



HAL
open science

Régulations fonctionnelles des lymphocytes T par les cellules souches adipocytaires : implication dans l'inflammation chronique et l'insulinorésistance du tissu adipeux du sujet obèse

Marwa Chehimi

► **To cite this version:**

Marwa Chehimi. Régulations fonctionnelles des lymphocytes T par les cellules souches adipocytaires : implication dans l'inflammation chronique et l'insulinorésistance du tissu adipeux du sujet obèse. Biologie cellulaire. Université de Lyon, 2018. Français. NNT : 2018LYSE1023 . tel-01838173

HAL Id: tel-01838173

<https://theses.hal.science/tel-01838173>

Submitted on 13 Jul 2018

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.



N°d'ordre NNT : 2018LYSE1023

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de

l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale ED 205

(Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences Santé)

Spécialité de doctorat : Biologie cellulaire et immunologie

Soutenue publiquement le 28 Février 2018, par :

Marwa CHEHIMI

Régulations fonctionnelles des lymphocytes T par les cellules souches adipocytaires : implication dans l'inflammation chronique et l'insulino-résistance du tissu adipeux du sujet obèse

Devant le jury composé de :

Dr VIDAL, Hubert

Président

Dr DUGAIL, Isabelle

Rapporteur

Dr LANGIN, Dominique

Rapporteur

Dr CAPEL, Frédéric

Examineur

Dr NATAF, Serge

Examineur

Dr EL JAAFARI, Assia

Directrice de thèse

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université

Président du Conseil Académique

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil Formation et Vie Universitaire

Vice-président de la Commission Recherche

Directrice Générale des Services

M. le Professeur Frédéric FLEURY

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Didier REVEL

M. le Professeur Philippe CHEVALIER

M. Fabrice VALLÉE

Mme Dominique MARCHAND

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux

Faculté d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur G.RODE

Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA

Directeur : M. X. PERROT

Directeur : Mme la Professeure A-M. SCHOTT

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. F. DE MARCHI

Directeur : M. le Professeur F. THEVENARD

Directeur : Mme C. FELIX

Directeur : M. Hassan HAMMOURI

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : M. le Professeur G. TOMANOV

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : M. le Professeur J-C PLENET

Directeur : M. Y.VANPOULLE

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Directeur : M. le Professeur E.PERRIN

Directeur : M. G. PIGNAULT

Directeur : M. le Professeur C. VITON

Directeur : M. le Professeur A. MOUGNIOTTE

Directeur : M. N. LEBOISNE

« A trop se soucier de l'achèvement des choses, on n'entreprend jamais rien. »

*Phrase prononcée par François 1^{er}
au démarrage de la construction du
prestigieux Château de Chambord.*

A mes parents Khaled & Lina,

A ma sœur et mes frères,

A mon mari,

A joud,

Remerciements

Je remercie sincèrement ma directrice de thèse le Docteur Assia El Jaafari pour m'avoir soutenue et encouragée à réaliser ce travail de thèse. Merci pour tous vos précieux conseils et de m'avoir poussé à toujours aller plus loin.

Je remercie bien évidemment Hubert Vidal pour m'avoir permis de préparer mon doctorat dans son laboratoire de recherche, pour ses conseils et encouragements pendant ces années de thèse.

Je tiens également à remercier les membres de mon jury de thèse, le Docteur Isabelle Dugail, le Docteur Dominique Langin, le Docteur Frédéric Capel et le Docteur Serge Nataf qui m'ont fait l'honneur d'être les rapporteurs de ce travail de thèse.

Merci à Jennifer Rieusset, Danielle Naville, Brigitte Lemagueresse Anne Mey qui ont su répondre à mes questions et supprimer mes doutes concernant les protocoles et les résultats expérimentaux. Je remercie particulièrement Luciano Pirola avec qui j'ai collaboré pour mes deux articles.

Anne-Marie, depuis le début de ma thèse et surtout cette dernière année, tu as été aux petits soins avec moi, sans me laisser indifférente. Béatrice, je retiens ta bonne humeur, ton sourire, tu es une personne extrêmement appréciable avec qui j'ai énormément d'affinité. Tes conseils ont été très précieux tant au niveau personnel que professionnel.

Merci aux filles du plateau génomique, Emmanuelle Meugnier, Emmanuelle Loizon et Sandra Pesenti pour vos précieux conseils en biologie moléculaire mais pas que à nos fous rires ... UN GRAND MERCI à Sandra et à Marion Michaud qui m'ont été d'une grande aide les derniers mois de ma thèse. Marion j'avoue que sans ton aide technique, je n'aurais pas pu présenter les dernières figures de l'article. Tu es une personne très gentille et admirable. Nathalie, Claudie, Nadia, MAC et JiJi merci pour toute les fois où vous m'avez proposé votre aide.

Stéphanie, ma première camarade de bureau, un immense merci à toi pour ta bonne humeur, ton sourire et tes précieux conseils. Je me souviens encore des fous rires que l'on a pu avoir en fin de journée !! Mon cher Pascal, j'ai eu un grand plaisir de te rencontrer et de travailler avec toi ; ta bonne humeur, ton côté humain et ton sens de l'écoute font de toi un être rare.

Parmi tous ces remerciements, il est impossible d'oublier mes fameuses stagiaires Marine, Clémence et Mélanie. Clémence et Mélanie, vous avez réalisé un travail extraordinaire. J'ai eu beaucoup de plaisir à travailler avec vous et je vous souhaite beaucoup de succès dans votre future carrière.

Assem, mon petit Libanais, ta « 8^{ème} merveille du monde » est enfin Docteur ☺. Merci pour tes conseils tant scientifique que relationnel ! Merci à tous les bons gâteaux dont on a eu le droit ! Je suis sûre et je l'ai toujours dit, tu es un excellent chercheur et ONE DAY tu auras ton laboratoire : The Makki's Lab !!!!

Florian, "Habibi", "You are the sunshine of my life", "Marwa Marwa Marwa que fais-tu là"... Bien entendu sans la mélodie ça n'a plus de sens ☺ Flo merci pour tous ces jolis moments passés à ricaner, à plaisanter et à dire que des bêtises. Tu as aussi toujours trouvé les bons mots pour me reconforter ! Je te souhaite que de bonnes choses pour ta future carrière, de toute façon je serai là !

A Agathe, Anne-Esther, Camille, Arthur ! Cette dernière année n'aurait pas été la même sans vous. Vous êtes des amours. Restez comme vous êtes.

Sab, Vaness, Caro, Manu et Pierrot vous êtes des « amours », un peu pervers pour certains voire la plupart d'entres vous mais je vous aime quand même.

Enfin, je remercie ma famille, qui m'a soutenu pendant ces années de thèse. Maman, Papa, merci pour votre amour inconditionnel et pour votre soutien tant physique que moral, surtout à la fin de ma grossesse. Vous m'avez créé un environnement idéal pour rédiger mon manuscrit, sans vous deux je n'aurais toujours pas fini. Cette thèse, est un peu la vôtre.

Ghamrati, hayete, merci d'avoir été là et de m'avoir soutenu jusqu'au dernier jour.. Ta présence à mes côtés a été plus que réconfortante et plus que nécessaire. Love you

Table des matières

Liste des publications et participation aux congrès.....	10
Liste des abréviations.....	13
Résumé.....	15
INTRODUCTION.....	18
I. L'OBESITE ET LE DIABETE DE TYPE II	20
A. Définitions	20
B. L'obésité et le diabète de type 2 en quelques chiffres.....	20
C. Facteurs de l'obésité et du diabète de type 2	22
D. Les maladies liées à l'obésité	24
II. LE TISSU ADIPEUX BLANC : LIEU DE NAISSANCE DE L'OBESITE	27
A. Localisation et composition du tissu adipeux.....	28
B. Les adipocytes.....	32
1. La lipogenèse	32
2. La lipolyse	34
3. Régulation par l'insuline	34
C. Les cellules souches adipocytaires et l'adipogenèse.....	36
D. La fonction sécrétoire du tissu adipeux	38
III. INFLAMMATION DU TISSU ADIPEUX	40
A. Défaut de stockage des lipides dans le tissu adipeux et insulino-résistance.....	41
B. Les voies inflammatoires conduisant à l'inflammation chronique	44
1. La voie TLR4/NFkB	44
2. L'inflammasome	46
IV. LES CELLULES IMMUNITAIRES INFILTRANT LE TISSU ADIPEUX	49
A. Acteurs de l'immunité innée impliqués dans l'insulino-résistance du tissu adipeux	50
1. Les macrophages	50
2. Les cellules dendritiques	57
B. Acteurs de l'immunité adaptative	59
1. Les lymphocytes T CD8 ⁺	61
2. Les lymphocytes T CD4 ⁺	61
V. LES LYMPHOCYTES TH17 PATHOGENIQUES	66
A. Caractérisation des Th17	66
1. Différenciation des Th17 à partir de CD4 ⁺ naïfs	66
2. Régulation de la différenciation des Th17.....	68
3. L'IL-17 et son récepteur IL-17RA/IL-17RC.....	70
4. Marqueurs des Th17.....	74
B. Fonction primaire des Th17 en réponse à une infection	74
C. Fonction pathogénique des Th17	75
D. L'obésité amplifie le nombre de Th17 dans le tissu adipeux.....	78
E. Mécanismes d'induction des Th17 dans le tissu adipeux dans l'obésité	79
1. Rôle des macrophages dans l'induction des Th17	79
2. Rôle du métabolisme glucidique et lipidique	82
F. L'obésité amplifie d'autres cellules sécrétrices d'IL-17 dans le TA.....	85

VI. LES CELLULES SOUCHES ADIPOCYTAIRES PARTICIPENT-ELLES A L'INFLAMMATION DU TISSU ADIPEUX EN CONDITION D'OBESEITE ?	86
A. Les cellules souches mésenchymateuses sont des acteurs majeurs de l'immunomodulation	86
1. Caractérisation des MSC.....	86
2. Immunogénicité des MSC.....	87
3. Les MSC immunosuppriment la réponse lymphocytaire	87
4. Mécanismes d'action des MSC.....	88
B. Les cellules souches adipoctaires, une alternative à l'utilisation des MSC de la MO	92
1. Caractérisation et localisation des CSA du tissu adipeux	92
2. Les CSA du tissu adipeux sont aussi capables d'immunomoduler l'inflammation : exemple de plusieurs pathologies	97
C. L'obésité altère le nombre et la fonction des CSA du tissu adipeux	100
1. L'obésité altère le nombre de CSA dans le tissu adipeux.....	101
2. L'obésité altère le sécrétome des CSA	101
3. L'obésité altère la fonction physiologique des CSA.....	102
VII. OMEGA-3 ET INFLAMMATION DU TISSU ADIPEUX AU COURS DE L'OBESEITE	105
A. Structure, métabolisme et mécanismes d'actions des AGPI	105
1. Structure	105
2. Métabolisme des ω -6 et ω -3	107
3. Mécanismes d'action des ω -3 dans l'inhibition de l'inflammation	108
B. Sources alimentaires, recommandations et intérêts pour la santé	119
1. Sources alimentaires	119
2. Recommandations nutritionnelles	119
3. Intérêts pour la santé	121
C. Effets connus des ω-3 sur la sensibilité a l'insuline	121
1. Etudes chez les animaux.....	121
1. Etudes chez l'Homme	123
B. Effets connus des ω-3 sur l'inflammation du tissu adipeux	125
1. Etudes dans les modèles animaux.....	125
2. Etudes chez l'Homme	126
C. Effets connus des ω-3 sur les Th17 en pathologie	129
REVUE 1: Pathogenic role of IL-17-producing cells in obesity, and related inflammatory diseases	134
OBJECTIFS DE LA THESE	135
DESCRIPTION DU MODELE DE CO-CULTURE	138
RÉSULTATS	140
ARTICLE 1: Adipose Tissue–Derived Stem Cells From Obese Subjects Contribute to Inflammation and Reduced Insulin Response in Adipocytes Through Differential Regulation of the Th1/Th17 Balance and Monocyte Activation.....	141
ARTICLE 2: Adipocytes, like their progenitors, contribute to inflammation of adipose tissues through promotion of Th17 cells and activation of monocytes, in obese subjects.....	146
ARTICLE 3 EN PRÉPARATION: Alpha linolenic acid prevents adipose stem cells-mediated Th17 cell polarization through a STAT3 and ICAM-1 dependant mechanism.....	149
DISCUSSION & PERSPECTIVES	160
CONCLUSION	172
RÉFÉRENCES	175
ANNEXE: REVUE 2	201

Liste des publications & participation aux congrès

Publications

Adipose Tissue–Derived Stem Cells From Obese Subjects Contribute to Inflammation and Reduced Insulin Response in Adipocytes Through Differential Regulation of the Th1/Th17 Balance and Monocyte Activation

Assia Eljaafari, Maud Robert, Marwa Chehimi*, Stephanie Chanon, Christine Durand, Guillaume Vial, Nadia Bendridi, Anne-Marie Madec, Emmanuel Disse, Martine Laville, Jennifer Rieusset, Etienne Lefai, Hubert Vidal, and Luciano Pirola*

* These authors contributed equally to the work

Diabetes. 2015 Jul;64(7):2477-88.

PMID: 25765019

Adipocytes, like their progenitors, contribute to inflammation of adipose tissues through promotion of Th17 cells and activation of monocytes, in obese subjects

Marwa Chehimi, Maud Robert, Michel El Bechwyat, Guillaume Vial, Jennifer Rieusset, Hubert Vidal, Luciano Pirola and Assia Eljaafari**

* These authors contributed equally to the work

Adipocyte. 2016 Jul-Sep; 5(3): 275–282.

PMID: 27617173

Alpha linolenic acid prevents adipose stem cells-mediated Th17 cell polarization through a STAT3 and ICAM-1 dependant mechanism

Article en préparation

Beneficial Effects of Fasting on White Adipose Tissue Inflammation and Metabolic Syndrome in Obese subjects: Review

Marwa Chehimi and Assia Eljaafari

Endocrinology & Metabolism International Journal. 2017

DOI: 10.15406/emij.2017.04.00105

Pathogenic Role of IL-17-Producing Immune Cells in Obesity, and Related Inflammatory Diseases: Review

Marwa Chehimi, Hubert Vidal, Assia Eljaafari

Journal of Clinical Medecine. 2017 Jul 14;6(7). pii: E68.

PMID : 28708082

Participation aux congrès

Association G2L2

Rhône-Alpes
23 mai 2014

Présentation orale : « *Polarisation par les cellules souches adipocytaires des lymphocytes T infiltrant le tissu adipeux vers la voie Th-17 et impact sur l'inflammation* »

Assises Inter-régionales de Nutrition et Métabolisme

Rhône-Alpes
Novembre 2015

Présentation orale : « *Mécanismes induisant l'inflammation du tissu adipeux et l'insulino-résistance au cours de l'obésité* »

Forum de la recherche en cancérologie

Lyon
Mars 2016

Présentation affichée : « *Contribution des cellules souches adipocytaires du sujet obèse dans la tumorigenèse des cellules hépatiques via la polarisation des lymphocytes Th17 et l'activation des monocytes* »

Prix Poster

Société Francophone du Diabète

Lyon
Mars 2016

Présentation affichée : « *Les oméga-3 inhibent l'activation des Th17 médiée par les cellules souches adipocytaires chez le patient obèse* »

Forum de la recherche en cancérologie

Lyon
Mars 2017

Présentation affichée : « *Contribution des cellules souches adipocytaires du sujet obèse dans la tumorigenèse des cellules hépatiques et mammaires, via la polarisation des lymphocytes Th17 et l'activation des monocytes* »

European Association for the Study of Diabetes

Lisbonne, Portugal
Septembre 2017

Présentation affichée: « *Contribution of adipose stem cells from obese subjects to hepato-or breast-carcinoma tumorigenesis, through promotion of Th17 cells* »

Liste des abréviations

A

AA: acide arachidonique
 ACS: acyl coA synthase
 Act1 : adaptator protein 1
 AG : acides gras
 AGNE : acide gras non estérifiés
 AIM2: Interferon-inducible protein AIM2
 ALA : acide a-linolénique
 AMPc: Adénosine monophosphate cyclique
 ATGL : adipose triglyceride lipase

C

CD: cellule dendritique
 CD: cluster of differentiation
 CFU: colony forming unit
 CLS: crow-like structure
 CMH : complexe majeur d'histocompatibilité
 CMN: cellule mononucléée du sang
 COX: cyclooxygenase
 CRP : C-reactive protein
 CSA : cellule souche adipocytaire

D

DGAT2 : diacylglycerol O-acyltransferase 2
 DHA: Docosahexaenoic acid
 DPA : Docosapentaenoic acid

E

EPA : eicosapentaenoic acid

F

FABP4: Fatty acid binding protein
 FATP : Fatty Acid Transport Protein

G

G3P : glycérol-3-phosphate
 GLUT 4 : Glucose transporter type 4

H

HSL: hormone sensitive lipase

I

ICAM-1 : intercellular adhesion molecule 1
 IDO : Indoleamine 2,3-dioxygenase
 IKKb : Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase
 IL: interleukin
 IMC : Indice de Masse Corporelle
 IR: insulin receptor
 IRAK: Interleukin-1 receptor associated kinase
 IRF : Interferon regulatory factors
 IRS: insulin receptor substrate

J

JNK: c-Jun N-terminal kinase

L

LA : linoleic acid
 LPS: lipopolysaccharide
 LT: Lymphocyte T

M

M1: macrophage de type 1
 MAPK: Mitogen-activated protein Kinase
 MCP-1: Monocyte Chemoattractant Protein-1
 MGL : monoacylglycerol lipase
 MSC : mesenchymal stem cell
 MyD88: Myeloid differentiation primary response 88

N

NLRC4: NLR family CARD domain-containing protein 4
 NLRP4: NLR Family Pyrin Domain Containing 4

O

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P

PDE3B: Phosphodiesterase 3B
 PDK: Phosphoinositide-dependent kinase-1
 PGE: Prostaglandin E
 PI3K: phosphatidyl-inositol 3 kinase
 PIP2: Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate
 PIP3: Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate
 PKA: protein Kinase A
 PKB (Akt) : protein kinase B

S

SREBP1 : Sterol regulatory element binding protein 1
 STAT3: Signal transducer and activator of transcription 3
 SVF: stromal vascular fraction

T

TAB: TAK1-binding protein
 TAK1: Transforming growth factor beta-activated kinase 1
 TAsc : Tissu adipeux sous-cutané
 TA_v : Tissu adipeux viscéral
 TCR : T cell receptor
 TG : triglycéride
 Th: T helper cells
 TLR4: Toll Like Receptor 4
 TNFa: Tumor necrosis factor a
 TRAF6: Tumor necrosis factor receptor associated factor 6

V

VEGF_a : Vascular endothelial growth factor A

Résumés

**Régulations fonctionnelles des lymphocytes T par les cellules souches adipocytaires :
implication dans l'inflammation chronique et l'insulino-résistance
du tissu adipeux du sujet obèse**

En condition d'obésité, le tissu adipeux est le théâtre d'infiltration et d'accumulation de cellules immunitaires dont les lymphocytes Th17, impliqués dans de nombreuses maladies inflammatoires chroniques et auto-immunes. Les mécanismes d'activation et de prolifération des Th17 au sein du tissu adipeux ne sont pas connus. Nous avons suggéré un rôle des cellules souches adipocytaires (CSA) dans l'induction de l'inflammation médiée par les Th17. Nos résultats montrent, pour la première fois, et grâce à un modèle de co-culture combinant les CSA du tissu adipeux obèse avec des cellules mononucléées du sang circulant, que seules les CSA issues de sujets obèses, et non pas de sujets minces, sont capables d'induire l'activation des Th17 et des monocytes, qui en retour activent la sécrétion d'IL-6 par les CSA. L'environnement inflammatoire, induit par cette interaction, est à l'origine de l'inhibition de l'adipogenèse et de la réduction de la sensibilité à l'insuline des adipocytes. De plus, tout comme les CSA, les adipocytes issus de sujets obèses induisent le même phénotype inflammatoire. Enfin, une étude en cours nous a permis de montrer que les acides gras polyinsaturés de type ω -3, inhibent spécifiquement l'activation des Th17 mais n'ont aucun impact sur les monocytes inflammatoires, dans notre modèle, possiblement lié à une inhibition de l'expression d'ICAM-1. En conclusion, une triade inflammatoire constituée de CSA ou d'adipocytes issus de sujets obèses combinés avec des monocytes et des Th17, forme un cercle vicieux où l'inflammation est maintenue et amplifiée.

Mots clés : obésité, cellules souches adipocytaires, inflammation, Th17, monocytes, oméga-3, métabolisme

**Regulation of T lymphocytes by adipose stem cells: impact on chronic inflammation and
insulin-resistance in obese adipose tissue**

In obesity, adipose tissue is massively infiltrated by a panel of inflammatory immune cells such as IL-17-secreting Th17 lymphocytes. The mechanisms by which Th17 cells are induced are less understood. We postulated that adipose stem cells (ASC), which are known to play immunomodulatory functions in contact with immune cells, might be involved in Th17 activation. By using an *in-vitro* co-culture model, we demonstrated for the first time, that ASC issued from obese, but not lean AT were able to activate IL-17 secretion from Th17 cells, and IL-1 β secretion from monocytes. In turn, such an interaction led to increased secretion of IL-6 from ASC. The inflammatory environment generated from this interaction was then able to inhibit adipogenesis and

adipocyte insulin-sensitivity. We also showed that adipocytes harvested from obese adipose tissue were able to promote Th17 cell and monocyte activation. Finally, we demonstrated that polyunsaturated fatty acids omega-3 presented anti-inflammatory properties towards Th17 cells, while they had no effect on monocytes in our co-culture model (manuscript in preparation), which was related to decrease of ICAM-1 expression. In conclusion, we highlight herein a crosstalk between ASC, monocytes and Th17 cells in obese adipose tissue, which leads to a vicious circle of pro-inflammatory cytokine secretion.

Keywords: obesity, adipose stem cells, inflammation, Th17 cells, monocytes, omega-3, metabolism

Introduction

Corpulence	IMC (kg/m²)
Dénutrition	IMC <16,5
Maigreur	16,5 < IMC < 18,5
Corpulence normale	18,5 < IMC < 24,9
Surpoids	25 ≤ IMC ≤ 29,9
Obésité modérée	30 ≤ IMC ≤ 34,9
Obésité sévère	35 ≤ IMC ≤ 39,9
Obésité morbide	IMC ≥ 40

Tableau 1: Seuils de corpulences définis par l’OMS.

I. L'OBESITE ET LE DIABETE DE TYPE II

A. Définitions

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a défini le surpoids et l'obésité comme « une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle qui représente un risque pour la santé ». Le surpoids et l'obésité sont liés à un apport calorique supérieur à la dépense énergétique. L'indice de masse corporelle (IMC) permet d'estimer la corpulence d'une personne et le risque de développer des maladies liées au surpoids ou à l'obésité (**Tableau 1**). Il est exprimé en kg/m^2 et correspond au poids de la personne (en kilogramme) rapporté au carré de sa taille (en mètre).

L'excès de masse grasse abdominale est associé à un risque accru de syndrome métabolique pouvant se compliquer par un diabète de type 2 et des maladies cardiovasculaires. Le diabète de type 2 est une maladie évolutive. Dans un premier temps, l'excès d'apport glucidique stimule la production excessive d'insuline pour maintenir une glycémie stable. La stimulation chronique des cellules (exprimant le récepteur à l'insuline) par l'insuline entraîne une dégradation de la réponse, liée à la perte de la sensibilité des récepteurs à l'insuline. Les cellules deviennent alors insulino-résistantes, et n'assimilent plus le glucose. De ce fait, la concentration de glucose dans le sang reste élevée. On parle alors d'hyperglycémie chronique. Dans un second temps, le pancréas en réponse à l'hyperglycémie chronique, produit davantage d'insuline jusqu'à épuisement de la cellule β . C'est la résultante de ces deux phénomènes qui conduit au diabète de type 2.

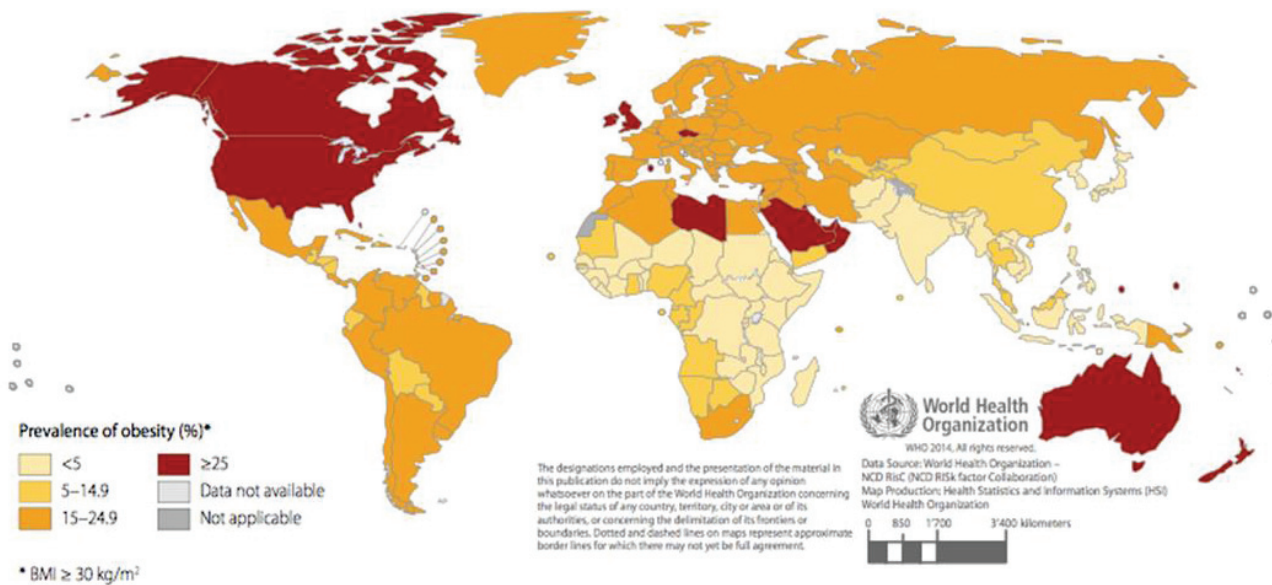
Selon l'OMS, un individu est considéré diabétique si sa glycémie à jeun est supérieure ou égale à 1,26 g/L à deux reprises.

