Chain Amino Acid Metabolism in Cancer. *Cancer Cell* 37, 147–156.

Smith, A.J., Sanders, M.A., Thompson, B.R., Londos, C., Kraemer, F.B., and Bernlohr, D.A. (2004). Physical association between the adipocyte fatty acid-binding protein and hormone-sensitive lipase: a fluorescence resonance energy transfer analysis. *J. Biol. Chem.* 279, 52399–52405.

Smith, R.E., Roberts, J.C., and Hittelman, K.J. (1966). Nonphosphorylating respiration of mitochondria from brown adipose tissue of rats. *Science* 154, 653–654.

Snodgrass, R.G., Huang, S., Choi, I.-W., Rutledge, J.C., and Hwang, D.H. (2013). Inflammasome-Mediated Secretion of IL-1 β in Human Monocytes through TLR2 Activation; Modulation by Dietary Fatty Acids. *J. Immunol.* 191, 4337–4347.

Sohawon, D., Lau, K.K., Lau, T., and Bowden, D.K. (2012). Extra-medullary haematopoiesis: A pictorial review of its typical and atypical locations: Extramedullary haematopoiesis locations. *J. Med. Imaging Radiat. Oncol.* 56, 538–544.

Solt, L.A., Wang, Y., Banerjee, S., Hughes, T., Kojetin, D.J., Lundasen, T., Shin, Y., Liu, J., Cameron, M.D., Noel, R., et al. (2012). Regulation of circadian behaviour and metabolism by synthetic REV-ERB agonists. *Nature* 485, 62–68.

Sorisky, A., Molgat, A.S.D., and Gagnon, A. (2013). Macrophage-Induced Adipose Tissue Dysfunction and the Preadipocyte: Should I Stay (and Differentiate) or Should I Go? *Adv. Nutr.* 4, 67–75.

Spalding, K.L., Arner, E., Westermark, P.O., Bernard, S., Buchholz, B.A., Bergmann, O., Blomqvist, L., Hoffstedt, J., Näslund, E., Britton, T., et al. (2008). Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* 453, 783–787.

Spittler, A., Winkler, S., Götzinger, P., Oehler, R., Willheim, M., Tempfer, C., Weigel, G., Függer, R., Boltz-Nitulescu, G., and Roth, E. (1995). Influence of glutamine on the phenotype and function of human monocytes. *Blood* 86, 1564–1569.

Stahl, A. (2004). A current review of fatty acid transport proteins (SLC27). *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.* 447, 722–727.

Stienstra, R., Joosten, L.A.B., Koenen, T., van Tits, B., van Diepen, J.A., van den Berg, S.A.A., Rensen, P.C.N., Voshol, P.J., Fantuzzi, G., Hijmans, A., et al. (2010). The Inflammasome-Mediated Caspase-1 Activation Controls Adipocyte Differentiation and Insulin Sensitivity. *Cell Metab.* 12, 593–605.

Stokkan, K.-A. (2001). Entrainment of the Circadian Clock in the Liver by Feeding. *Science* 291, 490–493.

Strissel, K.J., Stancheva, Z., Miyoshi, H., Perfield, J.W., DeFuria, J., Jick, Z., Greenberg, A.S., and Obin, M.S. (2007). Adipocyte Death, Adipose Tissue Remodeling, and Obesity Complications. *Diabetes* 56, 2910–2918.

Stunault, M.I., Bories, G., Guinamard, R.R., and Ivanov, S. (2018). Metabolism Plays a Key Role during Macrophage Activation. *Mediators Inflamm.* 2018, 2426138.

Stunault, M.I., Gallerand, A., Merlin, J., Guinamard, R.R., Yvan-Charvet, L., and Ivanov, S. (2020). Myeloid Cell Diversity and Impact of Metabolic Cues during Atherosclerosis. *Immunometabolism*.

Su, X., and Abumrad, N.A. (2009). Cellular fatty acid uptake: a pathway under construction. *Trends Endocrinol. Metab.* 20, 72–77.

Subramanian, V., Garcia, A., Sekowski, A., and Brasaemle, D.L. (2004). Hydrophobic sequences target and anchor perilipin A to lipid droplets. *J. Lipid Res.* 45, 1983–1991.

Suchacki, K.J., and Cawthorn, W.P. (2018). Molecular Interaction of Bone Marrow Adipose Tissue with Energy Metabolism. *Curr. Mol. Biol. Rep.* 4, 41–49.

Suda, T., Takubo, K., and Semenza, G.L. (2011). Metabolic Regulation of Hematopoietic Stem Cells in the Hypoxic Niche. *Cell Stem Cell* 9, 298–310.

Suganami, T., Nishida, J., and Ogawa, Y. (2005). A Paracrine Loop Between Adipocytes and Macrophages Aggravates Inflammatory Changes: Role of Free Fatty Acids and Tumor Necrosis Factor α . *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25, 2062–2068.

Sugiura, T., Dohi, Y., Takagi, Y., Yoshikane, N., Ito, M., Suzuki, K., Nagami, T., Iwase, M., Seo, Y., and Ohte, N. (2020). Impacts of lifestyle behavior and shift work on visceral fat accumulation and the presence of atherosclerosis in middle-aged male workers. *Hypertens. Res.* 43, 235–245.

Summers, C., Rankin, S.M., Condliffe, A.M., Singh, N., Peters, A.M., and Chilvers, E.R. (2010). Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends Immunol.* 31, 318–324.

Sumner, R., Crawford, A., Mucenski, M., and Frampton, J. (2000). Initiation of adult myelopoiesis can occur in the absence of c-Myb whereas subsequent development is strictly dependent on the transcription factor. *Oncogene* 19, 3335–3342.

Suzuki, M., Takaishi, S., Nagasaki, M., Onozawa, Y., Iino, I., Maeda, H., Komai, T., and Oda, T. (2013). Medium-chain Fatty Acid-sensing Receptor, GPR84, Is a Proinflammatory Receptor. *J. Biol. Chem.* 288, 10684–10691.

Suzuki-Inoue, K., Kato, Y., Inoue, O., Kaneko, M.K., Mishima, K., Yatomi, Y., Yamazaki, Y., Narimatsu, H., and Ozaki, Y. (2007). Involvement of the Snake Toxin Receptor CLEC-2, in Podoplanin-mediated Platelet Activation, by Cancer Cells. *J. Biol. Chem.* 282, 25993–26001.

Swirski, F.K., Libby, P., Aikawa, E., Alcaide, P., Luscinskas, F.W., Weissleder, R., and Pittet, M.J. (2007). Ly-6Chi monocytes dominate hypercholesterolemia-associated monocytosis and give rise to macrophages in atheromata. *J. Clin. Invest.* 117, 195–205.

Swirski, F.K., Nahrendorf, M., Etzrodt, M., Wildgruber, M., Cortez-Retamozo, V., Panizzi, P., Figueiredo, J.-L., Kohler, R.H., Chudnovskiy, A., Waterman, P., et al. (2009). Identification of Splenic Reservoir Monocytes and Their Deployment to Inflammatory Sites. *Science* 325, 612–616.

Swiss IBD Cohort Investigators, Wuggenig, P., Kaya, B., Melhem, H., Ayata, C.K., Hruz, P., Sayan, A.E., Tsumura, H., Ito, M., Roux, J., et al. (2020). Loss of the branched-chain amino acid transporter CD98hc alters the development of colonic macrophages in mice. *Commun. Biol.* 3, 130.

Sztalryd, C., and Brasaemle, D.L. (2017). The perilipin family of lipid droplet proteins: Gatekeepers of intracellular lipolysis. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1862, 1221–1232.

Tabas, I., and Bornfeldt, K.E. (2016). Macrophage Phenotype and Function in Different Stages of Atherosclerosis. *Circ. Res.* 118, 653–667.

Tacke, F., Alvarez, D., Kaplan, T.J., Jakubzick, C., Spanbroek, R., Llodra, J., Garin, A., Liu, J., Mack, M., van Rooijen, N., et al. (2007). Monocyte subsets differentially employ CCR2, CCR5, and CX3CR1 to accumulate within atherosclerotic plaques. *J. Clin. Invest.* 117, 185–194.

Takahashi, S., Tanaka, T., and Sakai, J. (2007). New Therapeutic Target for Metabolic Syndrome: PPAR δ . *Endocr. J.* 54, 347–357.

Takubo, K., Goda, N., Yamada, W., Iriuchishima, H., Ikeda, E., Kubota, Y., Shima, H., Johnson, R.S., Hirao, A., Suematsu, M., et al. (2010). Regulation of the HIF-1 α Level Is Essential for Hematopoietic Stem Cells. *Cell Stem Cell* 7, 391–402.

Takubo, K., Nagamatsu, G., Kobayashi, C.I., Nakamura-Ishizu, A., Kobayashi, H., Ikeda, E., Goda, N., Rahimi, Y., Johnson, R.S., Soga, T., et al. (2013). Regulation of Glycolysis by Pdk Functions as a Metabolic Checkpoint for Cell Cycle Quiescence in Hematopoietic Stem Cells. *Cell Stem Cell* 12, 49–61.