B. L'obésité et le diabète de type 2 en quelques chiffres

Les problèmes de santé commencent généralement dès l'apparition d'une surcharge pondérale. A l'échelle mondiale, la surcharge pondérale et l'obésité sont associés à une mortalité plus importante que l'insuffisance pondérale. 2,8 millions de personnes décèdent chaque année en relation avec l'obésité. L'OMS emploie le terme d'épidémie mondiale.

La prévalence de l'obésité et celle du diabète ont presque doublé entre 1980 et 2014 et représentent un problème de santé publique majeur. L'obésité et ses comorbidités sont associées à une mortalité prématurée. Une étude parue dans The Lancet, a estimé qu'en 2014, plus de 2

A. Prévalence de l'obésité (IMC ≥ 30 kg/m²) chez les hommes de plus de 18 ans, dans le monde, en 2014



B. Prévalence de l'obésité (IMC ≥ 30 kg/m²) chez les femmes de plus de 18 ans, dans le monde, en 2014

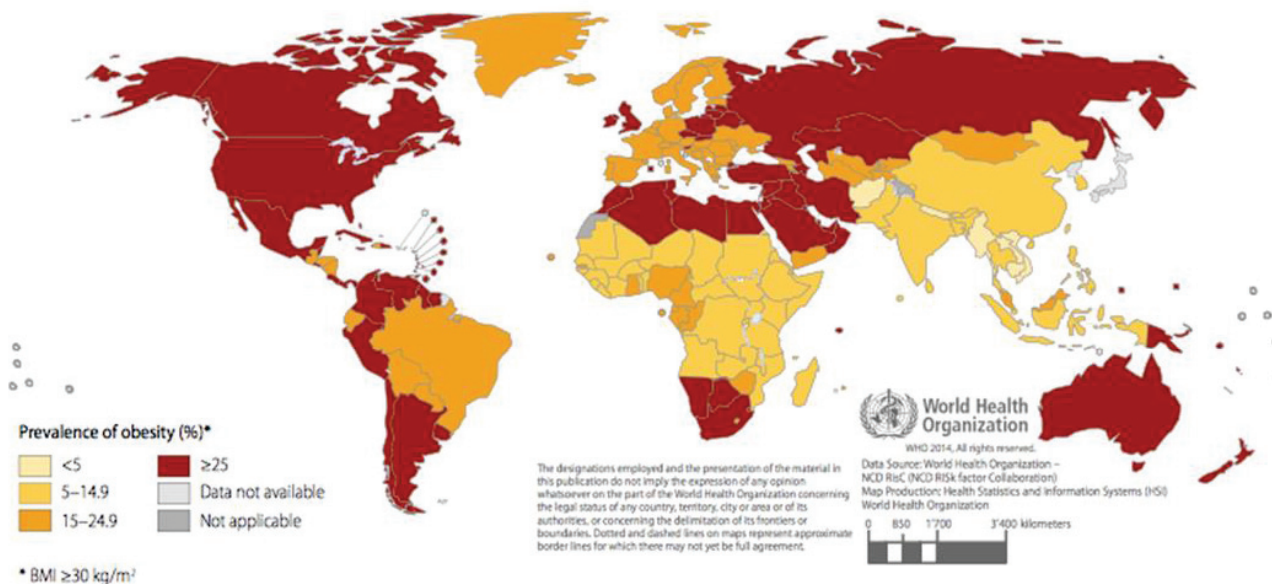


Figure 1. Cartographie de l'obésité mondiale en 2014 selon le rapport de l'OMS

milliards d'adultes dans le monde étaient en surpoids, dont 671 millions d'adultes obèses, ce qui correspond respectivement à 39% et 13 % de la population mondiale (The lancet obesity 2014). En 2014, 422 millions d'adultes étaient diabétiques dont 90 % sont des diabétiques de type 2. **(FIGURE 1)** (Rapport mondial sur le diabète -OMS 2016)

80 % des cas de diabète de type 2 sont associés à l'obésité. L'OMS a estimé que l'hyperglycémie a provoqué 3,7 millions de décès en 2012 dont 43 % ont touché des personnes de moins de 70 ans. Le développement du diabète de type 2 prend des années à se déclarer et peut donc passer inaperçu. Ainsi, l'Institut de veille sanitaire estime qu'entre 500 000 et 800 000 Français seraient touchés par le diabète de type 2 sans le savoir. En France, l'Assurance Maladie a recensé le nombre de patients diabétiques traités à 4,6%, en 2011.

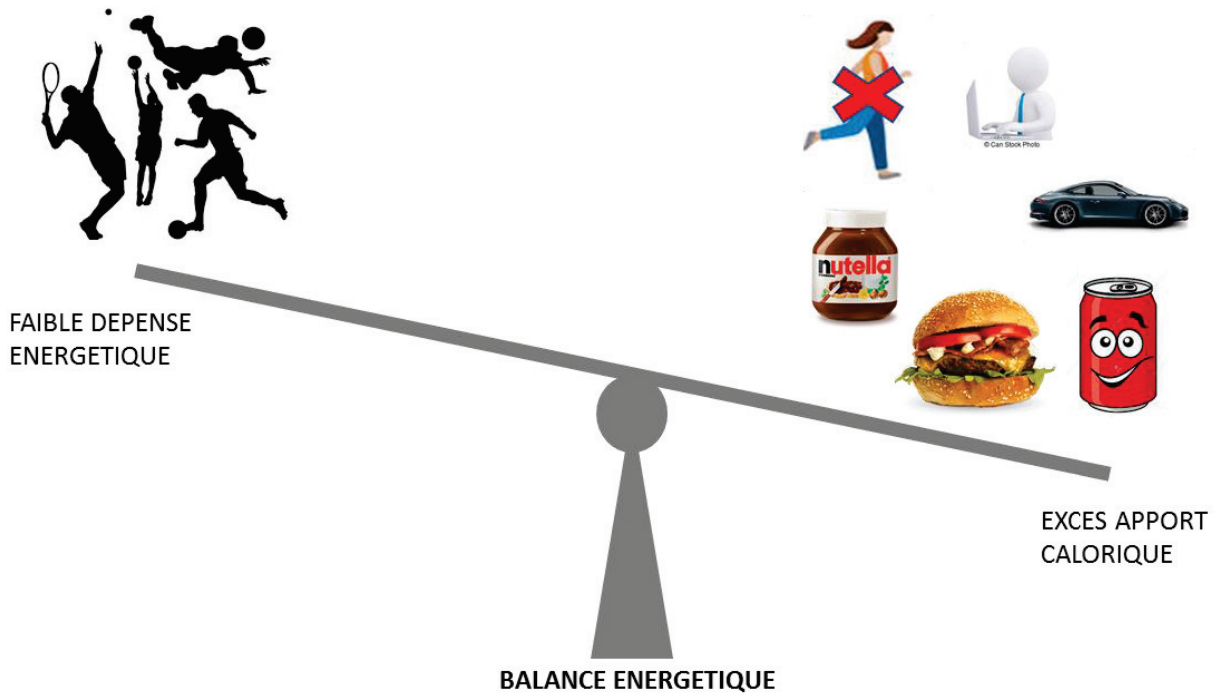
Depuis peu, ces maladies prennent de l'ampleur chez l'enfant. En 2014, l'OMS a estimé que plus de 41 millions d'enfants étaient en surpoids ou obèses dont près de la moitié vivaient en Asie. Les enfants en surpoids ont un risque accru de devenir ou de rester obèses à l'âge adulte, et de souffrir de diabète de type 2 et de maladies cardiovasculaires, augmentant ainsi le risque de mourir prématurément.

Au vu de la progression de la maladie, il est estimé que d'ici 2030, 42 % de la population mondiale deviendrait obèses et 11 % obèses morbides (Finkelstein et al. 2012).

Les facteurs impliqués dans le développement de l'obésité sont multiples. Leur identification permettrait de proposer des solutions durables réduisant cette épidémie.

C. Facteurs de l'obésité et du diabète de type 2

Le déséquilibre entre l'apport calorique et la dépense énergétique représente la cause majeure de l'obésité. Ainsi, la consommation d'aliments hyper-caloriques sans augmentation adéquate de l'activité physique peut conduire à l'obésité. De plus, l'industrialisation est incontestablement responsable de l'émergence de l'obésité **(FIGURE 2)**. En effet, l'accessibilité facilitée aux aliments, l'augmentation de la taille des portions, l'augmentation de l'apport calorique des aliments, et la consommation excessive des boissons sucrées peuvent expliquer l'augmentation de la prévalence de l'obésité. Les régimes alimentaires occidentaux ou « western diet » sont riches



- Les prédispositions génétiques
- Stress chronique
- Manque de sommeil
- Tabagisme
- Polluants environnementaux

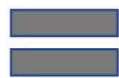


Figure 2: Ethologie de l'obésité

en acides gras saturés (ex. huile de palme très présent dans le Nutella !) et en acides gras polyinsaturés de type oméga-6 (ex. huile de maïs) mais pauvres en acides gras polyinsaturés de type oméga-3 (ex. huile de foie de morue). Ce déséquilibre favorise la surcharge pondérale.

" limiter la consommation de sucre, de gras et de sel souvent en excès dans les plats cuisinés industriels pour préserver son capital santé, se sentir mieux. ... en plus d'une activité physique régulière", c'est le message de la Fédération française des diabétiques lors de la campagne de prévention du diabète en juin 2016.

Le confort de vie apporté par l'industrialisation tels que l'utilisation de la voiture et des transports en communs, les différents loisirs comme la télévision, les ordinateurs et les jeux vidéo conduisent à une baisse d'activité physique et donc à une diminution de la dépense énergétique. La nature sédentaire de certains métiers peut aussi être à l'origine du développement de l'obésité.

L'excès d'apport nutritionnel ainsi que la sédentarité, ne sont pas les seuls facteurs responsables de l'augmentation de la prévalence de l'obésité dans le monde. Les facteurs environnementaux, tels que le stress (Scott, Melhorn, et Sakai 2012), le manque de sommeil (Beccuti et Pannain 2011), le tabagisme (Dare, Mackay, et Pell 2015), l'exposition à des polluants (Labaronne et al. 2017) sont autant de facteurs qui ont été montrés comme capables d'amplifier la survenue de l'obésité. La suralimentation des femmes enceintes expose les fœtus dès la vie intra-utérine à un environnement propice au développement de l'obésité pendant l'enfance et à l'âge adulte (Marchi et al. 2015).

De plus, les prédispositions génétiques peuvent entraîner une différence de susceptibilité entre des individus soumis à un même régime alimentaire et à un mode de vie similaire. C'est notamment l'exemple d'individus ayant une mutation très rare du gène de la leptine ou de son récepteur, entraînant une obésité dite monogénique caractérisée par une hyperphagie sévère dès l'enfance (Clément et al. 1998; Dubern et Clement 2012).

D. Les maladies liées à l'obésité

Le déséquilibre entre apport calorique - à travers l'alimentation riche en glucides et en lipides - et dépense énergétique - par le manque d'activité physique - engendre un nombre

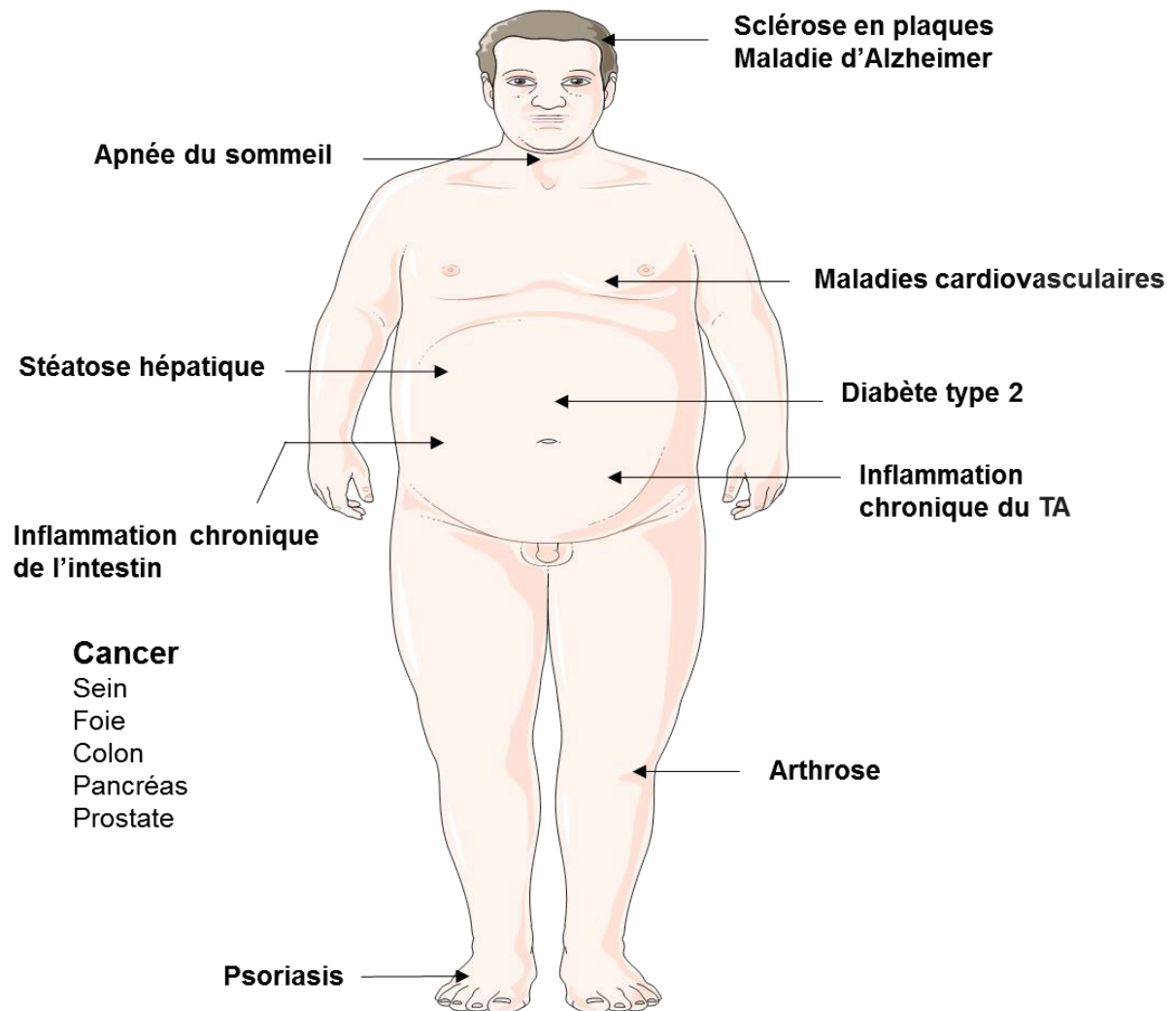


Figure 3. Les comorbidités associées à l'obésité

*Adapté à partir de Chehimi et al. 2017
PMID: 28708082*

important de complications qui, sur le long terme, peuvent devenir nuisibles pour la santé. La **FIGURE 3** cite les principales maladies associées à l'obésité (liste non-exhaustive).

L'obésité est un facteur de risque majeur pour les maladies cardiovasculaires fréquemment associée à de l'hypertension et une hyperlipidémie (augmentation des lipides sanguins). Les maladies cardiovasculaires sont la première cause de mortalité dans le monde (31 % de la mortalité mondiale). La masse grasse abdominale est la plus nocive pour l'organisme, et est corrélée à un risque accru de développer ces maladies.

L'apnée du sommeil est un syndrome pour lequel la respiration est interrompue de façon répétitive et incontrôlée durant le sommeil. 30,5 % des personnes âgées en sont concernées. Néanmoins, l'obésité et le syndrome métabolique du diabète augmentent le risque de manifester des apnées du sommeil ; 60 % des individus ayant un syndrome métabolique et 16 % des diabétiques de type 2 en font. En effet, l'augmentation de la masse grasse augmente les dépôts de tissu adipeux autour du pharynx, ce qui obstrue les voies aériennes. D'autres maladies pulmonaires sont aggravées en condition d'obésité, notamment l'asthme.

La surcharge pondérale favorise les maladies inflammatoires articulaires comme l'arthrose, qui se manifeste par une dégradation progressive du cartilage. Les individus obèses ont un risque multiplié par 2 de développer l'arthrose des mains (Yusuf et al. 2010). De plus, l'obésité est un facteur de risque et d'aggravation de maladies inflammatoires chroniques. Ainsi, l'obésité accroît la sévérité de la polyarthrite rhumatoïde avec des taux plus élevés d'anticorps dirigés contre le collagène en comparaison aux animaux non-obèses (Jhun et al. 2012). Par ailleurs, une étude de cohorte a montré une corrélation entre le diabète de type 2 et la prévalence de développer la polyarthrite rhumatoïde ou du psoriasis (Solomon et al. 2010). L'obésité est corrélée avec des taux élevés d'acides gras libres (AGL) plasmatiques eux-mêmes impliqués dans la sévérité du psoriasis (Stelzner et al. 2016). Une revue récente pointe du doigt le rôle majeur du tissu adipeux du sujet obèse et des facteurs sécrétés par ce tissu (ex. leptine, resistine et visfatine mais aussi IL-1 β , IL-6, TNF- α et IL-17) dans la progression et la sévérité de la sclérose en plaques (Guerrero-García et al. 2016).

L'obésité et le syndrome métabolique constituent un facteur de risque et de complications dans certains cancers comme celui du sein, de l'utérus (endomètre), de la prostate, du colon et du

foie (Chehimi et al. 2017, pour revue). Ainsi chez l'obèse, la sécrétion de facteurs pro-inflammatoires par le tissu adipeux contribue à la progression tumorale. Plusieurs études ont rapporté la contribution majeure de la leptine et de son récepteur (ObR) dans la croissance tumorale. De façon intéressante, ObR est exprimé à la surface de plusieurs types de cellules cancéreuses humaines, notamment dans les cancers du côlon et du rectum, du sein, des ovaires et de la prostate (Vansaun 2013). Alors qu'il est peu détectable dans le tissu mammaire des femmes saines, ObR est exprimé dans 83 % des tissus mammaires cancéreux ; et 34 % des femmes surexprimant ObR et la leptine développent des métastases (Ishikawa et al. 2004).

Des études ont montré un lien entre l'IMC et la survenue de certaines maladies neurodégénératives comme la sclérose en plaques (Gianfrancesco et al. 2016) et la maladie d'Alzheimer (Naderali et al. 2009).

La pratique d'une activité physique régulière et le contrôle de la prise alimentaire permettent de réduire considérablement ces risques et d'augmenter l'espérance de vie. En effet, comme démontré dans plusieurs modèles expérimentaux, la restriction alimentaire est associée à une réduction du développement des tumeurs (IARC Press 2002)

Les multiples changements physiologiques du tissu adipeux et des adipocytes le constituant, semblent être le lien entre obésité et maladies métaboliques (Blüher 2013). Dans le prochain paragraphe, la structure et la fonction physiologique du tissu adipeux seront détaillés, et une attention particulière sera réservée à l'inflammation du tissu adipeux en condition d'obésité.

II. LE TISSU ADIPEUX BLANC : LIEU DE NAISSANCE DE L'OBESITE

Le tissu adipeux blanc constitue la plus grande réserve énergétique de l'organisme, nécessaire à l'homéostasie énergétique et à la survie. Cette énergie est stockée sous forme de triglycérides (TG) au sein de cellules spécialisées nommées « adipocytes ». La dynamique du tissu adipeux lui confère la capacité de répondre rapidement aux changements nutritionnels par un accroissement ou une réduction de la masse adipeuse. En effet, des souris soumises à une période de jeûne de 24h ont subi une perte significative de la masse adipeuse suivie d'un remodelage du

tissu adipeux. A l'inverse, lorsque des souris ont été soumises à un régime riche en gras pendant 24 à 48h, une augmentation de la taille des adipocytes a été observée (Sun et al. 2011).

Le tissu adipeux est doué d'une grande plasticité. Le tissu adipeux peut s'expandre massivement en condition d'apport hypercalorique de façon chronique atteignant jusqu'à 60 % du poids corporel total, chez les individus obèses morbides (Ortega et al. 2010). A l'inverse, les athlètes de haut niveau extrêmement minces peuvent avoir une masse grasse ne dépassant pas 5 % du poids corporel total (Fleck 1983). Chez l'individu mince, le tissu adipeux représente environ 20 % de la masse corporelle chez l'homme et 30 % chez la femme ; en revanche chez l'individu obèse morbide, le tissu adipeux peut dépasser 50 % du poids corporel (Morigny et al. 2016).

A. Localisation et composition du tissu adipeux

Localisation du tissu adipeux

Le tissu adipeux est constitué de 2 compartiments majeurs : le compartiment viscéral (graisse centrale) et le compartiment sous-cutané (graisse périphérique). Chez l'adulte, la masse grasse autour des hanches, des fesses et des cuisses constitue le tissu adipeux sous-cutané (TAsc), alors que la graisse intra-abdominale, rétropéritonéale et omentale constituent le tissu adipeux viscéral (TAv). D'autres dépôts graisseux, moins représentés, sont localisés en intra-musculaire, péri-articulaire ou en péricardique par exemple (Gesta et al. 2007). **(FIGURE 4)**

Plusieurs études ont montré que la distribution des dépôts de graisse, plus que la masse grasse corporelle, est déterminante pour le développement de maladies liées à l'obésité et au syndrome métabolique. Ainsi, l'accumulation des graisses dans le compartiment intra-abdominal/viscéral augmente le risque du diabète de type 2, de l'hypertension et des maladies cardiovasculaires (Y. Wang et al. 2005; Carr et Brunzell 2004). A l'inverse, l'accumulation des graisses dans le compartiment sous-cutané est associée à un risque modéré de développer un syndrome métabolique (Gesta, Tseng, et Kahn 2007). Tran et al. ont clairement mis en évidence le rôle fondamental du TAsc dans la protection contre les maladies métaboliques. En effet, la transplantation d'un fragment de TAsc dans le TAv d'une souris, a provoqué une diminution du poids corporel, de la masse grasse, des niveaux de glucose et d'insuline, ainsi qu'une amélioration de la sensibilité à l'insuline (Tran et al. 2008). En accord avec le rôle majeur du TAsc dans la protection contre le syndrome métabolique, notre équipe a montré que sur une cohorte de 41

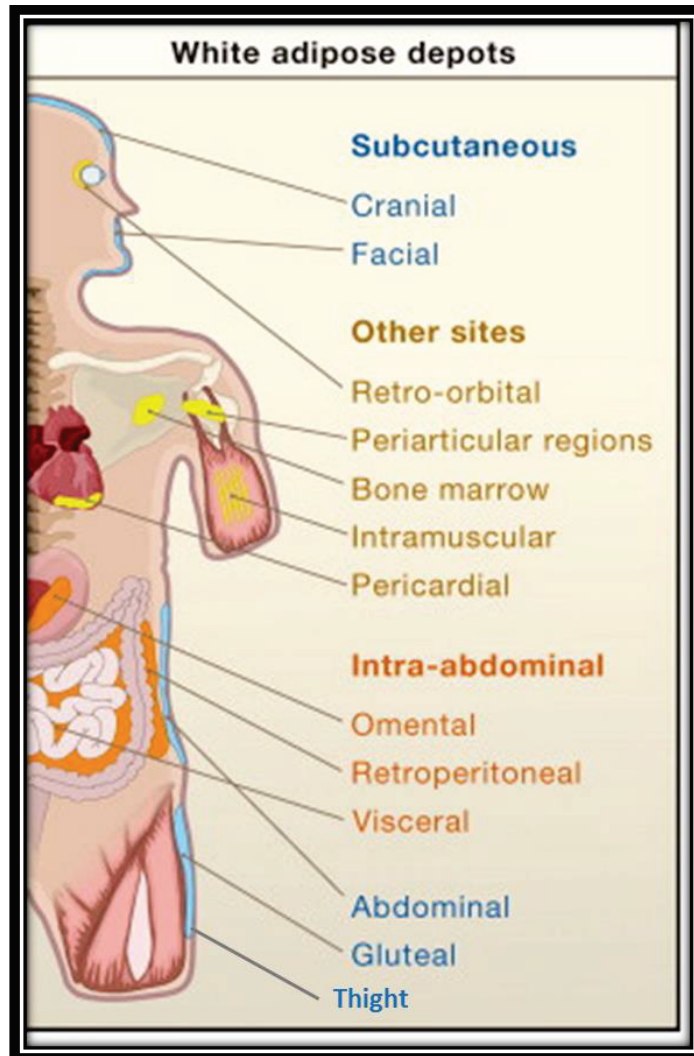


Figure 4. Répartition des dépôts de tissu adipeux blanc chez l'Homme

*Adapté à partir de Gesta (2007).
PMID: 17956727*

individus volontaires sains surnourris pendant 56 jours (+760 kcal/jour), le défaut de stockage des lipides dans le TAsc (caractérisé par une inhibition de l'expression de DGAT2 et SREBP1, gènes majeurs de cette voie de stockage) est à l'origine de l'augmentation du stockage des lipides dans le TAv (Maud Alligier et al. 2013). Par ailleurs il a été montré que ce défaut de stockage des lipides post-prandiaux est à l'origine des dépôts ectopiques de lipides associés à la lipotoxicité (McQuaid et al. 2011).

Les adipocytes présentent une différence morphologique entre les différents dépôts chez l'Homme. Par exemple, Tchoukalova a montré que les adipocytes issus du TAsc des cuisses chez les femmes de corpulence normale sont plus larges que ceux du TAsc abdominal (Tchoukalova et al. 2007).

Composition du tissu adipeux

Le tissu adipeux est un organe hétérogène composé de plusieurs types cellulaires aux fonctionnalités différentes. Le tissu adipeux est composé de 40 % d'adipocytes, et 60% de cellules non-adipocytaires (Caspar-Bauguil et al. 2009). Le tissu adipeux est considéré comme un organe endocrine à part entière, du fait de sa capacité à synthétiser et sécréter des hormones et des cytokines. L'ensemble des facteurs sécrétés par le tissu adipeux sont appelés adipokines.

C'est le fractionnement du tissu adipeux qui a permis de mettre en évidence le rôle des adipocytes et d'autres cellules que les adipocytes dans la sécrétion d'adipokines, impliquées dans l'homéostasie du tissu adipeux, mais aussi dans l'inflammation et, le lien entre les maladies métaboliques et l'obésité. Afin d'isoler les adipocytes de la matrice extracellulaire, un traitement enzymatique (en général avec de la collagénase) est nécessaire. Une fois toutes les cellules isolées, une étape de centrifugation permet de séparer les adipocytes matures des autres cellules. Toutes les cellules non-adipocytaires font partie de la fraction vasculaire stromale (ou *stromal vascular fraction-SVF*). Cellules souches adipocytaires (CSA), péricytes, fibroblastes, cellules endothéliales, hématies et cellules du système immunitaire sont retrouvés dans le SVF (**FIGURE 5**). L'obésité altère la composition du tissu adipeux. En effet, le nombre et la taille des adipocytes sont altérés par l'obésité. De plus, le nombre et le type cellulaire des cellules de la fraction stromale du tissu adipeux sont affectés par l'obésité. Ce phénomène est appelé remodelage du tissu adipeux. En condition d'obésité, le SVF est une source majeure de cytokines pro-inflammatoires et représente donc une cible privilégiée pour lutter contre l'inflammation induite par l'obésité.

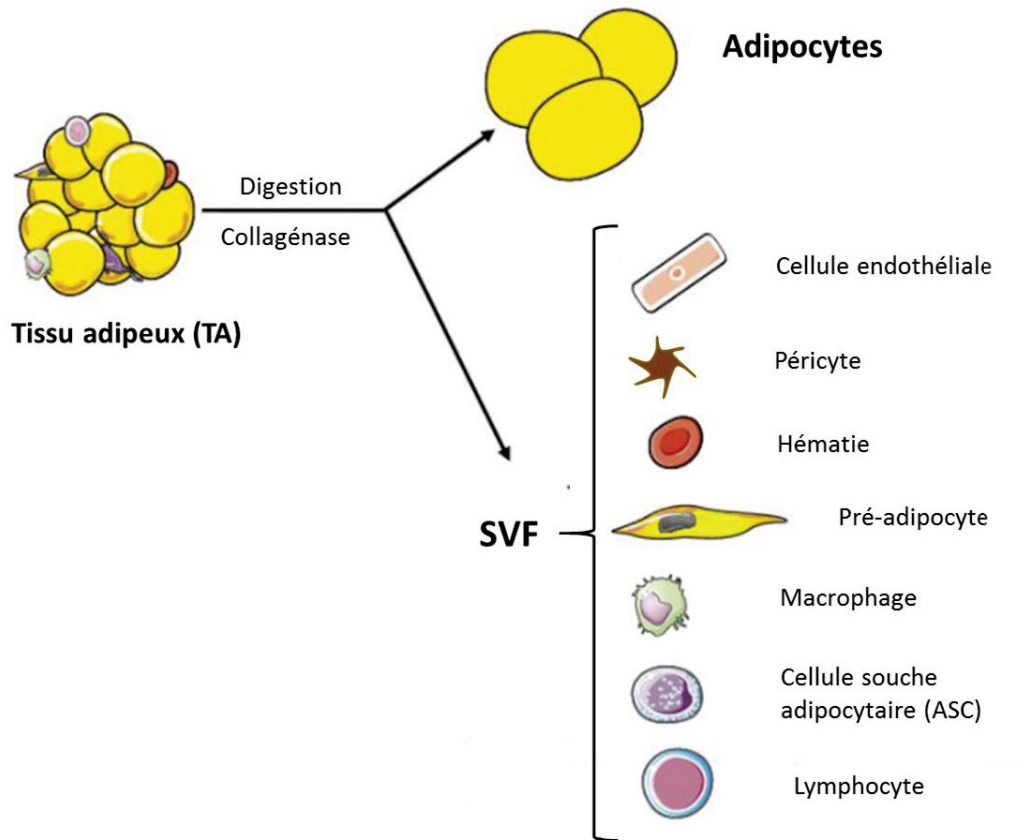


Figure 5. Composition du TA blanc.

Adapté à partir de Caspar-Bauguil S. et al. (2009)
PMID: 20358356

Dans ce chapitre, la fonction des adipocytes, des cellules souches adipocytaires et des cellules du système immunitaire seront discutées ainsi que leurs rôles dans la pathologie de l'obésité et du diabète de type 2.

B. Les adipocytes

Les adipocytes matures sont formés d'une seule gouttelette lipidique, contenant un stock de triglycéride (TG), occupant tout le cytoplasme. Les principales fonctions métaboliques des adipocytes sont la lipogenèse à partir de la captation, depuis la circulation sanguine, des acides gras non-estérifiés (AGNE) issus de l'alimentation ou de la lipogenèse *de novo* hépatique ; et de la lipolyse permettant d'hydrolyser les triglycérides en trois acides gras libres plus une molécule de glycérol (Rutkowski et al. 2015). Ces voies métaboliques sont, entre-autres, sous le contrôle de l'insuline (pro-lipogénique) et des catécholamines (pro-lipolytique) (**Figure 6**).

1. La lipogenèse

La synthèse des TG nécessite deux principaux substrats, les AGNE activés en acyl-CoA et le glucose catabolisé en glycérol-3-phosphate (G3P). Les AGNE sont captés par les adipocytes grâce à des transporteurs ancrés dans la membrane plasmique, la protéine de transport des AG (Fatty Acid Transport Protein, FATP) et la protéine CD36, cette dernière étant responsable de la majorité de la captation des AGNE (Ibrahimi et Abumrad 2002). Les AGNE, une fois dans le cytosol, circulent complexés à la protéine de transport FABP4/ap2 (Fatty Acid Binding Protein). Les AGNE, activés en acyl-CoA par l'acyl-coA synthase (ACS) sont ensuite ré-estérifiés en TG, en présence d'une molécule de G3P. 3 AGNE et 1 G3P forment une molécule de TG, stockée au sein des gouttelettes lipidiques. La diacylglycerol O-acyltransférase 2 (DGAT2) est l'enzyme clé catalysant la réaction finale de synthèse du triacylglycérol (diacylglycérol \rightarrow triacylglycérol). Le G3P nécessaire à cette ré-estérification est fourni par le catabolisme du glucose durant la glycolyse (glucose \rightarrow dihydroxyacétone phosphate \rightarrow G3P). Le glucose pénètre dans l'adipocyte via le transporteur GLUT4 membranaire.

Chez l'Homme, la captation des acides gras libres et leur ré-estérification en TG est la voie majoritaire de production des TG dans le tissu adipeux. En revanche, la lipogenèse *de novo* est beaucoup plus importante dans le tissu adipeux des rongeurs en comparaison à l'Homme (Morigny et al. 2016).

Les triglycérides synthétisés sont stockés au sein d'organites appelées gouttelettes lipidiques, structure délimitée par une monocouche de phospholipides. Plusieurs protéines sont présentes à la

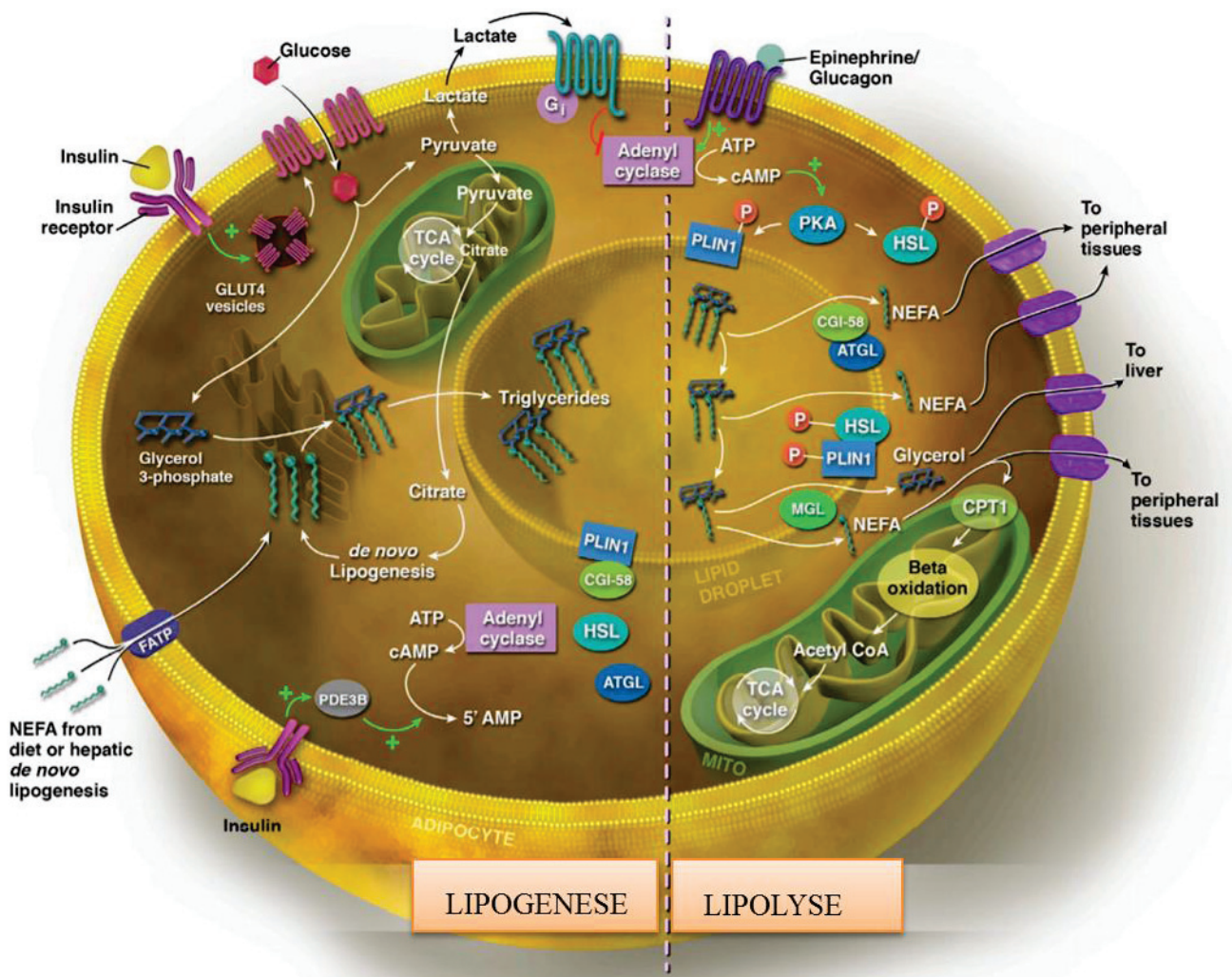


Figure 6: Mécanismes et régulation de la lipogénèse et la lipolyse adipocytaire

Adapté à partir de Rutwoski et al. (2015)

PMID: 25733711

surface des gouttelettes lipidiques, comme la DGAT2 et la périlipine. La périlipine est une protéine de structure qui stabilise ces organites et régule la lipolyse.

2. La lipolyse

La lipolyse, à l'inverse de la lipogenèse, permet la mobilisation du stock de TG accumulé dans les adipocytes. L'action de 3 lipases est nécessaire à l'hydrolyse d'un triglycéride en 3 molécules d'AGNE et une molécule de glycérol. Adipose TG lipase (ATGL), hormone sensitive lipase (HSL) et monoacylglycerol lipase (MGL) permettent successivement d'hydrolyser le TG en diacylglycérol, monoacylglycérol, une molécule d'acides gras et de glycérol. Ces réactions libèrent 3 AG libres non-estérifiés qui seront soit ré-estérifiés en TG au sein de l'adipocyte même soit relargués dans la circulation et utilisés à des fins énergétiques par d'autres cellules (Rutkowski et al. 2015).

3. Régulation par l'insuline

L'insuline régule en grande partie l'homéostasie du glucose et des lipides, ainsi que la différenciation adipocytaire. Cette hormone est sécrétée par les cellules β pancréatiques en réponse à l'augmentation de la glycémie et des acides-aminés post-prandiaux. Elle agit sur les cellules insulino-sensibles (exprimant le récepteur à l'insuline) comme les adipocytes, les cellules musculaires et cardiaques, les hépatocytes et les cellules β pancréatiques. L'insuline stimule l'entrée du glucose dans les cellules musculaires et adipocytaires, mais inhibe la néoglucogenèse et la glycolyse hépatique ; l'insuline est donc une hormone hypoglycémiante. **(FIGURE 7)**

L'insuline sécrétée en période post-prandiale favorise la mise en réserve des glucides et des lipides apportés par l'alimentation. Au niveau mécanistique, l'insuline se fixe sur son récepteur membranaire (IR pour *insulin receptor*). Ce récepteur possède une activité tyrosine kinase qui lui permet de s'autophosphoryler (résidu tyrosine 960 de l'IR) et de phosphoryler des protéines substrats, insulin receptor substrates (IRS) en priorité. La phosphorylation se fait sur le résidu tyrosine des protéines IRS (IRS 1/2/3 exprimées dans les adipocytes) (M. F. White 2002). Les IRS ainsi phosphorylées recrutent la phosphatidyl-inositol 3 (PI3) kinase (p110/p85), via sa liaison avec le domaine SH2 de la sous-unité régulatrice de la PI3K, p85. La PI3K va phosphoryler en position 3 les phosphoinositides membranaires (PIP2 \rightarrow PIP3), créant des sites de reconnaissance pour d'autres kinases telles que la protéine kinase B (PKB) aussi appelée AKT, ou la PDK1/2 (3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1/2). L'activation de la protéine AKT est médiée par la

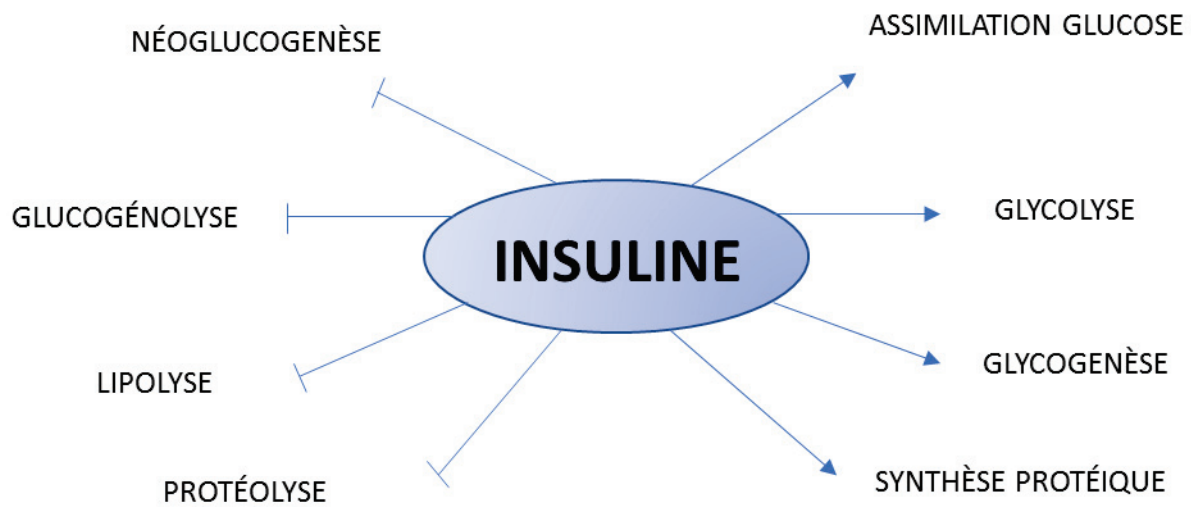


FIGURE 7: L'insuline régule diverses voies métaboliques.

PDK1/2 qui phosphoryle l'AKT sur ses résidus sérine/thréonine. Une fois activée, l'AKT induit la translocation des vésicules contenant les transporteurs de glucose, GLUT4, présents dans les adipocytes, vers la membrane plasmique, conduisant à l'entrée du glucose dans la cellule (Bryant et al. 2002) (**FIGURE 8**). A noter que l'activation de la voie de signalisation de la PI3K n'est pas seulement impliquée dans la signalisation de l'insuline, mais aussi dans d'autres fonctions cellulaires telles que l'expression des gènes, la prolifération cellulaire et la différenciation. Néanmoins, l'insuline, via la PI3K, est la principale hormone à pouvoir agir sur le transport du glucose.

De plus, l'insuline inhibe la lipolyse des TG du tissu adipeux. En effet, l'insuline, via l'activation de la PI3K et la phosphorylation de la phosphodiesterase 3B (PDE3B), conduit à une baisse de l'activité de la PKA (Protéine Kinase A) et une inhibition de la phosphorylation de l'enzyme HSL. La résultante est une inhibition de la lipolyse (Morigny et al. 2016; Ward 2015). A l'opposé, une réponse efficace à l'insuline aura pour effet d'activer la voie de la lipogénèse via l'utilisation des substrats terminaux du catabolisme du glucose et la synthèse *de novo* d'acides gras. Ce double effet pro-lipogénique et anti-lipolytique de l'insuline conduit à une augmentation du stockage des lipides dans le tissu adipeux.

A l'inverse, à jeûn, lorsque l'insulinémie est basse, la lipolyse est en partie activée par les catécholamines (adrénaline et noradrénaline). Ces hormones activent les récepteurs β -adrénergiques au niveau des adipocytes, produisant de l'AMPc et permettant l'activation de la PKA. La PKA aura pour cible de phosphoryler l'enzyme HSL, la rendant ainsi active. Par ailleurs, la PKA phosphoryle la périlipine (PLIN1), ce qui l'active et libère un co-activateur de l'enzyme ATGL, activant cette enzyme critique de la lipolyse (Morigny et al. 2016) (**Figure 6**).

C. Les cellules souches adipocytaires et l'adipogénèse

L'expansion du tissu adipeux par augmentation du nombre d'adipocyte est possible grâce à la présence de cellules souches mésenchymateuses (CSM) au sein du tissu adipeux.

L'engagement des CSM du tissu adipeux, aussi appelées cellules souches adipocytaires (CSA), en adipoblastes, en pré-adipocytes puis en adipocytes matures représente l'adipogénèse (Gesta et al. 2007). Le facteur de transcription PPAR γ est un acteur central de l'adipogénèse. Deux familles de facteurs de transcriptions sont induites précocement lors du processus de différenciation, la famille des facteurs C/EBP et PPAR γ . PPAR γ est très peu exprimé dans les préadipocytes, mais son

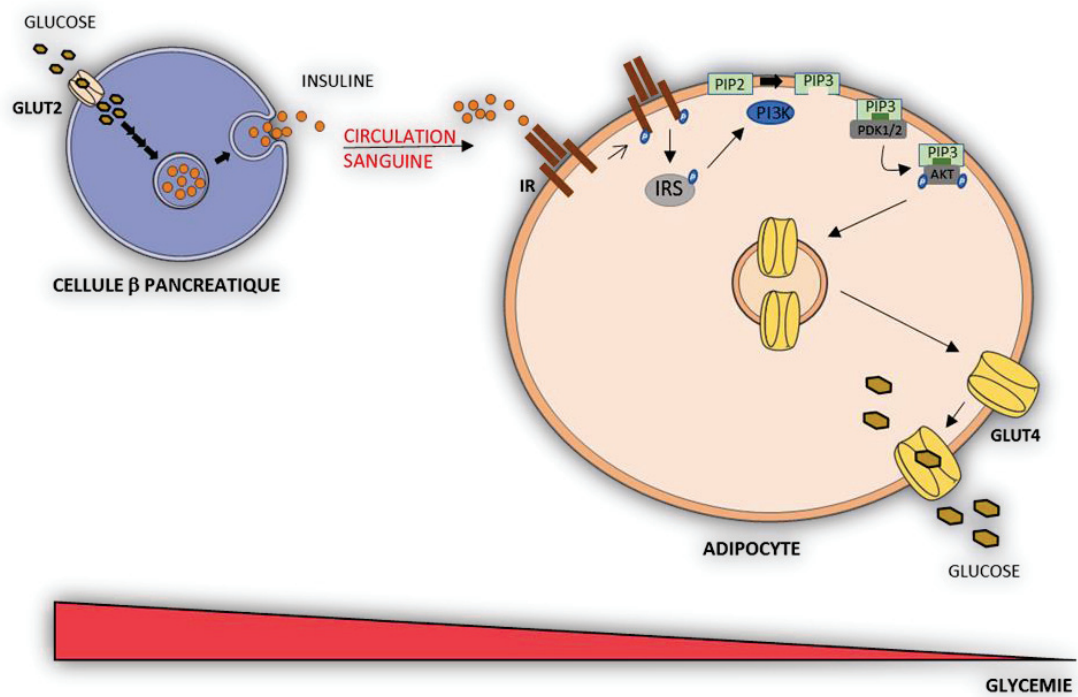


Figure 8: Réponse moléculaire à l'insuline chez le sujet sain.

expression ne fait qu'augmenter durant la différenciation pour atteindre un seuil maximal lorsque l'adipocyte devient mature. L'expression des facteurs C/EBP β et C/EBP δ activent PPAR γ dans les premières phases de la différenciation. La baisse de leur expression laisse place à l'activation de C/EBP α qui va maintenir l'activation de PPAR γ jusqu'au bout. Enfin, un système d'auto-régulation positive entre C/EBP α et PPAR γ est nécessaire à la différenciation terminale en adipocyte et à l'expression des gènes spécifiques des adipocytes matures comme FABP4, la leptine et l'adiponectine. La modification morphologique et sécrétoire des cellules, l'accumulation des lipides, l'expression des gènes adipocytaires ainsi que la réponse à l'insuline sont des témoins de la différenciation des CSA en adipocytes matures (Moseti et al. 2016).

Les CSA sont des régulateurs majeurs de l'inflammation. Leur fonction pourrait être altérée par l'obésité. Cet aspect est discuté dans le chapitre VI de ce manuscrit.

D. La fonction sécrétoire du tissu adipeux

Le tissu adipeux sécrète plus de 600 adipokines (Blüher 2013). Les adipokines sécrétées de façon autocrine, paracrine ou endocrine, peuvent agir soit localement sur le tissu adipeux lui-même soit à distance sur des tissus cibles dont le foie, le muscle, le pancréas mais aussi l'intestin. L'altération de la fonction sécrétoire du tissu adipeux en raison de l'obésité peut avoir un retentissement sur les organes métaboliques.

Le tissu adipeux a acquis le statut d'organe endocrine à part entière, depuis la découverte de la leptine. Cette hormone, principalement sécrétée par l'adipocyte, et agissant au niveau hypothalamique, est impliquée dans le contrôle de la prise alimentaire et de la prise de poids (Y. Zhang et al. 1994). L'adiponectine, une autre hormone sécrétée par le tissu adipeux, joue un rôle insulino-sensibilisant.

Cependant, 90 % des adipokines sécrétées par le tissu adipeux proviennent de la fraction stromale du tissu adipeux (SVF) (Fain et al. 2004). Parmi les cellules du SVF, les cellules immunitaires et les CSA, sécrètent la majeure partie des adipokines, dont des cytokines (TNF α , IL-6, IL-1 β , IFN γ , IL-8, IL-17, IL-22, IL-18), des chémokines (MCP-1, CCL-20), des facteurs angiogéniques (ex. VEGF α), des métalloprotéinases (MMP-2 et MMP-9), des hormones (stéroïdes et glucocorticoïdes), amplifiées par le tissu adipeux dans l'obésité (Frayn et al. 2003). **(Tableau 2)**

Des différences de niveau de sécrétion et de type d'adipokines ont été décrites dans les tissus adipeux humains sous-cutanés et viscéraux des sujets obèses avec une augmentation du VEGF- α ,

Adipokines	Fonctions	Produit par	Régulation dans l'obésité
Acides gras libres	Métabolisme lipidique	Adipocytes	Augmenté
FABP4	Métabolisme lipidique	Adipocytes	Augmenté
Adiponectine	Anti-inflammatoire; sensibilité à l'insuline	Adipocytes	Diminué
Leptine	régulation de la prise alimentaire, insulino-résistance, pro-inflammatoire; pro-angiogénique	Adipocytes	Augmenté
IL-10	Anti-inflammatoire; sensibilité à l'insuline	SVF	Augmenté
TNF α	Pro-inflammatoire; résistance à l'insuline	Adipocytes + SVF	Augmenté
IFN γ	Pro-inflammatoire; résistance à l'insuline	SVF	Augmenté
IL-1 β	Pro-inflammatoire; résistance à l'insuline	Adipocytes + SVF	Augmenté
IL-18	Pro-inflammatoire; résistance à l'insuline	SVF	Augmenté
IL-6	Pro-inflammatoire; résistance à l'insuline	Adipocytes + SVF	Augmenté
IL-17	Pro-inflammatoire; résistance à l'insuline	SVF	Augmenté
IL-22	Pro-inflammatoire; résistance à l'insuline	SVF	Augmenté
TGF- β	Pro-inflammatoire; résistance à l'insuline	SVF	Augmenté
MCP-1	chémokine pro-inflammatoire; attire les monocytes circulants	Adipocytes + SVF	Augmenté
IL-8	chémokine pro-inflammatoire; attire les neutrophiles circulants	Adipocytes + SVF	Augmenté
CRP	Inflammation	SVF	Augmenté
CCL20	chémokine pro-inflammatoire; attire les Th17 circulants	Adipocytes + SVF	Augmenté

Tableau 2: liste non exhaustive des adipokines sécrétées par le tissu adipeux.