Tan, Z., Xie, N., Cui, H., Moellering, D.R., Abraham, E., Thannickal, V.J., and Liu, G. (2015). Pyruvate Dehydrogenase Kinase 1 Participates in Macrophage Polarization via Regulating Glucose Metabolism. *J. Immunol.* 194, 6082–6089.

Tang, T., Zhang, J., Yin, J., Staszkiwicz, J., Gawronska-Kozak, B., Jung, D.Y., Ko, H.J., Ong, H., Kim, J.K., Mynatt, R., et al. (2010). Uncoupling of Inflammation and Insulin Resistance by NF- κ B in Transgenic Mice through Elevated Energy Expenditure. *J. Biol. Chem.* 285, 4637–4644.

Tardelli, M., Bruschi, F.V., Claudel, T., Fuchs, C.D., Auer, N., Kunczer, V., Stojakovic, T., Scharnagl, H., Habib, A., Grabner, G.F., et al. (2019). Lack of monoacylglycerol lipase prevents hepatic steatosis by favoring lipid storage in adipose tissue and intestinal malabsorption. *J. Lipid Res.* 60, 1284–1292.

Taschler, U., Radner, F.P.W., Heier, C., Schreiber, R., Schweiger, M., Schoiswohl, G., Preiss-Landl, K., Jaeger, D., Reiter, B., Koefeler, H.C., et al. (2011). Monoglyceride Lipase Deficiency in Mice Impairs Lipolysis and Attenuates Diet-induced Insulin Resistance. *J. Biol. Chem.* 286, 17467–17477.

Taya, Y., Ota, Y., Wilkinson, A.C., Kanazawa, A., Watarai, H., Kasai, M., Nakauchi, H., and Yamazaki, S. (2016). Depleting dietary valine permits nonmyeloablative mouse hematopoietic stem cell transplantation. *Science* 354, 1152–1155.

Thaiss, C.A., Zeevi, D., Levy, M., Zilberman-Schapira, G., Suez, J., Tengeler, A.C., Abramson, L., Katz, M.N., Korem, T., Zmora, N., et al. (2014). Transkingdom Control of Microbiota Diurnal Oscillations Promotes Metabolic Homeostasis. *Cell* 159, 514–529.

Thangaraju, M., Cresci, G.A., Liu, K., Ananth, S., Gnanaprakasam, J.P., Browning, D.D., Mellinger, J.D., Smith, S.B., Digby, G.J., Lambert, N.A., et al. (2009). GPR109A Is a G-protein-Coupled Receptor for the Bacterial Fermentation Product Butyrate and Functions as a Tumor Suppressor in Colon. *Cancer Res.* 69, 2826–2832.

the Immunological Genome Consortium, Gautier, E.L., Shay, T., Miller, J., Greter, M., Jakubzick, C., Ivanov, S., Helft, J., Chow, A., Elpek, K.G., et al. (2012). Gene-expression profiles and transcriptional regulatory pathways that underlie the identity and diversity of mouse tissue macrophages. *Nat. Immunol.* 13, 1118–1128.

Theurl, I., Hilgendorf, I., Nairz, M., Tymoszyk, P., Haschka, D., Asshoff, M., He, S., Gerhardt, L.M.S., Holderried, T.A.W., Seifert, M., et al. (2016). On-demand erythrocyte disposal and iron recycling requires transient macrophages in the liver. *Nat. Med.* 22, 945–951.

Thomas, D., and Apovian, C. (2017). Macrophage functions in lean and obese adipose tissue. *Metabolism* 72, 120–143.

Thomas, G., Tacke, R., Hedrick, C.C., and Hanna, R.N. (2015). Nonclassical Patrolling Monocyte Function in the Vasculature. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 35, 1306–1316.

Thompson, W.L., and Van Eldik, L.J. (2009). Inflammatory cytokines stimulate the chemokines CCL2/MCP-1 and CCL7/MCP-7 through NF κ B and MAPK dependent pathways in rat astrocytes. *Brain Res.* 1287, 47–57.

Tikhonova, A.N., Dolgalev, I., Hu, H., Sivaraj, K.K., Hoxha, E., Cuesta-Domínguez, Á., Pinho, S., Akhmetzyanova, I., Gao, J., Witkowski, M., et al. (2019). The bone marrow microenvironment at single-cell resolution. *Nature* 569, 222–228.

Tilg, H., Trehu, E., Atkins, M.B., Dinarello, C.A., and Mier, J.W. (1994). Interleukin-6 (IL-6) as an anti-inflammatory cytokine: induction of circulating IL-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor p55. *Blood* 83, 113–118.