Adapté à partir de Badimon et al. 2015

PMID: 26028258

PGE2, IL-6, TNF α , MCP-1 et CRP dans le TAV par rapport au TAsc (Fain et al. 2004; M. Mohsen Ibrahim 2010). L'obésité et le diabète de type 2 peuvent altérer l'homéostasie de cette fonction sécrétoire, entraînant des dysfonctionnements du métabolisme et une amplification de l'inflammation. Les cellules du système immunitaire présentes dans le SVF du tissu adipeux jouent un rôle majeur dans l'inflammation et l'insulino-résistance. La compréhension des mécanismes à l'origine de l'activation de ces cellules permettrait de proposer des outils réduisant l'incidence des maladies associées à l'obésité.

III. INFLAMMATION DU TISSU ADIPEUX

A l'état physiologique de non-obésité, l'expansion du tissu adipeux est accompagnée d'une adipogenèse appropriée par augmentation du nombre d'adipocytes (hyperplasie), une angiogenèse adéquate et un remodelage de la matrice extracellulaire (MEC). L'augmentation chronique de l'apport calorique conduisant à l'obésité est associée à une expansion pathologique du tissu adipeux impliquant deux mécanismes : i) un accroissement massif de la taille des adipocytes préexistants (hypertrophie) ; et ii) une augmentation de l'adipogenèse à partir de précurseurs générant de nouveaux adipocytes (hyperplasie) (Sun et al. 2011). Cleary et al. ont montré que les adipocytes se chargent en TG jusqu'à atteindre une taille limite, au-delà de laquelle, un signal sécrété par les adipocytes hypertrophiés, déclenche l'augmentation du nombre d'adipocytes dans le tissu adipeux (Cleary et al. 1979). L'analyse morphologique des adipocytes du tissu adipeux a révélé qu'en moyenne les adipocytes ont un diamètre de 90 μm chez les sujets minces ou en surpoids ($20 < \text{IMC} < 30 \text{ kg/m}^2$) et 100 à 120 μm chez les sujets obèses ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Le nombre de très petites cellules (20 à 40 μm) augmente aussi de 3 fois par rapport à celui du tissu adipeux des sujets minces ou en surpoids (Maumus et al. 2008).

La taille des adipocytes est corrélée au degré d'obésité (IMC croissant) chez l'Homme et la souris (Weisberg et al. 2003). L'accroissement rapide et massif du tissu adipeux restreint l'angiogenèse formant ainsi des zones faiblement oxygénées ou hypoxiques (Sun et al. 2011).

L'hypoxie provoque la nécrose des adipocytes. L'hypertrophie et la mort des adipocytes sont deux phénomènes interdépendants. La nécrose des adipocytes du tissu adipeux épidydimal (= viscéral) chez la souris est progressive au cours du temps en passant de 0,1 %, à 16 % puis 80 % entre la 1^{ère}, la 12^{ème} et la 16^{ème} semaines de régimes gras. A partir de 20 semaines, le nombre de cellules nécrosées est réduit à 16% et le pool d'adipocytes perdus est restauré par la production

d'adipocytes de petite taille (hyperplasie) (Strissel et al. 2007). Ce phénomène est nettement moins important dans le TAsc des souris.

A partir du moment où les adipocytes ne peuvent plus stocker efficacement les lipides (inhibition de la lipogenèse, mais également augmentation de la lipolyse) et que le tissu adipeux ne peut plus s'expandre efficacement en raison de la fibrose, les lipides vont s'accumuler dans d'autres tissus de l'organisme non adaptés au stockage des graisses. On parle alors de dépôt ectopique. L'accumulation des lipides en périphérie du tissu adipeux engendre une résistance à l'insuline au niveau du foie et du muscle, du pancréas et d'autres organes, et conduit à l'inhibition de la sécrétion d'insuline par le pancréas (=lipotoxicité) (K. Sun et al. 2011; Suganami et al. 2012; Olefsky et Glass 2010; Alligier et al. 2013).

Le déterminant majeur de la préservation de l'activité métabolique est la capacité du TAsc à stocker efficacement l'excès de lipides et empêcher le stockage ectopique dans des sites comme le foie, le muscle, le cœur ou le TAv (Castro et al. 2014). En effet, le stockage ectopique est à l'origine des complications du métabolisme associées à l'obésité (Smith et Kahn 2016). La capacité du TAsc à s'expandre dépend de la capacité des adipocytes du TAsc à s'hypertrophier et à former de nouveaux adipocytes (adipogenèse).

Une étude menée par notre équipe sur 44 hommes volontaires, à qui il leur a été demandé de consommer 70 g de lipides supplémentaires par jour (équivalent à 760 kcal/jour) sur 56 jours consécutifs, a révélé que la prise de poids chez le sujet sain est associée dans un premier temps (à 14 jours) à une augmentation de l'expression des gènes du métabolisme lipidique (en faveur d'une augmentation du stockage des lipides dans le TAsc), puis à une augmentation de l'expression des gènes de l'angiogenèse et du remodelage tissulaire, en plus de ceux associés au métabolisme lipidique (à 56 jours) (M. Alligier et al. 2012).

A. Défaut de stockage des lipides dans le tissu adipeux et insulino-résistance

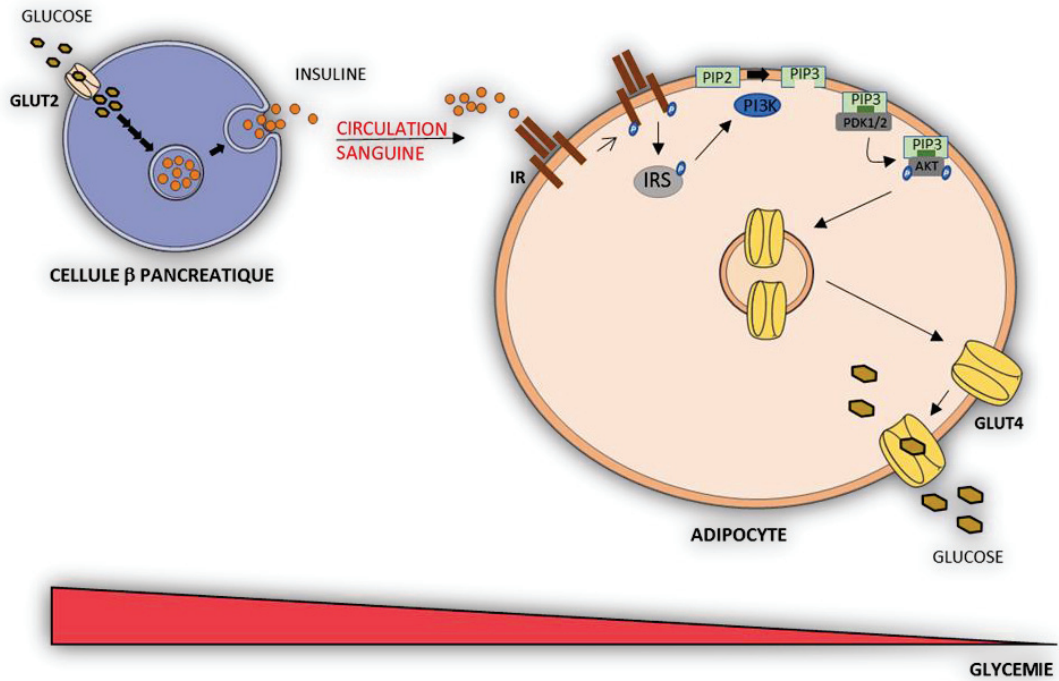
L'insulino-résistance est due à une baisse d'expression membranaire des récepteurs à l'insuline et à l'inhibition de la transduction du signal insuline. L'insulino-résistance du tissu adipeux est associée à au moins 3 composantes : l'hyperinsulinémie, l'hypertriglycéridémie et la sécrétion exacerbée de

cytokines inflammatoires. D'un point de vue mécanistique, l'hyperinsulinémie (liée à l'hyperglycémie chronique) a pour conséquence la baisse d'expression des IR par internalisation des récepteurs. De plus, la phosphorylation des protéines IRS sur les résidus sérine et thréonine et non pas tyrosine, empêche leur interaction avec les récepteurs à l'insuline et de ce fait inhibe l'activation de la PI3K. Ce qui a pour conséquence, une diminution du transport de GLUT4 vers la membrane, une diminution de l'internalisation du glucose et une levée de l'inhibition de la PKA, ce qui engendre une augmentation d'acides gras libres au sein du tissu adipeux (++) lipolyse). Les enzymes capables de phosphoryler les IRS en sérine/thréonine sont diverses, on trouve la kinase IKK β (inhibitor of nuclear factor kB kinase), la MAP kinase et la Jun kinase (JNK). Plusieurs signaux sont capables d'activer ces enzymes, tels que les acides gras libres, l'acyl-CoA (dérivé des acides gras et impliqué dans la β -oxydation des AG et dans la lipogenèse des TG) et les cytokines inflammatoires comme le TNF α , l'IL-1 β et l'IL-6 (Castro et al. 2014). **(FIGURE 9)**.

Le défaut de stockage des lipides dans le tissu adipeux (inhibition de la lipogenèse) et surtout la stimulation de la lipolyse sont associée à l'insulino-résistance. La taille des adipocytes est corrélée avec l'augmentation de la lipolyse basale (non induit par l'insuline), étroitement corrélée à l'insulino-résistance. D'ailleurs, des patients ayant subi une chirurgie bariatrique, suivi d'une perte de poids majeure sont ceux ayant une forte réduction de la lipolyse basale (Morigny et al. 2016). Il semble que la lipolyse basale soit un facteur initiateur de l'insulino-résistance. En effet, i) l'augmentation du relargage d'AG libres aggrave l'accumulation ectopique des AG et exacerbe l'insulino-résistance; ii) le glycérol libéré par la lipolyse peut participer à la néoglucogenèse hépatique et exacerber l'hyperglycémie ; iii) l'augmentation de la lipolyse impacte la sécrétion d'adipokine par le tissu adipeux et influence l'insulino-résistance ; iv) les AG saturés sont des ligands connus de certains récepteurs à médiation pro-inflammatoire comme TLR4, exprimé majoritairement au niveau des macrophages (Morigny et al. 2016). De plus, Ertunc et al. ont montré que la lipolyse favorise la sécrétion du facteur aP2/FABP4 par les adipocytes (Ertunc et al. 2015), qui est impliqué dans la néoglucogenèse hépatique et l'aggravation de l'insulino-résistance (Cao et al. 2013).

L'inhibition de l'adipogenèse favorise l'insulino-résistance, et à l'inverse le recrutement de cellules souches dans l'adipogenèse prévient des complications de l'obésité (Gustafson et al. 2015; Murdolo et al. 2013). Cette fonction sera discutée dans le chapitre VI.

A. SAIN INSULINO-SENSIBLE



B. OBÈSE INSULINO-RÉSISTANT

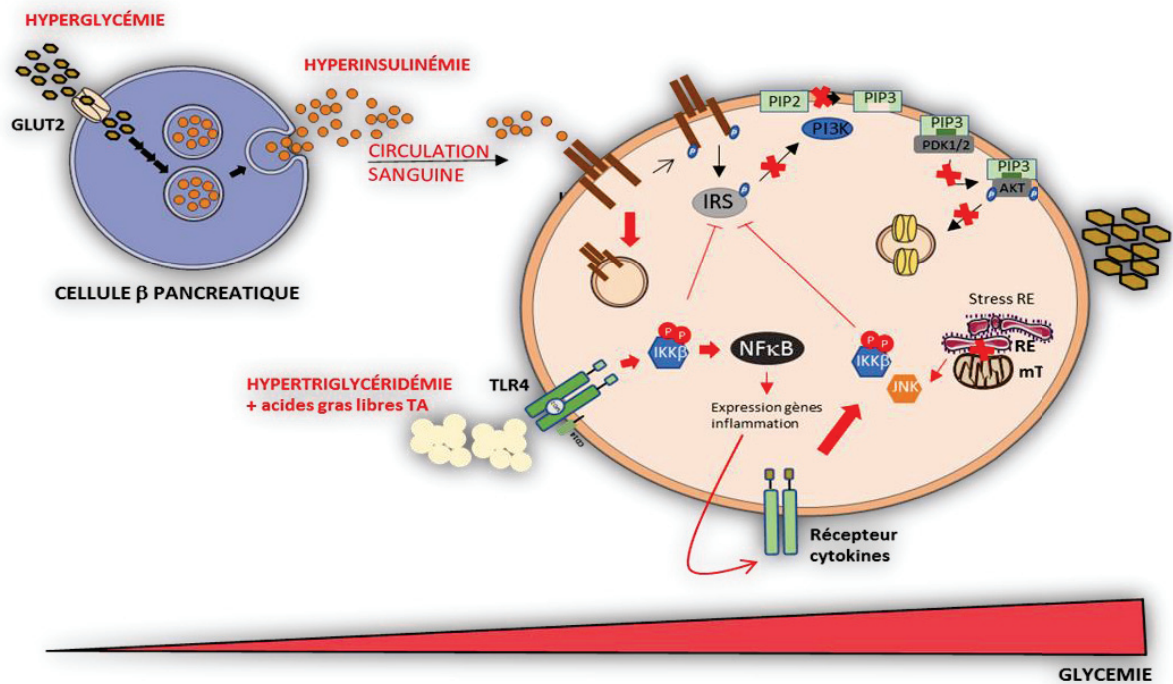


Figure 9: Réponse moléculaire à l'insuline chez le sujet sain (A) et insulino-résistance chez le sujet obèse (B).

B. Les voies inflammatoires conduisant à l'inflammation chronique

1. La voie TLR4/NFκB

Ligands et gènes cibles.

TLR4 est un récepteur de l'immunité innée principalement exprimé sur les cellules présentatrices de l'antigène (CPA) comme les macrophages ou les cellules dendritiques mais aussi sur les CSA et les adipocytes (Najar et al. 2017; Vaure et Liu 2014). La signalisation de TLR4 est identique à celle de l'IL-1R (récepteur à l'IL-1β). Ce récepteur a pour ligands des acides gras saturés et des endotoxines comme le LPS (composant majeur de la face externe des bactéries à Gram négatif). La reconnaissance de TLR4 avec son ligand induit une cascade de signalisation intracellulaire à l'origine de l'augmentation de l'expression des gènes inflammatoires et d'auto-défense. Les cytokines (IL-1β, IL-6, TNF-α) ou chémokines pro-inflammatoires (IL-8), les peptides anti-microbiens, les molécules de co-stimulation (CD80/CD86), les molécules d'adhésion cellulaire (ICAM-1, VCAM-1), les molécules du CMH et d'autres, font partie des gènes cibles activés par la voie TLR4 (Janeway et Medzhitov 2002).

Voie de signalisation.

L'activation de ce récepteur est particulièrement associée à un état inflammatoire. La stimulation, par un des ligands de TLR4, déclenche le recrutement de l'adaptateur MyD88, suivi par les protéines IRAK et TRAF6 (Medzhitov et al. 1998). TRAF6 va entraîner la phosphorylation du complexe TAK1 /TAB1 qui va à son tour phosphoryler la sous-unité β du complexe IKK (IKKβ). IKK, ou IκB kinase, est constitué de 3 sous-unités, 2 d'entre-elles ont des fonctions catalytiques (IKKα et IKKβ) et la 3^{ème} a une fonction régulatrice (IKKγ ou NEMO). En condition non-stimulante ou non-inflammatoire, NFκB est composé du complexe p50/p65 séquestré par une protéine inhibitrice IκBα. Une fois activée, IKK phosphoryle la sous-unité IκBα, ce qui entraîne son ubiquitination et sa dégradation par le protéasome (Hayden et Ghosh 2012). Une fois libéré, NFκB actif va être transloqué dans le noyau, exercer son rôle de facteur de transcription, et induire les gènes cibles sous son contrôle (**Figure 10**).

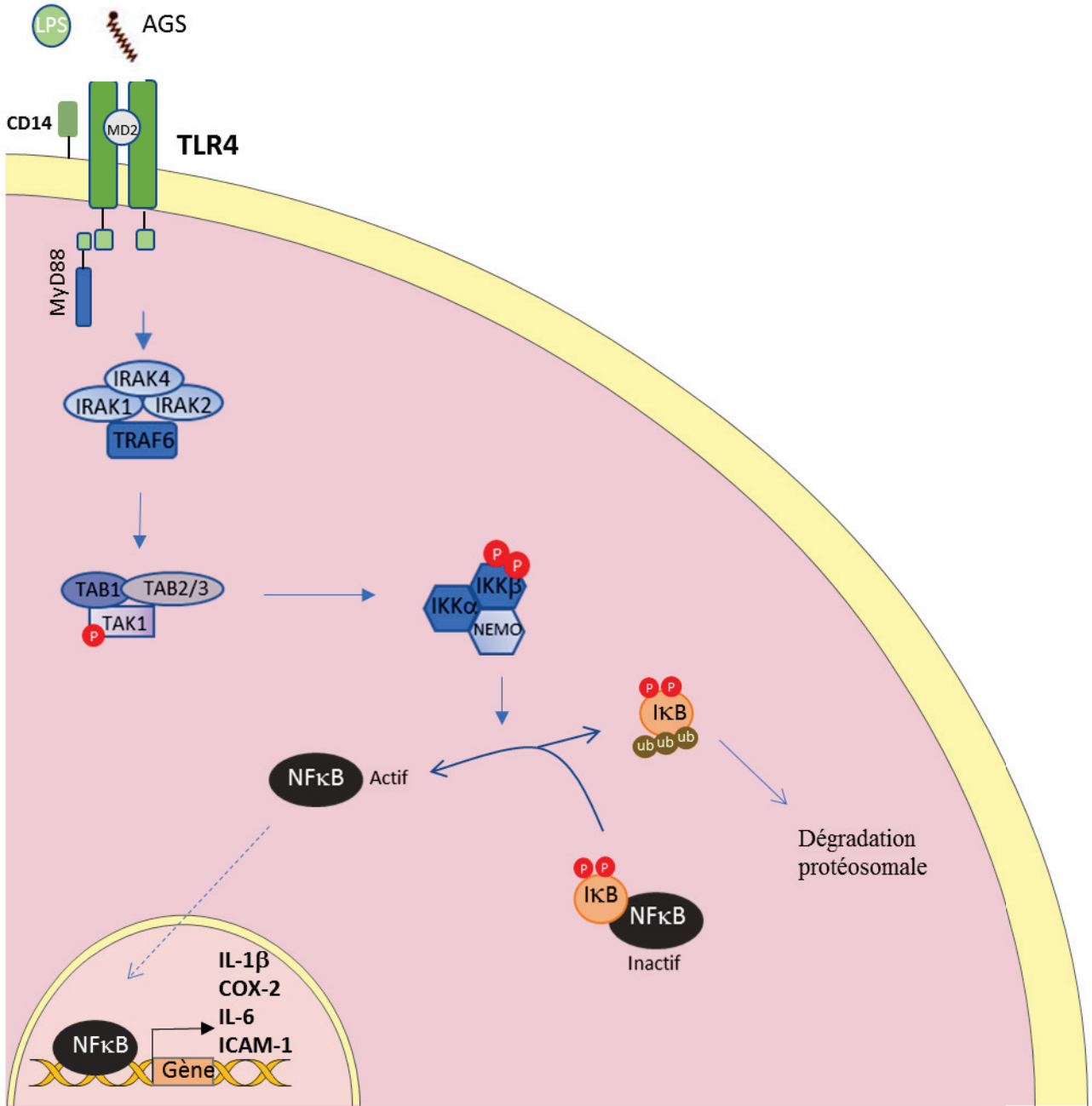


Figure 10: Schéma simplifié de l'activation de NFκB suite à l'activation de TLR4

Cani et al. ont mis en évidence le rôle majeur de l'endotoxémie métabolique dans l'initiation de l'obésité et du syndrome métabolique. En effet, ils ont observé une augmentation chronique de la concentration de LPS plasmatique chez des souris nourries avec un régime riche en gras pendant 4 semaines consécutives. Pour valider leur hypothèse, ils ont injecté en sous-cutané, et pendant 4 semaines, du LPS et ont observé un phénotype similaire à des souris nourries avec un régime riche en gras pendant la même période (Cani et al. 2007). Ces données montrent bien le rôle majeur de la voie TLR4 dans l'induction de l'inflammation associée à l'obésité.

L'obésité est caractérisée par de fortes concentrations d'acides gras saturés libres (relargués par la lipolyse). Les acides gras saturés peuvent agir au niveau de TLR4, activer la voie NFκB et induire l'inflammation.

La pré-IL-1β induite par la voie de signalisation de TLR4, requiert une étape de maturation et son clivage en IL-1β. Cette étape nécessite l'activation de la voie de l'inflammasome, fortement impliquée dans l'obésité.

2. L'inflammasome

L'inflammasome est un complexe multiprotéique cytosolique dont l'activation est nécessaire à la maturation et à la sécrétion de certaines cytokines inflammatoires comme l'IL-1β et l'IL-18, 2 cytokines amplifiées dans l'obésité (Rheinheimer et al. 2017).

Il existe 4 types d'inflammasomes, NLRP1, NLRP3, NLRC4 et AIM2. NLRP3 est celui le mieux caractérisé. Au niveau mécanistique, l'activation de NLRP3 conduit au recrutement de l'adaptateur ASC et de la procaspase-1, formant ainsi un inflammasome actif. La caspase-1, alors libérée, accomplit son rôle de clivage de la pro-IL-1β ou pro-IL-18, formes immatures de ces cytokines, en IL-1β et IL-18 respectivement (Sun et al. 2012). L'activation de la caspase 1 est indispensable à la sécrétion de ces cytokines sous une forme biologiquement active. NLRP3 peut être activé par divers signaux de dangers non seulement en réponse à un pathogène mais aussi à un dysfonctionnement du métabolisme comme dans l'obésité.

L'activation de l'inflammasome n'entraîne pas seulement la sécrétion de cytokine inflammatoire mais aussi provoque la production de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) (Tschopp et Schroder 2010), qui jouent un rôle prépondérant dans l'exacerbation de l'inflammation et notamment dans l'obésité. La **figure 11** résume le mécanisme d'activation de la voie de l'inflammasome dans les CPA.

L'obésité augmente les niveaux d'expression de NLRP3 et de la caspase-1, ainsi que l'activité de la caspase-1 dans le tissu adipeux de différents modèles d'obésité chez la souris (Stienstra et al. 2010, 2011; Vandanmagsar et al. 2011), alors qu'une restriction calorique, réduit les niveaux d'expression des transcrits de NLRP3, ASC et d'IL-1 β (Vandanmagsar et al. 2011). De plus, les souris totalement déficientes en caspase-1, NLRP3 ou ASC ne développent pas d'obésité ni d'insulino-résistance même en condition de régime gras. De façon intéressante, NLRP3, l'adpatateur ASC et la caspase-1 sont aussi bien exprimée dans les macrophages que dans les adipocytes (Koenen et al. 2011; Stienstra et al. 2011; Vandanmagsar et al. 2011; Wen et al. 2011). Ces données montrent l'importance de l'activation de la voie de l'inflammasome dans le tissu adipeux.