Tran, S., Baba, I., Poupel, L., Dussaud, S., Moreau, M., Gélinau, A., Marcelin, G., Magréau-Davy, E., Ouhachi, M., Lesnik, P., et al. (2020). Impaired Kupffer Cell Self-Renewal Alters the Liver Response to Lipid Overload during Non-alcoholic Steatohepatitis. *Immunity* S1074761320302338.

Trott, A.J., and Menet, J.S. (2018). Regulation of circadian clock transcriptional output by CLOCK:BMAL1. *PLOS Genet.* 14, e1007156.

Tse, E.K., Salehi, A., Clemenzi, M.N., and Belsham, D.D. (2018). Role of the saturated fatty acid palmitate in the interconnected hypothalamic control of energy homeostasis and biological rhythms. *Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab.* 315, E133–E140.

Tsou, C.-L., Peters, W., Si, Y., Slaymaker, S., Aslanian, A.M., Weisberg, S.P., Mack, M., and Charo, I.F. (2007). Critical roles for CCR2 and MCP-3 in monocyte mobilization from bone marrow and recruitment to inflammatory sites. *J. Clin. Invest.* 117, 902–909.

Turek, F.W. (2005). Obesity and Metabolic Syndrome in Circadian Clock Mutant Mice. *Science* 308, 1043–1045.

Tzeng, Y.-S., Li, H., Kang, Y.-L., Chen, W.-C., Cheng, W.-C., and Lai, D.-M. (2011). Loss of Cxcl12/Sdf-1 in adult mice decreases the quiescent state of hematopoietic stem/progenitor cells and alters the pattern of hematopoietic regeneration after myelosuppression. *Blood* 117, 429–439.

Unger, R.H., and Orci, L. (2002). Lipoapoptosis: its mechanism and its diseases. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1585, 202–212.

Uysal, K.T., Wiesbrock, S.M., Marino, M.W., and Hotamisligil, G.S. (1997). Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. *Nature* 389, 610–614.

Vadnie, C.A., and McClung, C.A. (2017). Circadian Rhythm Disturbances in Mood Disorders: Insights into the Role of the Suprachiasmatic Nucleus. *Neural Plast.* 2017, 1–28.

Van den Bossche, J., Baardman, J., and de Winther, M.P.J. (2015). Metabolic Characterization of Polarized M1 and M2 Bone Marrow-derived Macrophages Using Real-time Extracellular Flux Analysis. *J. Vis. Exp.* 53424.

Vander Heiden, M.G., Cantley, L.C., and Thompson, C.B. (2009). Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science* 324, 1029–1033.

Varol, C., Landsman, L., Fogg, D.K., Greenshtein, L., Gildor, B., Margalit, R., Kalchenko, V., Geissmann, F., and Jung, S. (2007). Monocytes give rise to mucosal, but not splenic, conventional dendritic cells. *J. Exp. Med.* 204, 171–180.

Vaughan, M., Berger, J.E., and Steinberg, D. (1964). HORMONE-SENSITIVE LIPASE AND MONOGLYCERIDE LIPASE ACTIVITIES IN ADIPOSE TISSUE. *J. Biol. Chem.* 239, 401–409.

Virtanen, K.A., Lidell, M.E., Orava, J., Heglind, M., Westergren, R., Niemi, T., Taittonen, M., Laine, J., Savisto, N.-J., Enerbäck, S., et al. (2009). Functional Brown Adipose Tissue in Healthy Adults. *N. Engl. J. Med.* 360, 1518–1525.

Visnjic, D., Kalajzic, Z., Rowe, D.W., Katavic, V., Lorenzo, J., and Aguila, H.L. (2004). Hematopoiesis is severely altered in mice with an induced osteoblast deficiency. *Blood* 103, 3258–3264.

Vitali, A., Murano, I., Zingaretti, M.C., Frontini, A., Ricquier, D., and Cinti, S. (2012). The adipose organ of obesity-prone C57BL/6J mice is composed of mixed white and brown adipocytes. *J. Lipid Res.* 53, 619–629.

Vujović, N., Davidson, A.J., and Menaker, M. (2008). Sympathetic input modulates, but does not determine, phase of peripheral circadian oscillators. *Am. J. Physiol.-Regul. Integr. Comp. Physiol.* 295, R355–R360.

Wallace, C., and Keast, D. (1992). Glutamine and macrophage function. *Metabolism* 41, 1016–1020.

Walther, T.C., Chung, J., and Farese, R.V. (2017). Lipid Droplet Biogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 33, 491–510.

Wang, J., and Kubes, P. (2016). A Reservoir of Mature Cavity Macrophages that Can Rapidly Invade Visceral Organs to Affect Tissue Repair. *Cell* 165, 668–678.

Wang, J., Wu, X., Simonavicius, N., Tian, H., and Ling, L. (2006). Medium-chain Fatty Acids as Ligands for Orphan G Protein-coupled Receptor GPR84. *J. Biol. Chem.* 281, 34457–34464.

Wang, K., Ye, L., Lu, H., Chen, H., Zhang, Y., Huang, Y., and Zheng, J.C. (2017a). TNF- α promotes extracellular vesicle release in mouse astrocytes through glutaminase. *J. Neuroinflammation* 14, 87.

Wang, N., Li, J.-Y., Zhao, T., Li, S., Shen, C.-B., Li, D.-S., and Wang, W.-F. (2018). FGF-21 Plays a Crucial Role in the Glucose Uptake of Activated Monocytes. *Inflammation* 41, 73–80.

Wang, T.J., Larson, M.G., Vasan, R.S., Cheng, S., Rhee, E.P., McCabe, E., Lewis, G.D., Fox, C.S., Jacques, P.F., Fernandez, C., et al. (2011). Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat. Med.* 17, 448–453.

Wang, Y., Szretter, K.J., Vermi, W., Gilfillan, S., Rossini, C., Cella, M., Barrow, A.D., Diamond, M.S., and Colonna, M. (2012). IL-34 is a tissue-restricted ligand of CSF1R required for the development of Langerhans cells and microglia. *Nat. Immunol.* 13, 753–760.

Wang, Y., Li, Y., Zhao, R., Wu, B., Lanoha, B., Tong, Z., Peer, J., Liu, J., Xiong, H., Huang, Y., et al. (2017b). Glutaminase C overexpression in the brain induces learning deficits, synaptic dysfunctions, and neuroinflammation in mice. *Brain. Behav. Immun.* 66, 135–145.

Warburg, O. (1956). On respiratory impairment in cancer cells. *Science* 124, 269–270.

Ward, P.S., Patel, J., Wise, D.R., Abdel-Wahab, O., Bennett, B.D., Collier, H.A., Cross, J.R., Fantin, V.R., Hedvat, C.V., Perl, A.E., et al. (2010). The Common Feature of Leukemia-Associated IDH1 and IDH2 Mutations Is a Neomorphic Enzyme Activity Converting α -Ketoglutarate to 2-Hydroxyglutarate. *Cancer Cell* 17, 225–234.

Wehner, S., and Engel, D.R. (2017). Resident macrophages in the healthy and inflamed intestinal muscularis externa. *Pflüg. Arch. - Eur. J. Physiol.* 469, 541–552.

Wen, H., Gris, D., Lei, Y., Jha, S., Zhang, L., Huang, M.T.-H., Brickey, W.J., and Ting, J.P.-Y. (2011). Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling. *Nat. Immunol.* 12, 408–415.

Wilson, A., and Trumpp, A. (2006). Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches. *Nat. Rev. Immunol.* 6, 93–106.

Winer, D.A., Winer, S., Shen, L., Wadia, P.P., Yantha, J., Paltser, G., Tsui, H., Wu, P., Davidson, M.G., Alonso, M.N., et al. (2011). B cells promote insulin resistance through modulation of T cells and production of pathogenic IgG antibodies. *Nat. Med.* 17, 610–617.

Winkler, I.G., Sims, N.A., Pettit, A.R., Barbier, V., Nowlan, B., Helwani, F., Poulton, I.J., van Rooijen, N., Alexander, K.A., Raggatt, L.J., et al. (2010). Bone marrow macrophages maintain hematopoietic stem cell (HSC) niches and their depletion mobilizes HSCs. *Blood* 116, 4815–4828.

Wolfson, R.L., Chantranupong, L., Saxton, R.A., Shen, K., Scaria, S.M., Cantor, J.R., and Sabatini, D.M. (2016). Sestrin2 is a leucine sensor for the mTORC1 pathway. *Science* 351, 43–48.

Wong, K.L., Tai, J.J.-Y., Wong, W.-C., Han, H., Sem, X., Yeap, W.-H., Kourilsky, P., and Wong, S.-C. (2011). Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets. *Blood* 118, e16–e31.

Woollard, K.J., and Geissmann, F. (2010). Monocytes in atherosclerosis: subsets and functions. *Nat. Rev. Cardiol.* 7, 77–86.

Wu, B., Liu, J., Zhao, R., Li, Y., Peer, J., Braun, A.L., Zhao, L., Wang, Y., Tong, Z., Huang, Y., et al. (2018). Glutaminase 1 regulates the release of extracellular vesicles during neuroinflammation through key metabolic intermediate alpha-ketoglutarate. *J. Neuroinflammation* 15, 79.