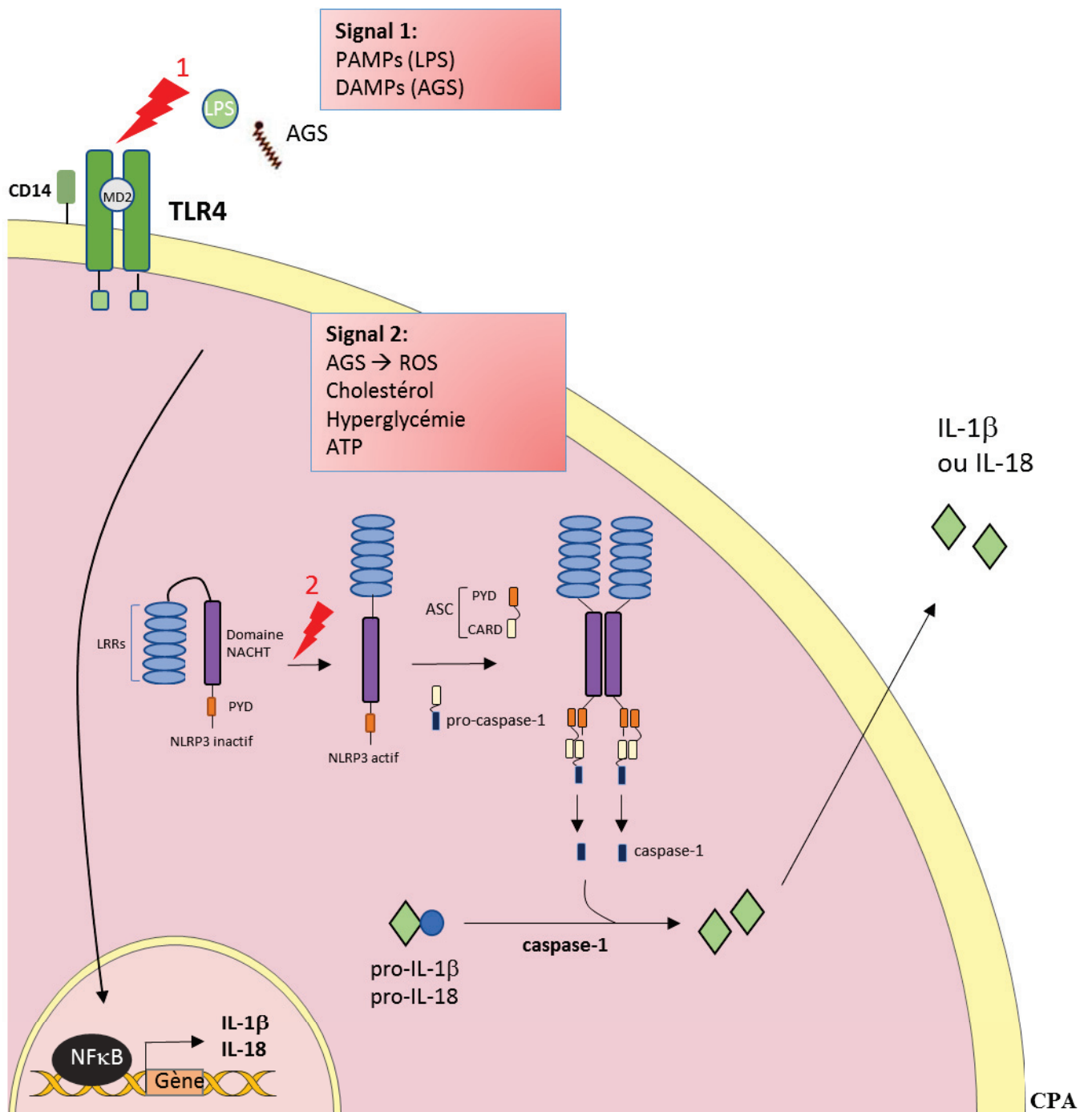


Figure 11: Schéma simplifié de la voie de l'inflammasome

IV. LES CELLULES IMMUNITAIRES INFILTRANT LE TISSU ADIPEUX

La diversité des cellules immunitaires constituant le SVF du tissu adipeux joue un rôle prépondérant dans la pathologie inflammatoire de l'obésité et le syndrome métabolique. Il a été montré que le tissu adipeux des sujets sains non-obèses ou des animaux nourris avec un régime standard est composé de cellules immunitaires anti-inflammatoires favorisant la sensibilité à l'insuline, à l'inverse du tissu adipeux issu de sujet obèse, qui contient relativement plus de cellules immunitaires inflammatoires et cytotoxiques, néfastes pour le métabolisme du tissu adipeux et des autres tissus métaboliques (Huh et al. 2014). Il a été rapporté que le tissu adipeux sain est constitué de i) **macrophages de type M2** sécrétant diverses cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10, l'IL-4 et le TGF- β ; ii) **éosinophiles** responsables de la sécrétion d'environ 90 % d'IL-4 du le tissu adipeux; iii) de **lymphocytes de type Th2** sécrétant aussi l'IL-10, l'IL-4 et l'IL-13 ; et iv) des **lymphocytes T régulateurs** indispensable à l'homéostasie du tissu adipeux. Ces cellules jouent un rôle majeur dans la régulation du métabolisme et l'insulino-sensibilité du tissu adipeux. Les éosinophiles, les Th2 ainsi que les Treg polarisent les monocytes en macrophages de type M2 via la sécrétion des cytokines citées plus haut. Le tissu adipeux sain contient très peu de cellules immunitaires à médiation inflammatoire, ou sinon dans un état immature (ex. cellules dendritiques).

A l'inverse, l'obésité altère l'homéostasie du tissu adipeux en altérant le phénotype inflammatoire des cellules immunitaires. En effet, une réduction du nombre de lymphocytes T régulateurs, de Th2, d'éosinophiles et de macrophages M2 a été rapportée au cours de l'obésité. Cette diminution est accompagnée d'une augmentation de l'infiltration de cellules inflammatoires qui vont avoir un rôle majeur dans l'initiation d'un phénotype inflammatoire et le développement de l'insulino-résistance. Les macrophages M2 sont « remplacés » par des **macrophages de type M1**, sécrétant du TNF α , de l'IL-1 β , de l'IL-6, de l'IL-12 et de l'IL-23 ; les **neutrophiles** sont augmentés très précocement dans le tissu adipeux obèse (3 jours chez la souris soumise à un régime riche en gras) et sont impliqués dans l'initiation du processus inflammatoire ; les **mastocytes** (jouent un rôle critique dans l'allergie) sont augmentés dans le tissu adipeux obèse et relarguent des granules contenant des cytokines et des éicosanoïdes inflammatoires. De plus, les **lymphocytes B** sont amplifiés dans l'obésité et leur rôle semble être important dans l'induction des macrophages de type M1 et des lymphocytes T CD8⁺ (Huh et al. 2014).

D'autres cellules comme les **cellules dendritiques matures**, les **lymphocyte T CD8⁺**, les **lymphocytes T CD4⁺** dont les **Th1** et les **Th17**, sont amplifiés dans l'obésité et jouent un rôle dans l'inflammation du tissu adipeux et l'insulino-résistance. Le rôle de ces cellules dans l'inflammation du tissu adipeux sera détaillé dans la suite de ce chapitre (**Figure 12**).

A. Acteurs de l'immunité innée impliqués dans l'insulino-résistance du tissu adipeux

1. Les macrophages

Les macrophages sont des cellules du SI inné principalement impliquées dans les mécanismes de défense immunitaire à travers la phagocytose de pathogènes. Ils participent également à la clairance des débris cellulaires, à l'homéostasie et à la réparation cellulaire. Les macrophages sont impliqués dans le remodelage tissulaire en sécrétant des métalloprotéinases modifiant l'organisation de la matrice extracellulaire. Les macrophages tissulaires peuvent provenir de monocytes sanguins, ayant migré dans les tissus sous l'influence de divers signaux tels que des cellules endommagées, une infection, ou des cytokines inflammatoires.

Le rôle des macrophages dans l'inflammation chronique passe par leur capacité à sécréter des cytokines et chémokines inflammatoires, induisant le recrutement d'autres cellules immunitaires dans le site infecté et l'amplification de l'inflammation. De plus, à travers leurs profils de sécrétion cytokinique, les macrophages (tout comme les cellules dendritiques) polarisent et activent d'autres cellules immunitaires comme les lymphocytes T qui appartiennent au SI adaptatif. Il est important de préciser que les macrophages sont des cellules présentatrices de l'antigène (CPA). Les CPA apprêtent l'antigène sous forme de peptide pour le présenter en association au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I ou II au TCR des lymphocytes T ce qui entraîne le développement d'une réponse adaptative spécifique de l'antigène. Par conséquent, les macrophages jouent un rôle central dans l'initiation et le maintien de l'inflammation (Lee et Lee 2014).

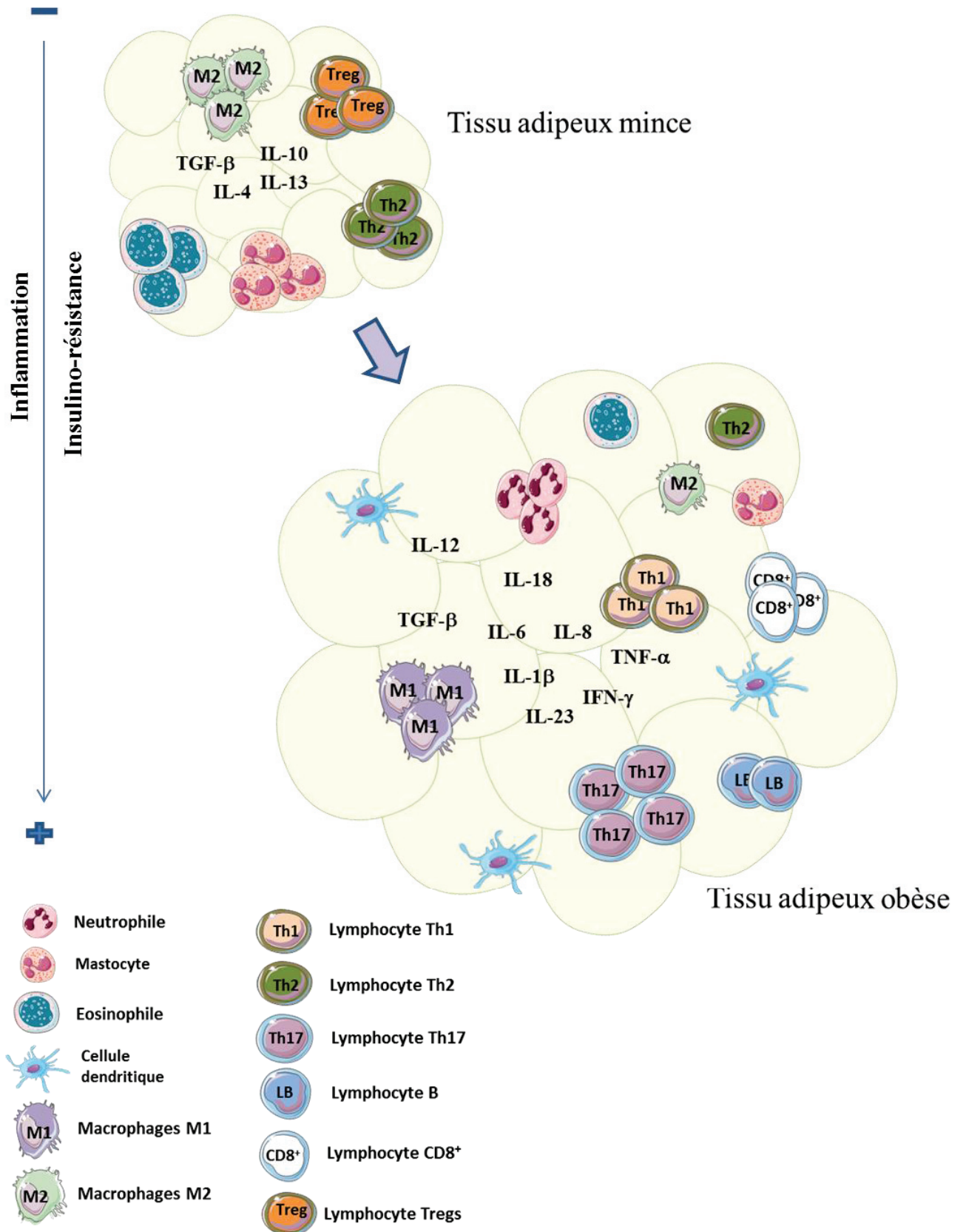


Figure 12: Les cellules immunitaires du tissu adipeux, mince vs. obèse

Ces cellules font partie des cellules les plus plastiques de l'organisme. En effet, en réponse à divers stimuli présents dans l'environnement, les macrophages peuvent adopter au moins deux profils totalement opposés. Les macrophages de type M1 « classiquement activés » par le LPS et l'IFN γ (*in vitro*), ont un profil de sécrétion pro-inflammatoire alors que les macrophages de type M2 « alternativement activés » par l'IL-4, l'IL-13 ou l'IL-10, ont un profil de sécrétion anti-inflammatoire.

En condition physiologique, le tissu adipeux contient des macrophages de type M2 résidents ayant des propriétés régulatrices. A l'opposé, à l'état obèse, le tissu adipeux est massivement infiltré par des macrophages de type M1. Les 2 sous-populations de macrophages peuvent coexister dans le tissu adipeux (Bourlier et al. 2008), mais c'est le déséquilibre de la balance M1/M2 en faveur des M1 qui caractérise l'inflammation médiée par l'obésité.

a) Les macrophages M2 régulateurs du tissu adipeux

Weisberg et al. ont postulé que le tissu adipeux d'individus ou d'animaux minces, contient moins de 10 % de macrophages résidents. Ces macrophages de type M2 sont localisés dans les espaces interstitiels entre les adipocytes (Lumeng et al. 2008). L'obésité ne semble ni altérer le nombre ni l'emplacement des M2 au sein du tissu adipeux mais stimule le recrutement de M1 entraînant un déséquilibre de la balance M1/M2 et un accroissement de l'inflammation du tissu adipeux (Lumeng et al. 2008). Néanmoins, Haase Julia a montré, dans un article paru dans *Diabetologia*, et sur 3 différents modèles d'obésité chez la souris et chez des patients obèses, que l'obésité amplifie la prolifération des macrophages de type M2 localement (environ 10 %). Ce phénomène est spécifique à l'obésité. Après la mitose, les M2 rejoignent les espaces interstitiels (Haase et al. 2014). Enfin, plusieurs études ont montré que les 2 populations de macrophages, M1 et M2, sont présentes dans le tissu adipeux de sujets ou de souris obèses (Bourlier et al. 2008; Shaul et al. 2010; Zeyda et al. 2007).

Les M2 sécrètent des cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10, le TGF- β , l'IL-4, l'IL-13 aussi impliquées dans l'induction des lymphocytes T régulateurs (Treg) (Ouchi et al. 2011; Murray et Wynn 2011). En inhibant l'inflammation, et en améliorant la réparation tissulaire et l'angiogenèse, les M2 ont un rôle central dans la régulation positive de l'insulino-sensibilité des tissus ou organes jouant un rôle dans le métabolisme, comme le tissu adipeux (Odegaard et al. 2007). Ainsi, l'IL-10 sécrétée par les M2 augmente la sécrétion d'adiponectine, une hormone insulino-sensibilisante.

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) sont des facteurs de transcription (FT) qui sont négativement corrélés avec l'inflammation en condition d'obésité (Y. Wang et al. 2005). PPAR γ et PPAR δ sont essentiels à la différenciation adipocytaire mais aussi à la polarisation des M2 ; la déplétion de ces deux FT spécifiquement dans les macrophages, amplifie l'insulino-résistance (Odegaard et al. 2007; K. Kang et al. 2008)

De façon intéressante, les macrophages CD14⁺ du tissu adipeux des sujets minces ou en surpoids n'expriment ni CCR2 ni CD62L, 2 molécules clairement impliquées dans la migration des monocytes inflammatoires, ce qui les rend moins susceptibles à l'inflammation à l'inverse des M1 du tissu adipeux des sujets obèses (Bourlier et al. 2008). Cependant, les auteurs ont montré une corrélation entre le nombre de M2 du tissu adipeux et l'IMC. Ce résultat pourrait s'expliquer par l'augmentation de l'hyperplasie des pré-adipocytes au cours de l'obésité (Bourlier et al. 2008). En effet, l'hyperplasie a été associée à une augmentation du nombre de M2 anti-inflammatoire à l'inverse de l'hypertrophie (Strissel et al. 2007). Ces données permettent aussi d'expliquer pourquoi dans le tissu adipeux des sujets minces où l'hyperplasie est dominante, la balance M1/M2 est diminuée.

b) Les macrophages M1 inflammatoires du tissu adipeux

Le nombre de macrophages et leur état d'activation dans le tissu adipeux, témoignent de « la santé » du tissu adipeux et des adipocytes (Wynn et al. 2013) mais aussi de celle des autres tissus périphériques (Cancello et al. 2006; Lê et al. 2011; Kanda et al. 2006). La taille des adipocytes et l'IMC sont corrélés avec le nombre de macrophage M1 chez l'Homme et la souris (Weisberg et al. 2003; Curat et al. 2004; Curat et al. 2006; Cancello et al. 2006). Les études chez la souris ont montré que 6 semaines de régime riche en gras suffisent à observer un début d'infiltration de macrophages au sein du tissu adipeux (Huh et al. 2014). Le nombre de macrophages infiltrant le tissu adipeux peut représenter plus de 50% des macrophages chez des souris déficientes en leptine (ob/ob) - ayant un phénotype extrêmement obèse - et environ 40% chez l'Homme obèse (Weisberg et al. 2003). Plusieurs autres études réalisées chez l'Homme ou l'animal ont confirmé l'augmentation des M1 dans le SVF ou le tissu adipeux en condition d'obésité (Tchoukalova, Koutsari, et Jensen 2007a; Osborn et Olefsky 2012; Jongsoon Lee 2013). De plus, l'expression des gènes spécifiques aux macrophages (MCP-1, CD68, F4/80) sont très amplifiés dans le tissu adipeux des souris génétiquement obèses (ob/ob) ou soumises à un régime riche en gras (H. Xu et al. 2003). 20 semaines de régimes riches en gras entraînent l'augmentation de l'expression des marqueurs

inflammatoires macrophagiques tels que le TNF α et l'enzyme oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) (Lumeng et al. 2007).

Phénomènes physiologiques associés à l'amplification des MI dans le tissu adipeux.

L'expansion massive du tissu adipeux **par hypertrophie des adipocytes** n'est pas associée à une oxygénation adéquate, ce qui conduit à **l'hypoxie** et à une **nécrose progressive des adipocytes**.

L'hypoxie. L'expansion massive du tissu adipeux non associée à une oxygénation adéquate conduit à l'hypoxie (Trayhurn 2013). Ce phénomène est observé précocement. L'hypoxie, à travers l'expression du facteur de transcription HIF-1 α , amplifie l'expression d'adipokines associées à l'inflammation comme MMP2 et MMP9, impliqués dans le remodelage tissulaire et l'accroissement du TA, l'IL-6 et la leptine pro-inflammatoire et réduit l'adiponectine insulino-sensibilisante et anti-inflammatoire (Hosogai et al. 2007; J. Ye et al. 2007). En plus d'induire le recrutement de macrophages, l'hypoxie stimule le recrutement de lymphocytes T cytotoxiques CD8⁺ dans le tissu adipeux de souris génétiquement obèses ou soumises à un régime hyper-gras (Rausch et al. 2008)

La nécrose des adipocytes hypertrophiés. Les macrophages sont des phagocytes professionnels, et sont capables d'ingérer et de détruire les adipocytes nécrosés ainsi que les acides gras libérés par la mort des adipocytes. Plusieurs travaux ont lié la nécrose des adipocytes à l'infiltration du tissu adipeux par des macrophages inflammatoires. De plus, Cinti et Al. ont démontré que 90% des macrophages infiltrant le tissu adipeux sont co-localisés au niveau des adipocytes morts, aussi bien chez l'Homme ou la souris obèses (Cinti et al. 2005). L'observation au microscope d'une coupe de tissu adipeux obèse révèle la formation de structure particulière appelée « Crown-like structure » (ou CLS) correspondant à l'agrégation des macrophages aux adipocytes. Les CLS sont des marqueurs histologiques de l'inflammation et de l'insulino-résistance (Lumeng et al. 2007). Les adipocytes du TAsc des souris soumises à un régime riche en gras sont plus résistantes à la mort cellulaire que les adipocytes du TAv. Ces observations coïncident avec le nombre de macrophages inflammatoires infiltrant le TAv (Strissel et al. 2007). Néanmoins, il a récemment été montré que la phagocytose des TG libres par les macrophages n'engendre pas de mécanisme inflammatoire, mais juste un système de clairance des AG du tissu adipeux (Caspar-Bauguil et al. 2009).

Les adipocytes morts peuvent exposer des épitopes antigéniques aux CPA dont les macrophages et les CD, ce qui stimule l'expansion et le développement de lymphocytes T CD4⁺ spécifiques de

l'antigène. D'ailleurs les molécules du CMH-II et de co-stimulation des lymphocytes T sont amplifiés dans les macrophages issus du TAV, chez des souris soumises à un régime riche en gras (Morris et al. 2013).

Chémotaxie. L'augmentation du nombre de macrophages dans le tissu adipeux a été attribué au recrutement de monocytes à partir de la circulation sanguine (Osborn et Olefsky 2012). Le phénomène de chémotaxie peut rendre compte du recrutement des M1 dans le tissu adipeux. C'est le phénomène par lequel un tissu ou des cellules sécrètent des molécules appelées chémokines, et attire des cellules exprimant le récepteur à ces chémokines. C'est le cas dans l'obésité, où les adipocytes hypertrophiés sécrètent MCP-1 et attire des cellules immunitaires dont les monocytes exprimant CCR2, récepteur de MCP-1, au sein du tissu adipeux ce qui amplifie l'inflammation. Les monocytes infiltrants, devenus macrophages sécrètent MCP-1 et attirent d'autres macrophages dans le tissu adipeux, créant ainsi une boucle d'auto-amplification de l'inflammation (Kanda et al. 2006; Kamei et al. 2006). Plusieurs travaux d'inhibition ou de surexpression de la fonction de migration des macrophages ont confirmé le rôle de ces cellules dans l'inflammation et l'insulino-résistance. En effet, des macrophages issus du tissu adipeux de souris KO pour CCR2, et soumis à un régime riche en gras, expriment des marqueurs de type M2 à des niveaux comparables aux souris minces (Lumeng et al. 2007) et sont donc incapables de propager l'inflammation. Alors que la surexpression de MCP-1 dans le tissu adipeux, amplifie le recrutement des macrophages et aggrave l'insulino-résistance (Kanda et al. 2006; Kamei et al. 2006).

Une greffe de moelle osseuse (MO) exprimant un marqueur particulier (CD45.1) chez une souris dont la MO a été détruite par irradiation et exprimant un marqueur leucocytaire CD45.2, a permis de montrer que les macrophages présents dans le tissu adipeux des souris obèses proviennent, en majorité (85 %) de la moelle osseuse contre 14% de macrophages inflammatoires issus du tissu adipeux lui-même (Weisberg et al. 2003). Un peu plus tard, Lumeng a montré que les macrophages M1 du tissu adipeux des souris obèses proviennent quasi-exclusivement de la circulation sanguine (Lumeng et al. 2008). Curat a d'ailleurs montré une augmentation de la diapédèse des monocytes à partir des vaisseaux sanguins vers le tissu adipeux, à travers la sécrétion de leptine par les adipocytes matures (Curat et al. 2004). Mécanisme confirmé par Nishimura qui a montré, grâce à l'imagerie en temps réel, une amplification de la transmigration des monocytes vers le tissu adipeux des souris ob/ob (Nishimura et al. 2008).

Cytokines et chémokines sécrétées. Le tissu adipeux des souris ob/ob exprime fortement le TNF α . Weisberg a montré, après fractionnement des cellules du tissu adipeux, que la plupart du TNF α sécrété par le tissu adipeux, et associé à l'insulino-résistance, provient de la fraction macrophagique F4/80⁺ (Weisberg et al. 2003). Les M1 sont activés par des stimuli classiques comme le GM-CSF, l'IFN γ et les ligands des Toll-like receptors (TLRs). Les macrophages activés sécrètent des cytokines pro-inflammatoires, dont le TNF- α , l'IL-6, l'IL-1 β , l'IL-12 et l'IL-23 (pro-Th1 et Th17). Les M1 sécrètent aussi des chémokines nécessaires au recrutement d'autres cellules du SI, dont l'IL-8, MCP-1, Rantes, MIP-1 α , MIP-1 β et CCL20. L'adipogenèse est inhibée en présence d'un tel milieu conditionné inflammatoire. De plus, les cellules différenciées exposées à ce milieu inflammatoire inhibent l'expression protéique de GLUT4 (transporteur au glucose) et du récepteur à l'insuline (Lumeng et al. 2008).

L'ensemble de ces phénomènes conduit à l'inflammation chronique du tissu adipeux et l'induction d'un état d'insulino-résistance.

Effets de l'infiltration macrophagique sur le métabolisme et l'insulino-résistance.

Différents travaux ont montré que les macrophages infiltrant le tissu adipeux en condition d'obésité précèdent l'insulino-résistance (Hotamisligil et al. 1993; Weisberg et al. 2003)

Les adipocytes en état de nécrose perdent l'intégrité de leurs membranes plasmiques, résultant en la libération du contenu cytoplasmique vers le milieu extracellulaire. Ainsi, les acides gras saturés, en abondance dans les adipocytes obèses, activent la voie TLR4/NF κ B et activent un senseur intracellulaire, le *Macrophage-inducible C-type lectin* ou Mincle, dans les macrophages (Ichioka et al. 2011). L'activation de Mincle a été associée au phénomène de fibrose du tissu adipeux. Le tissu adipeux perd son élasticité et ne peut plus s'expandre, entraînant ainsi l'accumulation ectopique des AG dans d'autres tissus tels que le foie, le muscle et le pancréas, altérant leur fonctionnement (Tanaka et al. 2014). Cette voie n'est pas déclenchée par les macrophages résidents (M2) du tissu adipeux non-obèse.

Le microenvironnement joue un rôle essentiel dans la polarisation des macrophages. Les effets bénéfiques de l'exercice physique sur l'obésité et l'insulino-résistance passent par la réversion des M1 pro-inflammatoires vers un phénotype M2 anti-inflammatoire.

Ce phénomène ne semble pas être irréversible puisque la perte de poids massive (ex-obèses) entraîne une réduction du pool de M1 à des niveaux comparables aux sujets sains. (Silva et al. 2015; Goh et al. 2016). De plus, le traitement de souris insulino-résistantes par la rosiglitazone, un médicament insulino-sensibilisateur, réduit significativement l'expression de gènes spécifiques aux macrophages et à l'inflammation (H. Xu et al. 2003).

2. Les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques (CD) sont des CPA professionnelles, et ont été identifiées comme des intermédiaires entre l'immunité innée et l'immunité adaptative. Ces cellules, selon leurs degrés de maturation, expriment à plus ou moins forte concentration des molécules de co-stimulation (CD80, CD86, CD40), des molécules du CMH-I et -II, des molécules d'adhésion (ICAM-1, LFA-3), des récepteurs aux chémokines, permettant leur migration et l'établissement d'une interaction stable avec les cellules. Elles sécrètent des cytokines nécessaires à l'activation du système immunitaire adaptatif, dont les lymphocytes T (LT), et au développement d'une réponse immunitaire efficace et spécifique à l'antigène présenté. La **figure 13** illustre l'interaction entre une CPA (CD ou macrophage) et un lymphocyte T naïf.