Wu, H., Ghosh, S., Perrard, X.D., Feng, L., Garcia, G.E., Perrard, J.L., Sweeney, J.F., Peterson, L.E., Chan, L., Smith, C.W., et al. (2007). T-Cell Accumulation and Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted Upregulation in Adipose Tissue in Obesity. *Circulation* 115, 1029–1038.

Wu, J., Boström, P., Sparks, L.M., Ye, L., Choi, J.H., Giang, A.-H., Khandekar, M., Virtanen, K.A., Nuutila, P., Schaart, G., et al. (2012). Beige Adipocytes Are a Distinct Type of Thermogenic Fat Cell in Mouse and Human. *Cell* 150, 366–376.

Wu, X., Briseño, C.G., Durai, V., Albring, J.C., Haldar, M., Bagadia, P., Kim, K.-W., Randolph, G.J., Murphy, T.L., and Murphy, K.M. (2016). Mafb lineage tracing to distinguish macrophages from other immune lineages reveals dual identity of Langerhans cells. *J. Exp. Med.* 213, 2553–2565.

Wu, Y., Dissing-Olesen, L., MacVicar, B.A., and Stevens, B. (2015). Microglia: Dynamic Mediators of Synapse Development and Plasticity. *Trends Immunol.* 36, 605–613.

Wulff, K., Gatti, S., Wettstein, J.G., and Foster, R.G. (2010). Sleep and circadian rhythm disruption in psychiatric and neurodegenerative disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 11, 589–599.

Wullschleger, S., Loewith, R., and Hall, M.N. (2006). TOR Signaling in Growth and Metabolism. *Cell* 124, 471–484.

Wynn, T.A., Chawla, A., and Pollard, J.W. (2013). Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature* 496, 445–455.

Xu, X., Grijalva, A., Skowronski, A., van Eijk, M., Serlie, M.J., and Ferrante, A.W. (2013). Obesity Activates a Program of Lysosomal-Dependent Lipid Metabolism in Adipose Tissue Macrophages Independently of Classic Activation. *Cell Metab.* 18, 816–830.

Xue, J., Schmidt, S.V., Sander, J., Draffehn, A., Krebs, W., Quester, I., De Nardo, D., Gohel, T.D., Emde, M., Schmidleithner, L., et al. (2014). Transcriptome-Based Network Analysis Reveals a Spectrum Model of Human Macrophage Activation. *Immunity* 40, 274–288.

Yamamoto, K., Miwa, Y., Abe-Suzuki, S., Abe, S., Kirimura, S., Onishi, I., Kitagawa, M., and Kurata, M. (2016). Extramedullary hematopoiesis: Elucidating the function of the hematopoietic stem cell niche (Review). *Mol. Med. Rep.* 13, 587–591.

Yamazaki, S., Ema, H., Karlsson, G., Yamaguchi, T., Miyoshi, H., Shioda, S., Taketo, M.M., Karlsson, S., Iwama, A., and Nakauchi, H. (2011). Nonmyelinating Schwann Cells Maintain Hematopoietic Stem Cell Hibernation in the Bone Marrow Niche. *Cell* 147, 1146–1158.

Yáñez, A., Coetzee, S.G., Olsson, A., Muench, D.E., Berman, B.P., Hazelett, D.J., Salomonis, N., Grimes, H.L., and Goodridge, H.S. (2017). Granulocyte-Monocyte Progenitors and Monocyte-Dendritic Cell Progenitors Independently Produce Functionally Distinct Monocytes. *Immunity* 47, 890-902.e4.

Yang, G., Chen, L., Grant, G.R., Paschos, G., Song, W.-L., Musiek, E.S., Lee, V., McLoughlin, S.C., Grosser, T., Cotsarelis, G., et al. (2016). Timing of expression of the core

clock gene *Bmal1* influences its effects on aging and survival. *Sci. Transl. Med.* 8, 324ra16-324ra16.

Yang, X., Chen, D., Long, H., and Zhu, B. (2020). The mechanisms of pathological extramedullary hematopoiesis in diseases. *Cell. Mol. Life Sci.* 77, 2723–2738.

Ye, J., and McGuinness, O.P. (2013). Inflammation during obesity is not all bad: evidence from animal and human studies. *Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab.* 304, E466–E477.

Ye, Y., Xiang, Y., Ozguc, F.M., Kim, Y., Liu, C.-J., Park, P.K., Hu, Q., Diao, L., Lou, Y., Lin, C., et al. (2018). The Genomic Landscape and Pharmacogenomic Interactions of Clock Genes in Cancer Chronotherapy. *Cell Syst.* 6, 314-328.e2.

Ying, W., Wollam, J., Ofrecio, J.M., Bandyopadhyay, G., El Ouarrat, D., Lee, Y.S., Oh, D.Y., Li, P., Osborn, O., and Olefsky, J.M. (2017). Adipose tissue B2 cells promote insulin resistance through leukotriene LTB4/LTB4R1 signaling. *J. Clin. Invest.* 127, 1019–1030.

Yona, S., Kim, K.-W., Wolf, Y., Mildner, A., Varol, D., Breker, M., Strauss-Ayali, D., Viukov, S., Guilliams, M., Misharin, A., et al. (2013). Fate Mapping Reveals Origins and Dynamics of Monocytes and Tissue Macrophages under Homeostasis. *Immunity* 38, 79–91.

Yoneshiro, T., Aita, S., Matsushita, M., Kayahara, T., Kameya, T., Kawai, Y., Iwanaga, T., and Saito, M. (2013). Recruited brown adipose tissue as an antiobesity agent in humans. *J. Clin. Invest.* 123, 3404–3408.

Yoo, J.K., Kwon, H., Khil, L.-Y., Zhang, L., Jun, H.-S., and Yoon, J.-W. (2005). IL-18 Induces Monocyte Chemotactic Protein-1 Production in Macrophages through the Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt and MEK/ERK1/2 Pathways. *J. Immunol.* 175, 8280–8286.

Yoon, B.R., Oh, Y.-J., Kang, S.W., Lee, E.B., and Lee, W.-W. (2018). Role of SLC7A5 in Metabolic Reprogramming of Human Monocyte/Macrophage Immune Responses. *Front. Immunol.* 9, 53.

You, Q., Cheng, L., Kedl, R.M., and Ju, C. (2008). Mechanism of T cell tolerance induction by murine hepatic Kupffer cells. *Hepatology* 48, 978–990.

Yu, H., Xia, F., Lam, K.S., Wang, Y., Bao, Y., Zhang, J., Gu, Y., Zhou, P., Lu, J., Jia, W., et al. (2011). Circadian Rhythm of Circulating Fibroblast Growth Factor 21 Is Related to Diurnal Changes in Fatty Acids in Humans. *Clin. Chem.* 57, 691–700.

Yu, W.-M., Liu, X., Shen, J., Jovanovic, O., Pohl, E.E., Gerson, S.L., Finkel, T., Broxmeyer, H.E., and Qu, C.-K. (2013). Metabolic Regulation by the Mitochondrial Phosphatase PTPMT1 Is Required for Hematopoietic Stem Cell Differentiation. *Cell Stem Cell* 12, 62–74.

Yurdagul, A., Subramanian, M., Wang, X., Crown, S.B., Ilkayeva, O.R., Darville, L., Kolluru, G.K., Rymond, C.C., Gerlach, B.D., Zheng, Z., et al. (2020). Macrophage Metabolism of Apoptotic Cell-Derived Arginine Promotes Continual Efferocytosis and Resolution of Injury. *Cell Metab.* 31, 518-533.e10.

Zamarron, B.F., Mergian, T.A., Cho, K.W., Martinez-Santibanez, G., Luan, D., Singer, K., DelProposto, J.L., Geletka, L.M., Muir, L.A., and Lumeng, C.N. (2017). Macrophage Proliferation Sustains Adipose Tissue Inflammation in Formerly Obese Mice. *Diabetes* 66, 392–406.

Zhang, C.C., and Sadek, H.A. (2014). Hypoxia and Metabolic Properties of Hematopoietic Stem Cells. *Antioxid. Redox Signal.* 20, 1891–1901.

Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., and Friedman, J.M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372, 425–432.

Zhang, Y., Guo, K.-Y., Diaz, P.A., Heo, M., and Leibel, R.L. (2002). Determinants of leptin gene expression in fat depots of lean mice. *Am. J. Physiol.-Regul. Integr. Comp. Physiol.* 282, R226–R234.

Zhao, M., Perry, J.M., Marshall, H., Venkatraman, A., Qian, P., He, X.C., Ahamed, J., and Li, L. (2014). Megakaryocytes maintain homeostatic quiescence and promote post-injury regeneration of hematopoietic stem cells. *Nat. Med.* 20, 1321–1326.

Zhou, B.O., Yu, H., Yue, R., Zhao, Z., Rios, J.J., Naveiras, O., and Morrison, S.J. (2017). Bone marrow adipocytes promote the regeneration of stem cells and haematopoiesis by secreting SCF. *Nat. Cell Biol.* 19, 891–903.