Les CD sont présents dans tous les tissus de l'organisme mais sont particulièrement concentrées au niveau des barrières épithéliales sous une forme immature ou tolérogène dans lesquelles elles exercent une fonction régulatrice de l'inflammation. Les CD migrent vers les ganglions lymphatiques, lieu où elles présentent l'antigène capté aux LT. En effet, cette captation d'antigène active leur migration vers les ganglions lymphatiques et activent leur maturation avec une augmentation d'expression des molécules de co-stimulation et du CMH. Cela induit une meilleure présentation de l'antigène aux LT et active la réponse immunitaire adaptative spécifique (Sundara Rajan et Longhi 2016) (**Figure 14**).

Quelques études ont mis en évidence l'augmentation du nombre de CD dans le tissu adipeux et dans le foie en cas d'obésité. *FMS-like tyrosine kinase 3 ligand* (FLT3L) est un facteur de croissance nécessaire au développement des CD. Des souris *flt3l*^{-/-} sont déficientes en CD et sont protégées contre l'inflammation et l'insulino-résistance induites par un régime riche en gras. De

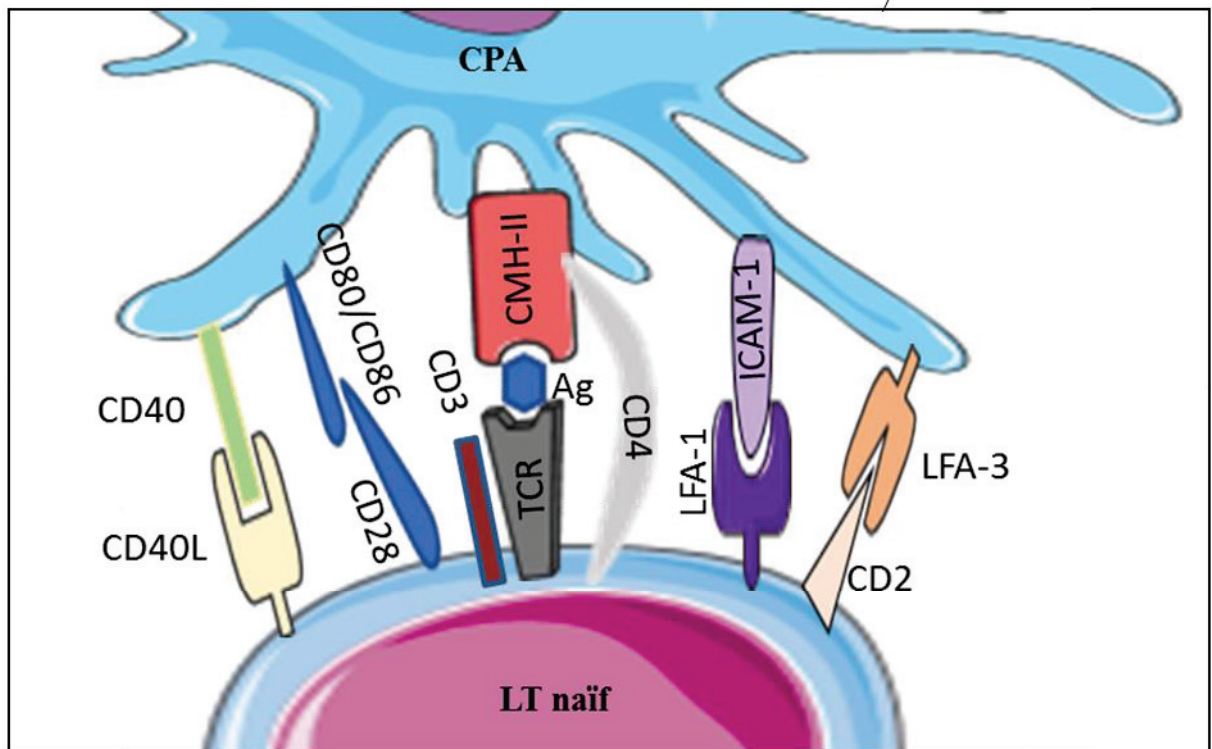
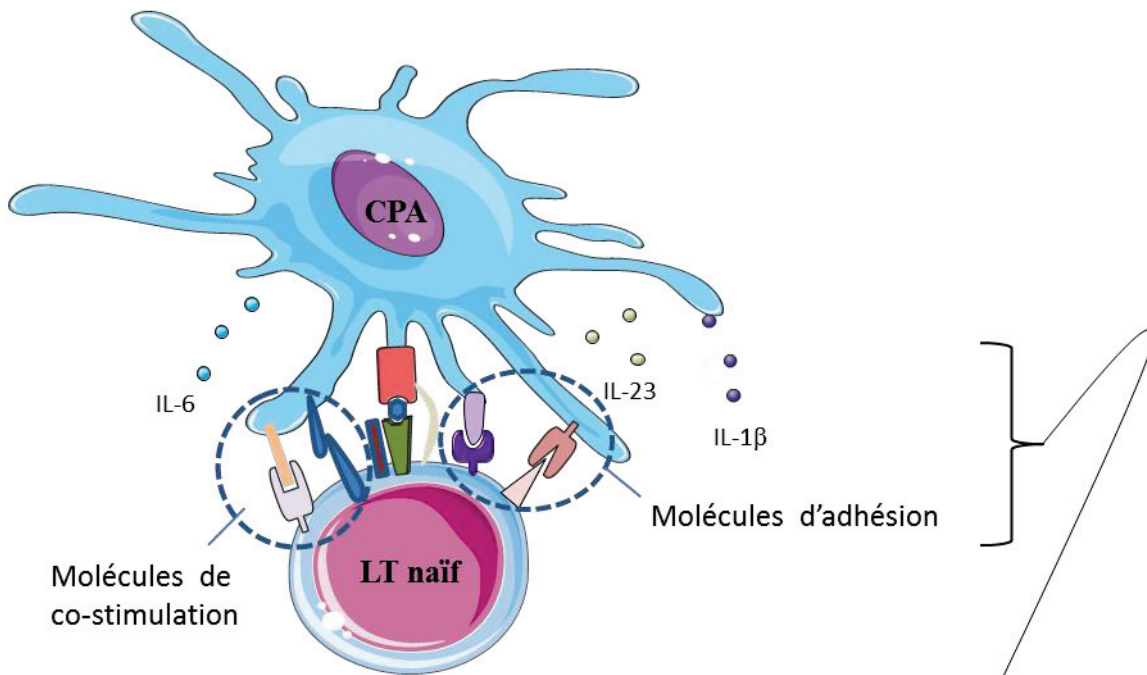


Figure 13. Représentation schématique des molécules d'adhésion et de co-stimulation nécessaires au développement d'une réponse adaptative spécifique.

plus, ces souris présentent une réduction du nombre de macrophages au sein du tissu adipeux et du foie (Stefanovic-Racic et al. 2012). Une autre étude menée par Bertola et al. a montré la présence d'un type particulier de CD dans le tissu adipeux de l'Homme ou la souris obèse, qu'il a appelé « inflammatory DC », capable de présenter un antigène aux Th17 et de les induire *in vitro* (Bertola et al. 2012). De plus, Chen et al. ont montré que les CD issus du tissu adipeux de souris obèses sécrètent plus d'IL-6, de TGF- β et d'IL-23, en comparaison aux CD de la rate de ces souris, ce qui amplifie la polarisation des Th17 inflammatoires *in vitro* (Y. Chen et al. 2014). Récemment, Hannibal et al. ont montré que la déplétion spécifique des CD plasmacytoïdes, souvent impliquées dans les maladies auto-immunes, protège les souris de l'inflammation provoquée par un régime riche en gras et des comorbidités associées (Hannibal et al. 2017).

Ces résultats suggèrent que les CD pourraient jouer un rôle majeur dans la réponse inflammatoire du tissu adipeux et dans l'inflammation périphérique (ex. organes métaboliques) (Sundara et al. 2016).

Avant de poursuivre la discussion sur les cellules de l'immunité adaptative infiltrant le tissu adipeux, il est important de comprendre les principales voies d'activation de l'inflammation notamment les voies induites par l'excès d'acides gras libres saturés comme la voie TLR4 impliquée dans la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires via NF κ B (IL-1 β , IL-6, TNF α). La voie de l'inflammasome est quant à elle nécessaire à la maturation de l'IL-1 β , cytokine majeure impliquée dans l'inflammation et amplifiée dans le tissu adipeux obèse.

B. Acteurs de l'immunité adaptative

En plus des macrophages et des CD, les lymphocytes T, acteurs de l'immunité adaptative, jouent un rôle important dans la physiopathologie de l'obésité, du diabète de type 2 et des maladies associées (Touch et al. 2017). En effet, plusieurs travaux ont corrélé le nombre de LT infiltrant le tissu adipeux avec le degré d'adiposité chez l'homme, ainsi qu'une augmentation significative du nombre de lymphocytes CD3⁺, CD4⁺ et CD8⁺ dans le TAsc des sujets obèses en comparaison à celui des sujets minces (Wu et al. 2007; Rausch et al. 2008; Duffaut et al. 2009; Kintscher et al. 2008). Les résultats d'une étude longitudinale portant sur 322 femmes ont montré, une augmentation du nombre de LT totaux, et des sous-types CD4⁺ et CD8⁺ circulants avec l'obésité et ont été corrélés avec un IMC croissant (Womack et al. 2007).

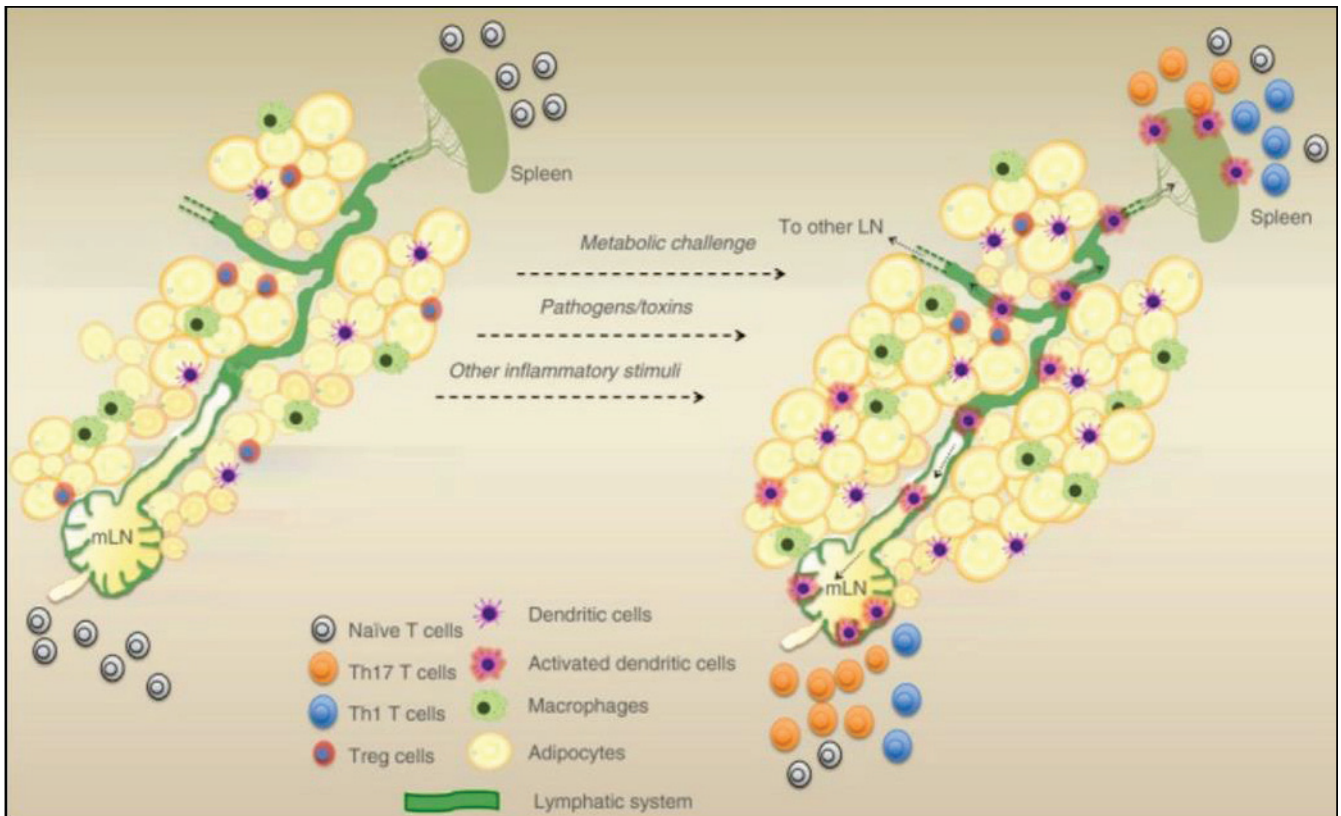


Figure 14: Activation des cellules dendritiques du tissu adipeux chez l'obèse.

Physiologiquement, les cellules dendritiques (CD) résidentes du tissu adipeux sont dans un état immature. Une fois activée par un antigène, les CD rejoignent les organes lymphoïdes secondaires (rate, ganglions lymphatiques) et induisent une réponse adaptative en polarisant les lymphocytes T naïfs en lymphocytes T effecteurs (Th1/Th17/Tregs par exemple).

*Adapté à partir de Sundara Rajan et Longhi 2016
PMID: 27479803*

Les travaux de l'équipe d'Anne Bouloumié, ont révélé la présence d'une population de CD3⁺ autour des adipocytes du TAsc de sujet en surpoids. Ces CD3⁺ adoptent une organisation en grappe (« cluster») autour des adipocytes. Les sous-types de lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ représentent la majorité des CD3⁺ retrouvés dans le tissu adipeux avec, un nombre significativement plus important de CD4⁺ et CD8⁺ dans le TAv que dans le TAsc. De plus, les auteurs ont révélé que la plupart des CD4⁺ sont des LT mémoires (CD45RO⁻/RA⁻) et des LT effecteurs, alors que la majorité des CD8⁺ sont effecteurs (Duffaut et al. 2009).

1. Les lymphocytes T CD8⁺

Les LT CD8⁺ jouent un rôle prépondérant dans la réponse anti-virale et anti-tumorale à travers la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires comme l'IFN γ et une fonction cytotoxique à l'égard des cellules cibles, via la libération des granules contenant des protéines cytolytiques, telles que granzymes et perforines, Une augmentation du nombre de CD8⁺ infiltrant le tissu adipeux de souris obèses a été décrite à la fois chez des souris génétiquement obèses (ob/ob) que chez des souris rendues obèses (DIO) (Rausch et al. 2008). La présence de lymphocytes CD8⁺ a été corrélée à l'inflammation et l'insulino-résistance (Nishimura et al. 2009). En effet, les LT CD8⁺ jouent un rôle important dans l'initiation de la cascade inflammatoire liée à l'obésité. Il a été montré que les CD8⁺ infiltrent le tissu adipeux des souris au bout de 2 semaines de régime riche en gras. La fréquence des CD8⁺ est augmentée précocement dans l'obésité dans le TAv des souris soumises à un régime riche en gras, bien plus que le nombre de CD4⁺. Le recrutement des CD8⁺ précède même le recrutement des M1 dans le tissu adipeux. En effet, des souris déficientes en CD8⁺ et soumises au même régime, ne sont pas capables de recruter les M1, et présentent une réduction du profil inflammatoire (IL-6, TNF α) et une amélioration de la sensibilité à l'insuline. Un transfert de lymphocytes T CD8⁺ dans des souris déficientes en CD8⁺ aggrave l'état insulino-résistant (Nishimura et al. 2009).

Les CD8⁺ représentent donc une source non négligeable de l'inflammation et du dysfonctionnement métabolique (Touch et al. 2017)

2. Les lymphocytes T CD4⁺

Les facteurs génétiques (ex. expression de facteurs de transcription) et environnementaux (ex. cytokines) conditionnent l'engagement des LT naïfs vers une des sous classes de LT. Les LT CD4⁺ via leur TCR, reconnaissent des peptides présentés par le CMH-II à la surface des CPA. Par

la suite, les CPA orientent la polarisation des LT, grâce aux cytokines qu'elles sécrètent. La sécrétion d'IL-12 est responsable de la polarisation des LT naïfs vers la voie Th1 ; l'IL-4 et l'IL-10 sont responsables de l'engagement vers la voie Th2 ; alors que l'IL-6, l'IL-1 β , l'IL-23 et le TGF β activent la voie des Th17 ; le TGF β en combinaison avec l'IL-2 permet la différenciation des LT naïfs en LT régulateurs (**Figure 15**). Les lymphocytes Th1 et Th17 produisent des cytokines pro-inflammatoires, l'IFN γ , le TNF α , et l'IL-2 sont sécrétés par les Th1 alors que l'IL-17A/F et l'IL-22 sont sécrétés par les Th17. Les LT anti-inflammatoires comprennent les Th2, qui sécrètent l'IL-4, l'IL-10 et l'IL-13, alors que les LT régulateurs sécrètent l'IL-10 et le TGF- β et participent à l'homéostasie du système immunitaire en régulant très étroitement l'activation des LT effecteurs.

Les LT activés, sécrètent également des chémokines qui permettent d'attirer d'autres cellules immunitaires comme les macrophages et d'amplifier l'inflammation. Dans ce chapitre seront cités quelques types cellulaires dont la fonction et le degré d'activation sont altérés par l'obésité et le diabète de type 2.

a) Les LT régulateurs

Les LT régulateurs (Treg) sont une sous classe de LT CD4⁺ caractérisées par l'expression des marqueurs CD25 et FoxP3 et la sécrétion d'IL-10 et de TGF- β . La différenciation des Treg naturels ou intrinsèques se fait sous le contrôle du facteur de transcription Foxp3 (Fontenot et al. 2003). Les Treg expriment fortement l'IL-2 et son récepteur, nécessaire à leur maintien. Ces cellules ont un rôle dans l'inhibition de l'activation des LT effecteurs comme les Th1 et Th17, impliqués dans les maladies inflammatoires chroniques et auto-immunes. Les Treg favorisent donc la tolérance immunitaire. L'équilibre de la balance Th1/Treg ou Th17/Treg est essentiel à l'établissement d'une réponse immunitaire efficace. La diminution des Treg contribue à l'inflammation, l'augmentation des maladies chroniques, auto-immunes, le rejet de greffe. D'ailleurs, des mutations au niveau de Foxp3 chez l'Homme conduit au syndrome de l'IPEX (syndrome de dérèglement immunitaire-polyendocrinopathie-entéropathie lié à l'X), une maladie auto-immune rare mais très grave pouvant affecter plusieurs organes dont la thyroïde et le pancréas (Bacchetta et al. 2016).

A l'inverse, l'augmentation des Treg diminuent les capacités de défense de l'organisme contre les agents infectieux et tumoraux.

Le nombre de Treg Foxp3⁺ est significativement élevé dans le tissu adipeux des souris minces avec approximativement 15000 à 20 000 Treg pour 1g de TAv (env. 40 % des CD4⁺)

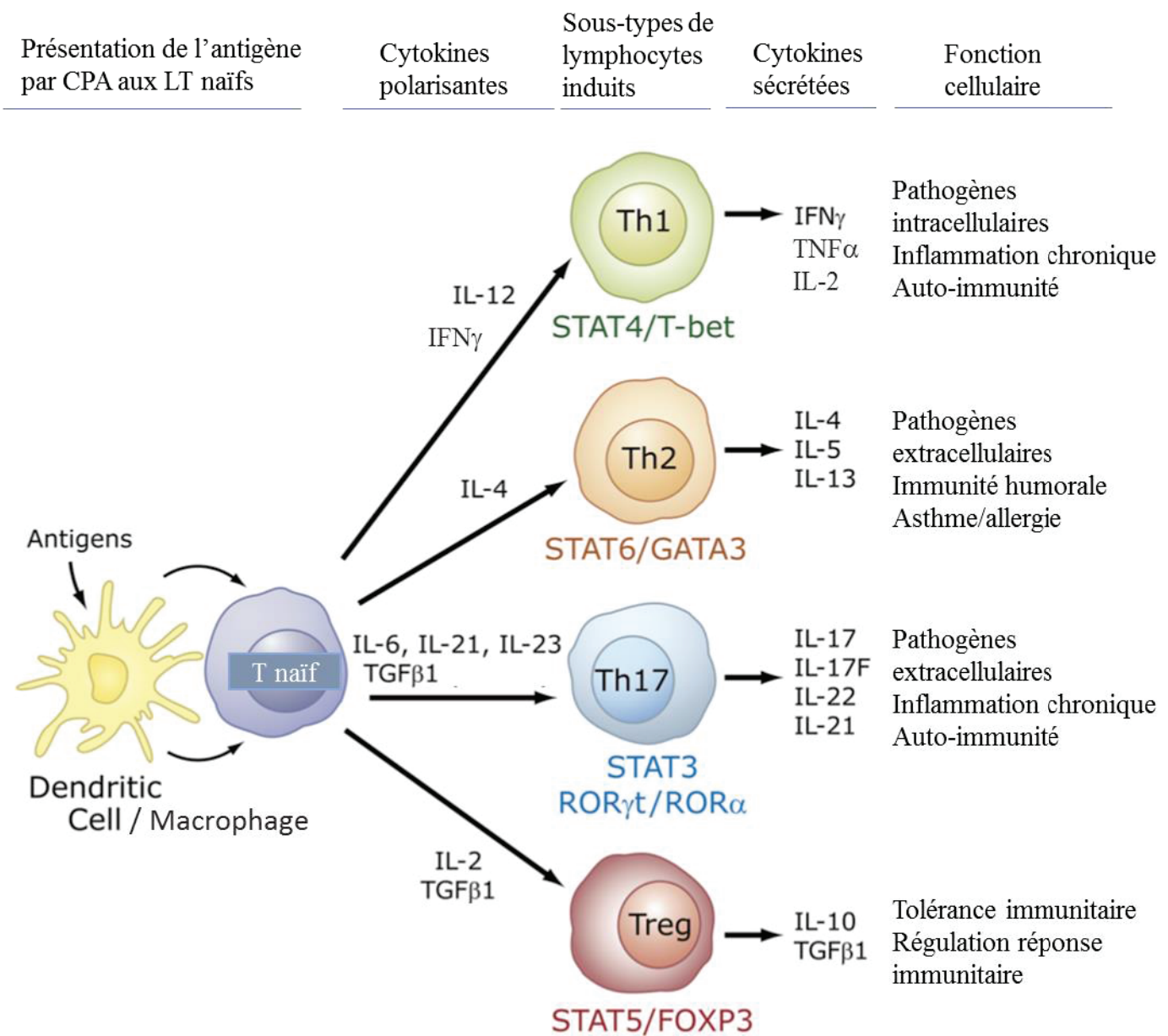


Figure 15: Polarisation des différents sous-types de lymphocytes T, en fonction de l'environnement inflammatoire et de l'activation de certains facteurs de transcription

*Adapté à partir de Jetten (2009),
PMID: 19381306*

(Feuerer et al. 2009). Des souris minces déplétées en Treg ont une augmentation des taux d'insuline et de cytokines pro-inflammatoires dans le sang et le tissu adipeux. Comparativement avec le TAsc, le TAv est significativement plus riche en Treg. Cette différence pourrait s'expliquer par l'étroite corrélation entre le dysfonctionnement métabolique du TAv et l'insulino-résistance. De façon surprenante, le TAv des souris minces est plus riche en Treg que la rate, qui est un organe lymphoïde secondaire, alors que le TAsc contient une fréquence similaire à la rate. Ces cellules régulatrices sont fonctionnellement actives puisqu'elles expriment et sécrètent beaucoup d'IL-10 (ARNm 136 fois plus exprimé dans le TAv que dans la rate) (Feuerer et al. 2009). De façon intéressante, l'expression de PPAR γ par les Treg dans le TAv est indispensable à l'accumulation, au phénotype et à la fonction anti-inflammatoire et insulino-sensibilisante des Treg (Cipolletta et al. 2012). Plus récemment, une étude a montré le rôle majeur de l'IL-33 dans l'induction des Treg PPAR γ ⁺ dans le TAv (Vasanthakumar et al. 2015).

Chez l'homme, le nombre de cellules CD25⁺ Foxp3⁺ Treg circulants est diminué chez les sujets obèses, en comparaison aux sujets minces, et est négativement corrélé avec l'IMC et les taux de leptine (van der Weerd et al. 2012; Wagner et al. 2013). Les Tregs sont aussi réduits chez les sujets atteints de diabète de type 2, en comparaison aux sujets non-diabétiques, alors que le nombre de Th1 et Th17 circulants augmente significativement, suggérant un switch entre Treg et Th1/Th17 dans l'obésité et le diabète de type 2 (M. Sumarac-Dumanovic et al. 2009; Jagannathan-Bogdan et al. 2011).

L'obésité est associée à une réduction importante du nombre de Treg dans le tissu adipeux des souris nourries avec un régime riche en gras et génétiquement obèses (ob/ob et db/db) (Huh et al. 2014). La corrélation entre l'obésité et l'inflammation d'une part et la diminution des Treg d'autre part, met en avant l'effet des Treg dans le contrôle du métabolisme et de l'inflammation (Huh et al. 2014). *In vitro*, l'IL-10 est capable d'inhiber l'effet du TNF α sur l'insulino-résistance des adipocytes matures (Feuerer et al. 2009). *In vivo*, le traitement de souris diabétiques avec de faibles dose journalières d'IL-2 pendant 6 jours augmente les niveaux d'IL-10 et guérit 50 à 60 % des souris déjà diabétiques (Q. Tang et al. 2008). Ces observations sont liées à l'augmentation du pool de Treg dans la rate et dans les îlots β -pancréatiques.

Des travaux menés sur divers modèles murins d'obésité et sur des patients obèses, ont montré que seul le TAv, et non pas le TAsc, voit sa population de Treg diminuer (Feuerer et al. 2009; Nishimura et al. 2009; Winer et al. 2009). De plus, des souris rendues obèses par surnutrition et recevant pendant 5 jours une injection d'anticorps anti-CD3 (dans le but de dépléter les Th1

préférentiellement) et augmenter les Treg, ont montré une nette augmentation des Treg dans le tissu adipeux après 9 semaines et une amélioration de l'insulino-sensibilité (Winer et al. 2009). Ces observations sont tout à fait en cohérence avec la fonction connue des Treg dans la suppression des Th1 et la promotion de macrophages M2 (Tiemessen et al. 2007).

b) Les Lymphocytes Th1

Les lymphocytes T helper de type 1 ou Th1, appartiennent à la classe des CD4⁺. Les Th1 participent à la réponse immunitaire à médiation cellulaire contre les bactéries intracellulaires et les virus, à travers l'activation de cellules cytotoxiques (LT CD8⁺) et l'activation des phagocytes dont les macrophages, ou humorale, à travers l'activation des lymphocytes B et la production d'anticorps spécifique de l'antigène. L'exacerbation de la réponse Th1 est impliquée dans les maladies auto-immunes (Hirahara et Nakayama 2016; Raphael et al. 2015). C'est le cas du DT1, où les Th1 jouent un rôle majeur dans la lyse des cellules bêta de Langerhans (Azar et al. 1999), mais aussi la sclérose en plaques (SEP), où un modèle animal déficient en T-bet (facteur de transcription nécessaire au développement des Th1) est résistant au développement de la SEP (Hirahara et Nakayama 2016).

L'IFN γ , le TNF α , l'IL-2 et la lymphotoxine- α (ou TNF- β) sont sécrétées par les Th1. L'expression de T-bet (ou TBX21) contribue à la pathogénicité des Th1. En effet, T-bet a été décrit comme responsable de la production de l'IFN γ par les Th1, et de l'expression de certains récepteurs de chémokines, comme CXCR3 (Lord 2005), leurs permettant de migrer vers d'autres sites, et notamment vers le tissu adipeux en condition d'obésité (V. Z. Rocha et al. 2014). De plus, la sécrétion d'IFN γ par les Th1 induit l'activation des macrophages et des cellules NK au site de l'inflammation.

Le nombre de Th1 sécrétant l'IFN γ pro-inflammatoire augmente avec la masse du tissu adipeux chez l'Homme (Duffaut et al. 2009), et a été associé à l'expression de TNF α par les macrophages du tissu adipeux (O'Rourke et al. 2009). L'obésité induit une augmentation de la sécrétion de TNF α par les macrophages du tissu adipeux (Hotamisligil et al. 1993), et de façon intéressante, le TNF α en plus d'autres stimuli inflammatoires (ex. LPS et acides gras libres) est capable de polariser les LT vers la voie Th1, *in vitro* (Iwamoto et al. 2007; Stelzner et al. 2016)

Les Th1 ont également été retrouvés augmentés dans le sang et dans le tissu adipeux de sujets atteints de diabète de type 2 et leur nombre a été corrélé à l'inflammation systémique

(augmentation CRP et IL-6 plasmatique) et l'insulino-résistance (McLaughlin et al. 2014; Jagannathan-Bogdan et al. 2011). L'inhibition des Th1 dans des modèles murins d'obésité a permis de réverser l'insulino-résistance sur le long terme, malgré le maintien d'une alimentation riche en gras (Winer et al. 2009). De même, des souris déficientes en IFN γ ont une réduction de l'expression génique du TNF α , MCP-1 ou RANTES dans le tissu adipeux, une réduction de l'accumulation des LT et des macrophages inflammatoires et une amélioration de la tolérance au glucose en comparaison aux souris contrôles (Viviane Zorzanelli Rocha et al. 2008).

V. LES LYMPHOCYTES TH17 PATHOGENIQUES

Les cellules du SI inné et adaptatif produisent l'IL-17. Néanmoins les Th17 représentent la source majoritaire d'IL-17. (Chehimi et al. 2017 pour revue)

A. Caractérisation des Th17

Les Th17 produisent essentiellement l'IL-17, cloné pour la première fois en 1995 (Yao et al. 1995).

1. Différenciation des Th17 à partir de CD4⁺ naïfs

La présentation de l'antigène par le CMH-II des CPA au TCR des lymphocytes T (LT) naïfs, en plus des signaux de co-stimulation ne suffisent pas à polariser les LT vers une des lignées de LT (Th1, Th2, Th17 ou Tregs). Un environnement cytokinique adéquat est requis pour diriger la différenciation des LT.

Le signal d'activation TCR/CMH-II/peptide est renforcé par des molécules de co-stimulation permettant d'augmenter la force et la durée de l'interaction entre CPA et lymphocytes T naïfs. Les molécules CD28 et ICOS, exprimées par les LT naïfs, ont été montré comme indispensables à la polarisation des LT dont les Th17 (H. Park et al. 2005).

L'engagement des Th17 à partir des LT naïfs requiert une combinaison de signaux moléculaires sécrétés par les CPA (ex. les CD ou les macrophages activés), tels que l'IL-1 β , l'IL-6 et le TGF- β au moins. L'IL-23, également sécrétée par les CPA, est indispensable au maintien et à l'expansion du répertoire Th17. En revanche, les LT naïfs n'expriment pas le récepteur à l'IL-23 (IL-23R), ce qui rend impossible la différenciation des Th17 à partir du seul signal IL-23 (Parham et al. 2002).

A la suite de l'interaction CPA/LT naïf, la différenciation des Th17 se fait en 3 étapes successives (**Figure 16**).

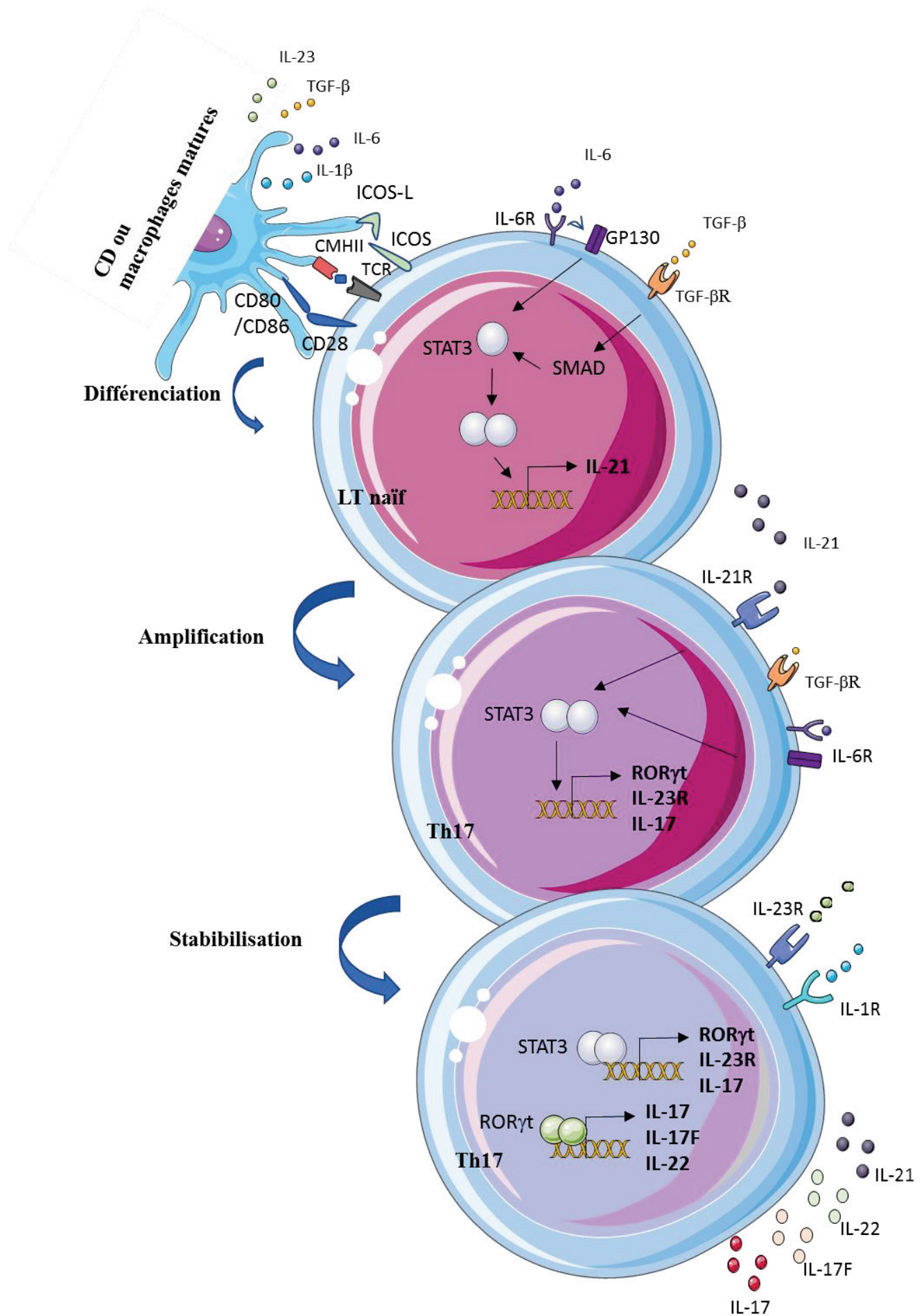


Figure 16 : Les 3 étapes de la polarisation des Th17.

- L'IL-6 et le TGFβ sont indispensables à l'engagement des LT naïfs vers la voie Th17. Une étude a montré que des souris dont les LT sont dans l'incapacité de répondre à un signal TGFβ, sont incapables de développer des Th17 (Veldhoen et al. 2006). L'IL-6 est requis pour l'activation du facteur de transcription *Signal Transducer and Activator of Transcription 3* (STAT3), déclenchant dans un premier temps l'expression et la sécrétion de l'IL-21. L'IL-6 à travers la production de l'IL-21 joue un rôle majeur dans l'induction des Th17 (Suto et al. 2008).
- Dans un second temps, l'IL-21 en plus de l'IL-6 et du TGFβ va renforcer l'activation de STAT3. L'IL-21 inhibe l'activation de Foxp3 et donc la génération des Treg même en présence de TGFβ. En revanche, l'IL-21 s'associe au TGFβ pour amplifier l'expression de STAT3 (Korn et al. 2007; Bettelli et al. 2006). L'IL-6 joue aussi un rôle de régulation en inhibant les Tregs pour favoriser les Th17. De plus, les Th17 étant une des sources majeures de l'IL-21, un modèle d'auto-amplification autocrine a été proposé pour expliquer l'amplification de la différenciation des Th17 (Wei et al. 2007). STAT3 déclenche l'expression du Retinoic acid Orphan Receptor γ thymus (ROR γ t) chez la souris, et RORC chez l'Homme. ROR γ t est un facteur de transcription critique au développement des Th17 (Ivanov et al. 2006). CD161 est une molécule de surface induite par ROR γ t, et représente un marqueur des Th17 (Cosmi et al. 2008). L'IL-6 et l'IL-21 (L. Zhou et al. 2007) ou l'IL-6 et l'IL-23 (Ghoreschi et al. 2010) induisent l'expression de l'IL-23R, à travers une signalisation dépendante de STAT3. Ghoreschi et al. ont montré que ces cytokines induisent la liaison de STAT3 au niveau du promoteur de l'IL-23R et donc son expression. L'IL-23R est donc transloqué à la surface des Th17 rendant ainsi les Th17 sensibles à l'IL-23 (Ghoreschi et al. 2010). Le récepteur à l'IL-23 est exprimé sur les lymphocytes T activés ou mémoires mais non naïfs (Kastelein, Hunter, et Cua 2007).
- L'IL-23 est un hétérodimère composé de la sous-unité IL-23p19 et de la sous-unité IL-12p40 partagée avec l'IL-12 (Oppmann et al. 2000). L'IL-23 stabilise l'expression de STAT3 et de ROR γ t. ROR γ t est responsable de l'expression et de la production des cytokines sécrétées par les Th17, telles que l'IL-17, l'IL-17F et l'IL-22. A ce stade, les Th17 sont devenus matures et effecteurs (Korn et al. 2009).

2. Régulation de la différenciation des Th17

Le TGF-β1 est impliqué dans la différenciation des Tregs et des Th17 (Bettelli et al. 2006; Veldhoen et al. 2006). Cette cytokine à elle seule n'est pas capable d'orienter spécifiquement les LT

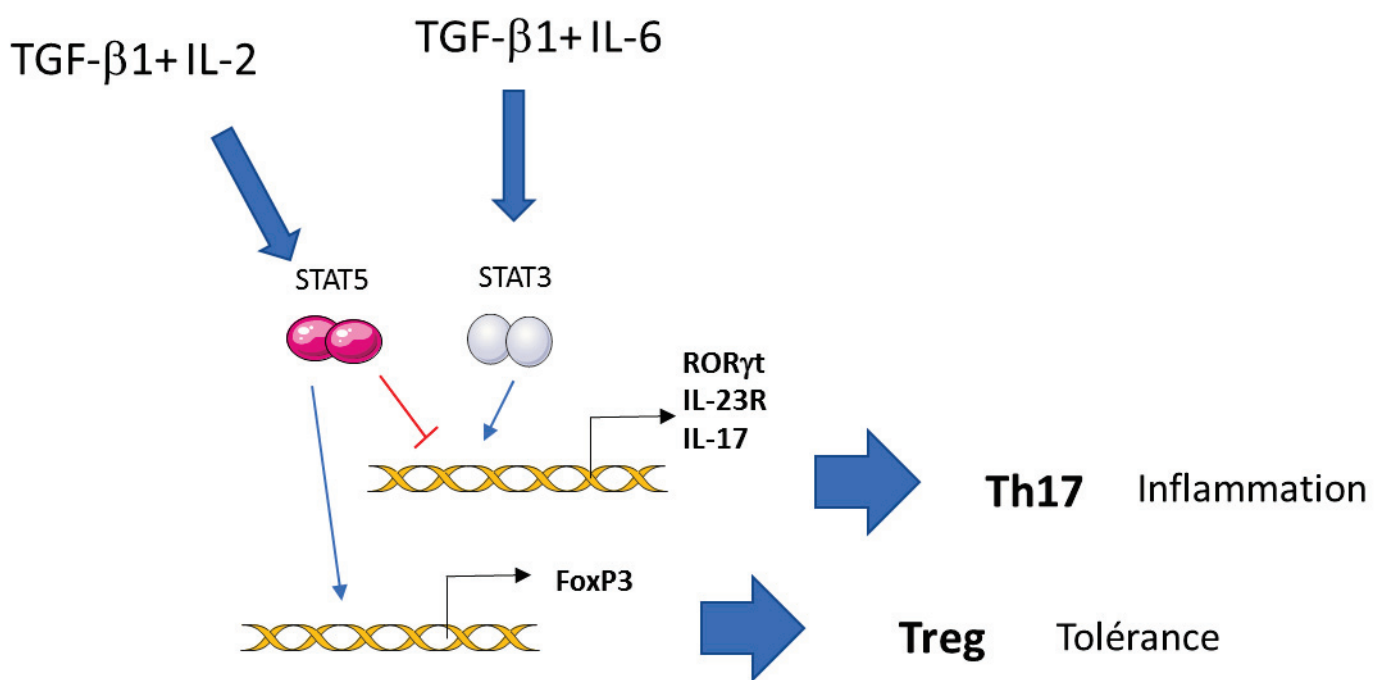


Figure 17: Compétition entre STAT3 et STAT5 pour l'activation des Th17.

vers une des 2 voies. L'IL-2 ou l'IL-6 en plus du TGF- β accomplissent ce rôle. L'IL-6 + TGF- β induisent STAT3 qui se lie au promoteur de l'il17a et favorise les Th17 (L. Zhou et al. 2007; Z. Chen et al. 2006). L'IL-2 + TGF- β 1 induisent STAT5 qui se lie au promoteur de foxp3 et favorise les Tregs. Sous l'influence de l'IL-2, STAT5 peut aussi se lier au promoteur de l'il17, inhiber la liaison de STAT3 et empêcher la polarisation des Th17 (Laurence et al. 2007). Donc tant que l'IL-2 n'est pas complètement consommé, il est impossible de générer des Th17 même en condition polarisante (**Figure 17**).

Les oxystérols, comme le 7 β , 27-dihydroxycholesterol (7 β , 27-OHC), dérivés du catabolisme du cholestérol, représentent des ligands agonistes à ROR γ t qui vont réguler positivement la différenciation des Th17. Une altération des enzymes de la voie de synthèse du cholestérol inhibe le développement des Th17 (Santori et al. 2015; Soroosh et al. 2014). La disponibilité de ces ligands peut constituer une source de régulation.

3. L'IL-17 et son récepteur IL-17RA/IL-17RC

La cytokine.

L'IL-17 appartient à la famille des cytokines de l'IL-17 qui participent aux réponses inflammatoires aiguës et chroniques (Gu et al. 2013). Cette famille est composée de 6 cytokines, l'IL-17A, l'IL-17B, l'IL-17C, l'IL-17E (ou IL-25) et l'IL-17F. Les différents membres de la famille des IL-17 partagent des homologies entre-elles ; l'IL-17A et l'IL-17F partagent 56% d'homologie. L'IL-17A, aussi appelé IL-17 ou ancestralement CTLA8, est la plus étudiée. L'IL-17A existe sous la forme d'un homodimère IL-17A/IL-17A ou d'un hétérodimère avec l'IL-17F, formant ainsi le complexe IL-17A/IL-17F (**Figure 18**).

L'IL-17 est une cytokine pro-inflammatoire qui joue un rôle pléiotropique. Elle a un rôle de défense immunitaire contre les infections bactériennes et un rôle pathologique dans plusieurs maladies telles que les maladies autoimmunes (ex. sclérose en plaques), les maladies métaboliques (ex. obésité et diabète de type 2) et dans plusieurs types de cancer (ex. cancer colon, foie, sein). L'IL-17 est capable d'induire la production de cytokines, chémokines, peptides anti-microbiens et métalloprotéinases matricielles, entraînant le recrutement et l'activation de neutrophiles, l'inflammation et la défense de l'hôte contre les pathogènes (Chang et Dong 2011; Gaffen 2008). Cependant, l'activation chronique des Th17 et la production en continu et de façon exagérée de

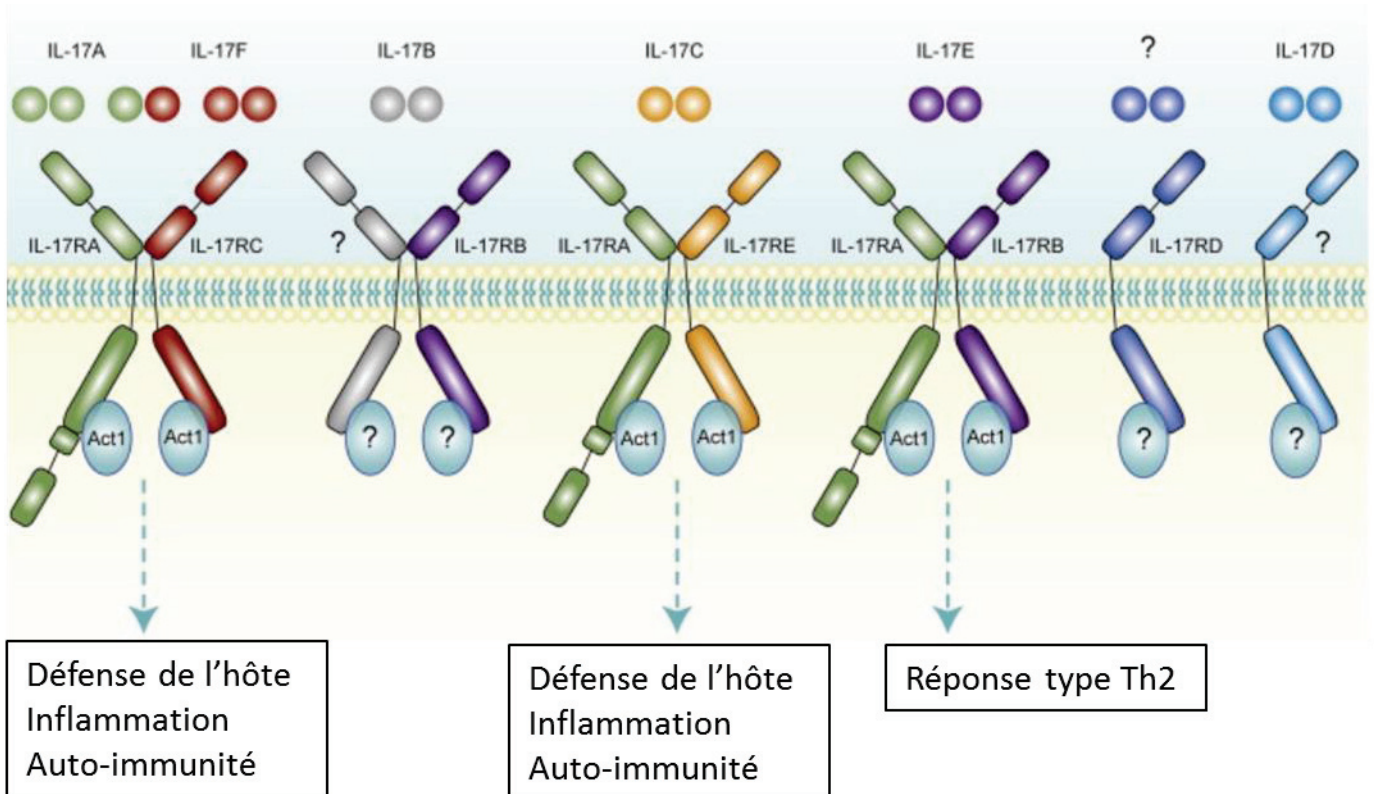


Figure 18: Les cytokines de la famille de l'IL-17 et ses récepteurs.

Certaines cytokines, récepteurs et adaptateurs sont encore mal connus (?).

Adapté à partir de Song et Qian (2013)

PMID:23557798

l'IL-17 entraîne une exacerbation de l'inflammation et un dommage tissulaire. Dans ces conditions, les Th17 sont considérés comme pathogéniques.

Récepteur à l'IL-17.

Après le clonage de l'IL-17, son récepteur a été identifié en 1995, l'IL-17RA (Yao et al. 1995). L'IL-17RA appartient à la famille des récepteurs à l'IL-17 comprenant l'IL-17RA, RB, RC, RD et RE. Ces récepteurs partagent aussi des homologies entres-eux.

L'IL-17A et l'IL-17F agissent au niveau du complexe hétérodimérique IL-17RA/IL-17RC (S. Liu et al. 2013). Ce complexe est exprimé de façon ubiquitaire à la surface de toutes les cellules de l'organisme, et à une concentration plus élevée au niveau des cellules hématopoïétiques (Gaffen 2009). L'IL-17 sécrétée peut donc affecter le fonctionnement d'un grand nombre de tissu cible **(Figure 18)**.

Transduction du signal IL-17.

La stimulation de l'IL-17R par l'IL-17 induit le recrutement de la protéine cytosolique Act1 (pour NFκB activator 1) au niveau du récepteur. Act1 joue un rôle essentiel dans l'activation des Th17 car son inhibition empêche la transduction du signal IL-17 lié à une inactivation du facteur NFκB (Chang et al. 2006). L'extrémité C-terminale de l'IL-17R et l'adaptateur Act1 possèdent tous les deux un domaine SEFIR qui leurs permettent d'interagir. Une fois Act1 liée à l'IL-17R, la transduction du signal est possible. Act1 recrute TRAF6, une E3 ubiquitine ligase. TRAF6 s'auto-active permettant l'activation de la TGFβ-activated kinase 1 ou TAK1. Une fois que TAK1 est activé, la voie de signalisation NFκB est alors déclenchée **(Figure 19)**.

Régulation de la signalisation IL-17.

La signalisation de l'IL-17 peut être contrôlée et écourtée à plusieurs niveaux. TRAF4 et TRAF3 sont des régulateurs négatifs qui agissent au niveau du récepteur. TRAF4 à travers son domaine SEFIR, se lie à Act1 à la place de TRAF6 et supprime la réponse IL-17 (Zepp et al. 2012). TRAF3 se lie directement au récepteur, empêchant Act1 de se lier (Zhu et al. 2010).