Zhu, Y.P., Thomas, G.D., and Hedrick, C.C. (2016). 2014 Jeffrey M. Hoeg Award Lecture: Transcriptional Control of Monocyte Development. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 36, 1722–1733.

Zigmond, E., Varol, C., Farache, J., Elmaliah, E., Satpathy, A.T., Friedlander, G., Mack, M., Shpigel, N., Boneca, I.G., Murphy, K.M., et al. (2012). Ly6Chi Monocytes in the Inflamed Colon Give Rise to Proinflammatory Effector Cells and Migratory Antigen-Presenting Cells. *Immunity* 37, 1076–1090.

Zigmond, E., Bernshtein, B., Friedlander, G., Walker, C.R., Yona, S., Kim, K.-W., Brenner, O., Krauthgamer, R., Varol, C., Müller, W., et al. (2014a). Macrophage-Restricted Interleukin-10 Receptor Deficiency, but Not IL-10 Deficiency, Causes Severe Spontaneous Colitis. *Immunity* 40, 720–733.

Zigmond, E., Samia-Grinberg, S., Pasmanik-Chor, M., Brazowski, E., Shibolet, O., Halpern, Z., and Varol, C. (2014b). Infiltrating Monocyte-Derived Macrophages and Resident Kupffer Cells Display Different Ontogeny and Functions in Acute Liver Injury. *J. Immunol.* 193, 344–353.

Zimmet, P., Alberti, K.G.M.M., Stern, N., Bilu, C., El-Osta, A., Einat, H., and Kronfeld-Schor, N. (2019). The Circadian Syndrome: is the Metabolic Syndrome and much more! *J. Intern. Med.* joim.12924.

Zuroff, L., Daley, D., Black, K.L., and Koronyo-Hamaoui, M. (2017). Clearance of cerebral A β in Alzheimer's disease: reassessing the role of microglia and monocytes. *Cell. Mol. Life Sci.* 74, 2167–2201.

Zvonic, S., Ptitsyn, A.A., Conrad, S.A., Scott, L.K., Floyd, Z.E., Kilroy, G., Wu, X., Goh, B.C., Mynatt, R.L., and Gimble, J.M. (2006). Characterization of peripheral circadian clocks in adipose tissues. *Diabetes* 55, 962–970.

Importance de la lipolyse adipocytaire dans le contrôle de l'homéostasie des monocytes.

Les monocytes font partie des acteurs majeurs de l'immunité innée. Ils sont générés dans la moelle osseuse et contribuent à garantir le maintien de l'homéostasie de l'organisme en cas de blessure ou d'inflammation chronique par leur mobilisation dans le sang et leur recrutement dans les tissus où ils ont la capacité de se différencier en macrophages. Depuis les années 1970, l'étude du contrôle exercé par le métabolisme sur la survie, la fonction et le devenir des cellules immunitaires, et plus particulièrement des macrophages, impliqués dans de nombreuses pathologies cardio-métaboliques, a gagné un grand intérêt auprès de la communauté scientifique. Cependant, les données recueillies sur l'impact du métabolisme sur les monocytes restent très limitées. De façon intéressante à l'état physiologique, le nombre de monocytes dans la circulation sanguine varie au cours de la journée. De plus, nous avons mis en évidence une corrélation entre le nombre de monocytes présents dans la circulation et les taux d'acides gras circulants au cours de la journée. Ainsi, durant ma thèse je me suis intéressée à l'étude de la potentielle causalité qui unit ces deux phénomènes et plus particulièrement à l'impact des métabolites énergétiques tels que les acides gras sur le contrôle des monocytes. Pour ce faire, nous avons utilisé un modèle murin génétiquement déficient pour l'enzyme clé responsable de la libération des acides gras à travers la lipolyse du tissu adipeux, appelée Atgl.

Nous avons pu mettre en évidence que l'altération de la lipolyse du tissu adipeux entraîne un stress et une inflammation chronique spécifique du tissu adipeux brun, associés à un recrutement local massif des monocytes de façon dépendante de l'expression du récepteur aux chimiokines CCR2. Le recrutement accru des monocytes dans le tissu adipeux brun est également associé à une diminution des taux de monocytes dans la circulation sanguine. Cependant chez ces souris, nous n'avons pas observé d'altération du compartiment médullaire, siège de l'hématopoïèse et de la production des cellules sanguines. Nos résultats permettent ainsi de mettre en évidence l'importance de la lipolyse ainsi que du recrutement des monocytes sur le maintien de l'homéostasie du tissu adipeux brun.