La liaison de l'IL-17 à son récepteur déclenche des séries de phosphorylation et ubiquitination activatrices. USP25 est une enzyme de déubiquitination qui va agir au niveau de TRAF6 pour supprimer son activation et donc réduire l'inflammation (Zhong et al. 2012). In vitro, des cellules déficientes en USP25 stimulées à l'IL-17 sont sujettes à une hyper-ubiquitination de

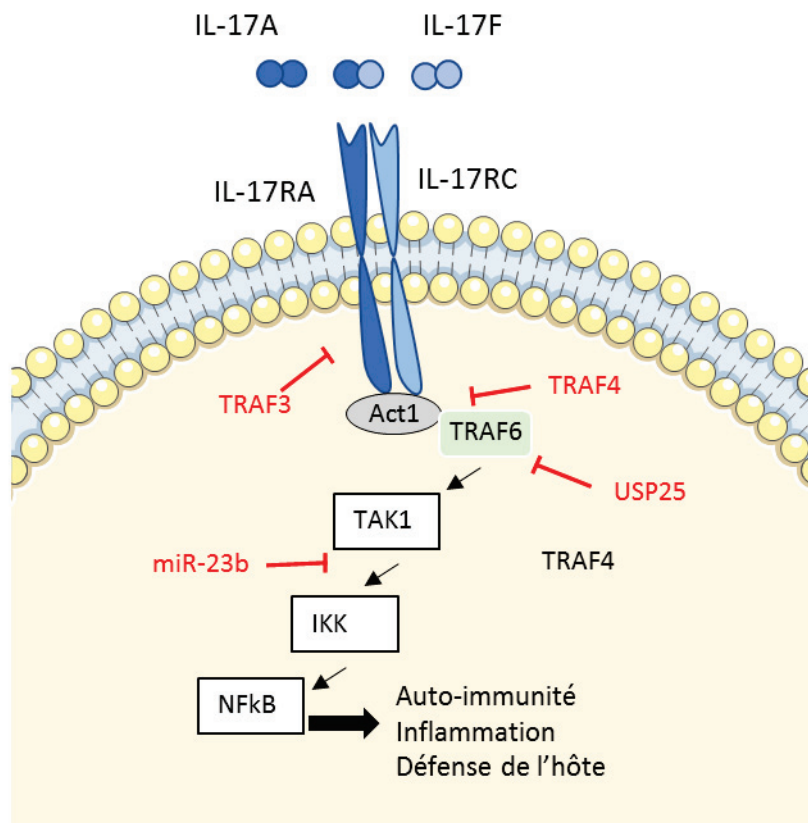


Figure 19 : Régulation de la signalisation de l'IL-17.

*Adapté à partir de Gu et al. (2014),
PMID: 24011563*

TRAF6, une augmentation de la phosphorylation de JNK et d'IkBa entraînant donc un prolongement de la durée de l'inflammation (Zhong et al. 2012).

La signalisation de l'IL-17 entraîne une suppression de l'expression d'un micro-ARN miR-23b. miR23b inhibe l'activation de NFkB en ciblant TAB2/TAB3 et IKK- α (Zhu et al. 2012), ce qui en fait un régulateur négatif de la signalisation IL-17 (**Figure 19**).

4. Marqueurs des Th17

Les Th17 sont des cellules très plastiques dont l'expression intracellulaire des facteurs de transcription ou des cytokines peut subir des variations en fonction de l'environnement inflammatoire et de l'antigène reconnu. En revanche, les Th17 classiques sont caractérisés par un phénotype distinguable des autres lymphocytes auxiliaires. Les Th17 sont positives pour l'IL-17 intracellulaire, CCR6 (Singh et al. 2008) et CCR4 membranaire et ROR γ t intracellulaire. De façon intéressante, une équipe a montré que les Th17 peuvent être caractérisées par l'IL-17 en tant que marqueur de surface, aussi bien chez l'Homme que chez la souris (Brucklacher-Waldert et al. 2009).

B. Fonction primaire des Th17 en réponse à une infection

Le rôle protecteur de l'IL-17 dans la défense de l'hôte a été montré pour la première fois sur des souris déficientes en IL-17R, qui n'ont pas survécu à une infection pulmonaire de *Klebsiella pneumoniae* (Ye et al. 2001). De plus, d'autres études ont montré que l'IL-23 est nécessaire à la réponse anti-bactérienne contre *K. pneumoniae* (Happel et al. 2005). Plusieurs travaux utilisant la génétique ou des anticorps neutralisant, permettant de bloquer l'IL-17 ou son récepteur, ont mis en évidence le rôle de la signalisation IL-17 dans la lutte contre diverses infections pathogéniques. C'est le cas des infections *Streptococcus pneumoniae* (Lu et al. 2008), *Listeria monocytogenes* (S. Xu et al. 2010), *Staphylococcus aureus* (Cho et al. 2010), *Helicobacter pylori* (Algood et al. 2009), *herpes simplex virus* (Suryawanshi et al. 2011) et *Candida albicans* (Huang et al. 2004).

L'IL-17 et son récepteur (IL-17R) sont nécessaires au recrutement des neutrophiles au sein du site infecté, *in vitro* et *in vivo*. Justement, dans le cas des infections à *Klebsiella pneumoniae*, la signalisation de l'IL-17 induit la sécrétion de la chémokine macrophage inflammatory protein (MIP)-2 et de la cytokine granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) par les cellules épithéliales pulmonaires, deux facteurs indispensables aux recrutements des neutrophiles (P. Ye et

al. 2001). D'ailleurs, l'IL-17 est capable de polariser les cellules hématopoïétiques vers une maturation préférentielle des neutrophiles (Fossiez et al. 1996). L'IL-8 est également une chémokine qui attire les neutrophiles. L'IL-17 stimule les cellules stromales, comme les cellules endothéliales et les fibroblastes en plus des cellules épithéliales, à sécréter l'IL-6, l'IL-8 (ou CXCL8) et la PGE2 (Fossiez et al. 1996). L'IL-17 induit l'activation de STAT3 dans les cellules endothéliales, entraînant ainsi la sécrétion par ces dernières de CXCL1 (ou GRO- α), de GM-CSF et de l'IL-8 et rendant possible le recrutement des neutrophiles (Yuan et al. 2015).

Des capacités migratoires distinctes sont attribuées aux Th17 en fonction de l'antigène bactérien ou fongique présenté. Ainsi *C. albicans* active plutôt une population de Th17 CCR6⁺/CCR4⁺ sécrétant exclusivement l'IL-17, alors que *M. tuberculosis* active préférentiellement les Th17 CCR6⁺/CXCR3⁺ sécrétant à la fois l'IL-17 et l'IFN γ (Acosta-Rodriguez et al. 2007).

C. Fonction pathogénique des Th17

L'hétérogénéité des Th17 a été montrée par (Ghoreschi et al. 2010). La localisation des Th17 selon leur degré de pathogénicité diffère. Les Th17 non-pathogéniques sont retrouvés au niveau de la barrière intestinale et des autres muqueuses, alors que les Th17 pathogéniques sont exclusivement au niveau des sites infectieux, exemple le système nerveux central dans la sclérose en plaques (Wang et al. 2015).

Les Th17 différenciés en présence d'IL-6 et de TGF β présentent une pathogénicité limitée. En effet, il a été montré que ces cellules ne produisent pas de chémokines inflammatoires comme MCP-1 ou CCL5 (ou RANTES) et n'induisent pas de pathologie normalement associée aux Th17, *in vivo* (ex. la sclérose en plaques) (McGeachy et al. 2007). Malgré leur production d'IL-17, ces cellules sécrètent l'IL-10. L'IL-10 régule le degré d'activation de ces cellules et limite leur pathogénicité. En revanche, les Th17 stimulés une seconde fois par l'IL-23 ne produisent plus d'IL-10, amplifient la sécrétion d'IL-17, d'IL-22, d'IL-21 et des chémokines inflammatoires, et aggravent le phénotype inflammatoire de la sclérose en plaques chez la souris (El-Behi et al. 2011; McGeachy et al. 2007). De façon intéressante, Ghoreschi et al. ont montré que les LT n'ont pas besoin du TGF- β 1 pour se différencier en Th17. Ni l'IL-23 ni l'IL-6 seules ne sont capables d'induire la différenciation, en revanche la combinaison de ces cytokines avec l'IL-1 β permet de générer des Th17 dits pathogéniques exprimant fortement l'IL-23. Le TGF- β inhibe l'expression de T-bet dans les Th17 et donc permet d'éviter la sécrétion d'IFN γ par les Th17. La présence de TGF β est donc

primordiale à la répression des Th17 pathogéniques (Ghoreschi et al. 2010). L'expression excessive d'IL-23R reflète les Th17 pathogéniques.

Les Th17 pathogéniques peuvent être identifiés par l'expression des facteurs de transcription ROR γ t et T-bet, et donc par leur double sécrétion d'IL-17 et d'IFN γ . Ce sont les principales cellules conduisant aux maladies inflammatoires chroniques et auto-immunes. Les Th17 IL-17⁺ IFN γ ⁺ de l'intestin ont été impliquées, chez l'Homme et la souris, dans la colite auto-immune chronique (Barthels et al. 2017) et à l'encéphalite auto-immune expérimentale (EAE), un modèle de sclérose en plaques, chez la souris (Ghoreschi et al. 2010). Une étude menée par Hirota et al. a montré que dans l'EAE, des Th17 peuvent perdre la capacité à sécréter l'IL-17 et acquérir un profil plutôt Th1 en sécrétant de l'IFN γ . Ces « ex-Th17 » ont été décrites comme pathogéniques (Hirota et al. 2011).

Plusieurs études ont montré que le GM-CSF confère aux Th17 un phénotype pathogénique (El-Behi et al. 2011). D'ailleurs, les souris déficientes en GM-CSF sont résistantes à l'EAE (Codarri et al. 2011). La sécrétion de GM-CSF (ou CSF-2) par les Th17 est amplifiée par l'IL-23 et/ou l'IL-1 β . De façon intéressante, El-Behi et Al. ont montré que le GM-CSF sécrété par les Th17, stimule à son tour les CPA pour amplifier la sécrétion de l'IL-23, ce qui engendre une boucle de rétrocontrôle positive (El-Behi et al. 2011).

Le rôle pathologique de l'IL-23 sur les Th17 a été récemment étudié par Lee Y. qui ont montré que les Th17 différenciés en présence d'IL-23, sécrètent une cytokine endogène, le TGF- β 3, responsable du phénotype pathogénique des Th17. En effet, la différenciation des Th17 en présence de TGF- β 3 et d'IL-6 même sans IL-23 suffit à induire un phénotype pathogénique (Y. Lee et al. 2012). Les auteurs ont proposé que selon le type de TGF- β présent durant la première étape de différenciation, respectivement TGF- β 1 ou TGF- β 3, les cellules acquièrent un phénotype non-pathogénique ou pathogénique.

En utilisant des techniques de suppression de gènes chez la souris, Gaublomme JT et al. ont récemment montré l'existence de 3 nouveaux gènes régulateurs positifs des Th17 pathogéniques, GPR65, TOSO et PLZP. Les lymphocytes de souris déplétées de ces gènes se différencient significativement moins en Th17 en réponse à un environnement polarisant et ne répondent pas efficacement à une stimulation par MOG 35-55, un peptide inducteur d'EAE *in vivo* (Gaublomme et al. 2015). De plus, Wang et al. ont identifié CD5L comme un régulateur négatif des Th17 pathogéniques, uniquement exprimé dans les Th17 non-pathogéniques (différenciés à partir du TGF- β + IL-6) (Wang et al. 2015).

	Th17 non-pathogéniques	Th17 pathogéniques
Localisation	Localisation au niveau des muqueuses, ex. barrière intestinale	Tissu ou organe, ex. tissu adipeux/ système nerveux central
Rôle	Défense immunitaire contre pathogènes extracellulaires	inflammation chronique, maladie auto-immunes
Cytokines polarisantes	IL-6 + TGF- β 1	IL-6 + IL-1 β + IL-23; +/- GM-CSF/TGF- β 3
Facteurs de transcription	ROR γ t/RORC	ROR γ t/RORC + Tbet
Sécrétion/ expression	IL-17/IL-21/IL-22 + IL-10; IL-23R (+)	IL-17/IL-21/IL-22, IFN γ , granzyme B, TGF- β 3, GM-CSF, MCP-1, CCL5 (Rantes); IL-1R1, IL-18R, IL-23R (+++)
Régulation positive	CD5L	GPR65, TOZO, PLZP

Tableau 3: Th17 non-pathogéniques *versus* pathogéniques

Dans certaines conditions, les Th17 gagnent en pathogénicité en exprimant le granzyme B, les rendant cytotoxiques (Peters et Yosef 2014).

Dans un état pathologique, notamment dans le psoriasis, une maladie chronique de la peau étroitement associée à la pathogénicité des Th17, les Th17 commencent à exprimer le récepteur à l'IL-18, IL-18R. Ainsi, l'IL-18 sécrétée par les CPA, amplifie la production d'IL-17 par les Th17 (Lee et al. 2015).

Le récepteur à l'IL-1 β , IL-1R1, est fortement exprimé par les Th17 et représente un marqueur des Th17 pathogéniques (Hirota et al. 2011). Ce récepteur est significativement amplifié à la surface des lymphocytes CD4⁺ du tissu adipeux de sujets obèses diabétiques en comparaison aux non-obèses (Dalmas et al. 2014). De façon intéressante, les « ex-Th17 » préserve l'expression d'IL-1R1, les distinguant des Th1 (Hirota et al. 2011).

Le **Tableau 3** résume les différences fonctionnelles et moléculaires des Th17 non-pathogéniques versus Th17 pathogéniques.

D. L'obésité amplifie le nombre de Th17 dans le tissu adipeux

L'obésité, aussi bien chez l'Homme que chez la souris, induit l'expansion du nombre de cellules T sécrétant l'IL-17 (McLaughlin et al. 2014; Ahmed et Gaffen 2010; M. Sumarac-Dumanovic et al. 2009; Winer et al. 2009; Fabbrini et al. 2013). De plus, plusieurs études ont montré l'augmentation de l'IL-17 et des Th17 dans le sang périphérique des sujets atteints de diabète de type 2. (Jagannathan-Bogdan et al. 2011; Zeng et al. 2012). Une étude clinique a montré l'augmentation des cytokines IL-17 et IL-23 plasmatiques chez des femmes obèses (30 <IMC <48 kg/m²) en comparaison à des femmes minces (18 <IMC <25 kg/m²) (Sumarac-Dumanovic et al. 2009). En revanche, l'utilisation de moyens thérapeutiques visant à mieux réguler la glycémie (ex. Metformine) a significativement réduit le taux d'IL-17 circulant. Chez ces patients, la réduction de la concentration d'IL-17 plasmatique a été significativement corrélée à la baisse du marqueur HbA1c, ce qui montre bien le lien étroit entre désordre métabolique et Th17 (Sumarac-Dumanovic et al. 2013).

De façon intéressante, une publication récente a montré l'existence d'un dimorphisme sexuel entre des adolescents obèses dans la population indonésienne. Pour des IMC comparables, les concentrations d'IL-17 plasmatiques sont plus élevés chez les garçons que chez les filles (Susilowati et al. 2016).

L'obésité et le diabète de type 2 induisent une augmentation du nombre de Th17 infiltrant le tissu adipeux. En effet, une augmentation du nombre de cellules CD3⁺ exprimant l'IL-17 a été observé dans le TAsc des sujets en surpoids et obèses en comparaison à celui des sujets minces (Bertola et al. 2012). Sans surprise, la fréquence de ces Th17 est plus élevée dans les deux dépôts de tissu adipeux chez les sujets obèses, en comparaison avec ceux en surpoids (McLaughlin et al. 2014). Des observations similaires ont été faite par l'équipe de Michelle Guerre-Millo, qui a montré une augmentation de plusieurs populations de LT sécrétant l'IL-17, des cellules IL-17⁺ IL-22⁻ CD4⁺ et des cellules IL-17⁺ IL-22⁺ CD4⁺, dans le TAsc de patients obèses. Dans cette étude clinique, ces populations cellulaires exprimant l'IL-17 sont plus nombreuses chez les sujets diabète de type 2 que chez les obèses et leur nombre a été corrélé au taux d'HbA1c plasmatique (Dalmas et al. 2014). Fabrini et Al. ont aussi corrélé la fréquence de Th17 du tissu adipeux avec le statut métabolique des patients. Ainsi, le tissu adipeux des sujets métaboliquement atteints (obèse insulino-résistant) est plus infiltré par les Th17 que celui des sujets métaboliquement sains (obèse insulino-sensible) ou minces (Fabbrini et al. 2013).

L'obésité et le diabète de type 2 induisent une augmentation de la fréquence de Th17 infiltrant d'autres tissus de l'organisme aux fonctions métaboliques et immunitaires. Winer et Al. ont démontré l'augmentation spécifique des Th17 dans la rate de souris rendues obèses par surnutrition (Winer et al. 2009).

L'examen de foie de souris rendues obèses ou issu de patients obèses a révélé une infiltration significative de Th17, et la neutralisation de l'IL-17 a permis de réduire l'inflammation hépatique. Les auteurs ont supposé que l'infiltration du foie par les Th17 inflammatoires pouvant être un facteur de risque pour la stéato-hépatite non alcoolique, qui est aussi un facteur de risque pour le cancer du foie (Tang et al. 2011).

E. Mécanismes d'induction des Th17 dans le tissu adipeux dans l'obésité

Le tissu adipeux en condition d'obésité constitue un environnement inflammatoire propice au recrutement des Th17 ou à la polarisation des LT en Th17 inflammatoires.

1. Rôle des macrophages dans l'induction des Th17

Le tissu adipeux en condition d'obésité est infiltré par des macrophages inflammatoires. En plus du $\text{TNF}\alpha$, les M1 sécrètent l'IL-1 β . Or l'IL-1 β , comme ce qui a été décrit dans le paragraphe précédent, participe à l'induction des Th17 pathogéniques. Ce raisonnement a conduit certains auteurs à suggérer que les macrophages présents dans le tissu adipeux jouent un rôle non négligeable dans l'induction des Th17. D'ailleurs plusieurs études ont montré une corrélation entre le nombre de M1 infiltrant le tissu adipeux et le nombre de Th17 en condition d'obésité.

Des co-cultures de CD3^{+} CD14^{+} autologues issues de sujets obèses montrent une amplification de la sécrétion d'IL-17 et d'IL-22. De plus, le traitement de CD3^{+} avec du milieu conditionné issu des CD14^{+} provoque une augmentation de la sécrétion d'IL-17 et d'IL-22, ce qui montre bien le rôle des facteurs sécrétés par les macrophages issus du tissu adipeux obèse sur l'activation des Th17. Des résultats similaires ont été obtenus sur des co-cultures autologues de cellules issues de sujet obèses diabétiques (OB/D). Les CD4^{+} issues du tissu adipeux de sujets OB/D montrent une augmentation de l'expression membranaire de l'IL-1R1, ce qui explique pourquoi le traitement des CD4^{+} avec de l'IL-1 β recombinante amplifie la sécrétion de l'IL-17 et de l'IL-22. De façon intéressante, les auteurs ont montré une augmentation du niveau protéique de l'IL-17RA et de l'IL-22RA1 (récepteur à l'IL-22) au niveau des CD14^{+} du TAv. L'augmentation du niveau de ces récepteurs cytokiniques et l'effet des cytokines recombinantes sur la sécrétion de cytokines inflammatoires montrent bien qu'il existe une boucle d'auto-amplification de l'inflammation dans laquelle l'IL-1 β sécrétée par les CD14^{+} du tissu adipeux agit au niveau des CD4^{+} IL-1R1 $^{+}$ du tissu adipeux qui vont à leur tour sécréter de l'IL-22 et de l'IL-17 et agir au niveau des CD14^{+} IL-17RA $^{+}$ IL-22RA1 $^{+}$ leurs faisant sécréter à nouveau de l'IL-1 β (Dalmas et al. 2014).

Les cytokines IL-1 β , IL-6 et IL-23 produites en excès par les macrophages du tissu adipeux ont été corrélées avec l'expansion des Th17 aussi bien chez l'obèse que chez les patients diabète de type 2 (L. Yang et al. 2008; Acosta-Rodriguez et al. 2007).

L'endotoxémie (LPS plasmatique) est augmentée dans l'obésité, et favorise la fibrose du TA. L'activation de TLR4, fortement exprimé sur les macrophages du TA, est nécessaire à la fibrose du tissu adipeux et à l'IR (Vila et al. 2014). Le $\text{TNF}\alpha$ sécrété par les macrophages du tissu adipeux est fortement augmenté dans l'obésité (Hotamisligil et al. 1993).

Iwamoto et al. ont montré que des monocytes humains cultivés en présence de $\text{TNF}\alpha$ pendant 7 jours et stimulés avec du LPS pendant 3 jours induisent des CD matures (dérivées des monocytes), sécrétant des niveaux importants de $\text{TNF}\alpha$. Des co-cultures de ces CD avec des CD4^{+} au repos

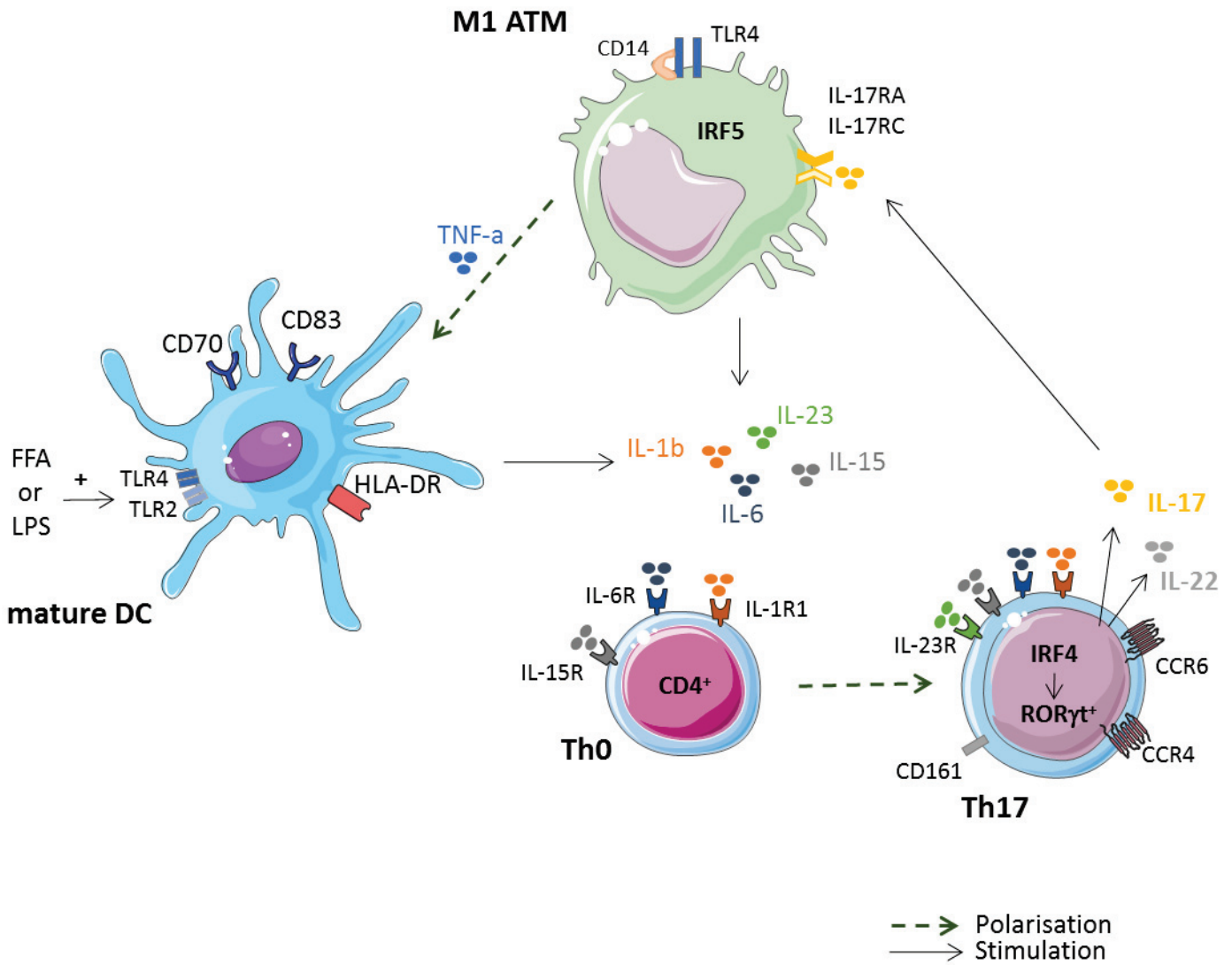


Figure 20 . Les macrophages inflammatoires de type M1 jouent un rôle majeur dans la polarisation des Th17 dans le tissu adipeux en condition d'obésité.

*D'après Chehimi et al. 2017, revue
PMID: 28708082*

pendant 6 jours, induisent des Th17 (Iwamoto et al. 2007). De plus, des CD dérivés de monocytes humains et stimulés avec du LPS sécrètent les cytokines pro-Th17, IL-1 β , IL-6 et IL-23 (Stelzner et al. 2016). On peut très bien imaginer ce type de scénario dans le tissu adipeux en condition d'obésité, du fait de l'augmentation du LPS.

IRF5, pour *interferon-regulatory factor 5*, est un marqueur des M1 pro-inflammatoires retrouvé dans le tissu adipeux et impliqué dans la sévérité de la maladie de l'obésité (Dalmas et al. 2014). De plus, la surexpression d'IRF5 a été associée à une induction des Th17 via la sécrétion d'IL-23 et d'IL-6 par les macrophages (Krausgruber et al. 2011). **Figure 20**

L'obésité a été associée à une augmentation de CCL20 plasmatique (Burke et al. 2015). De plus, il a été montré que les adipocytes matures sécrètent le CCL20, dont le taux est positivement corrélé avec l'IMC. Les taux de CCL20 sont plus importants dans le TAv que dans le TAsc. Les Th17 expriment fortement CCR6, seul récepteur actuellement connu à CCL20. Ces données permettent de comprendre comment les Th17 effecteur ou mémoires sont attirés vers le tissu adipeux dans l'obésité (Duffaut et al. 2009). De façon intéressante, les auteurs ont traité des adipocytes avec le milieu conditionné issu des macrophages du tissu adipeux obèse et ont montré que l'expression des ARNm CCL20 est significativement amplifiée par rapport au contrôle non traité. Ceci montre bien que les adipocytes collaborent avec les macrophages du tissu adipeux et induisent les Th17 à migrer vers le TAsc ou TAv (Duffaut et al. 2009).

2. Rôle du métabolisme glucidique et lipidique

L'obésité est associée à une augmentation des niveaux d'acides gras libres dans le tissu adipeux et la circulation. Un article récent a montré le lien entre FFA et induction des Th17 dans l'obésité. En effet, le groupe de chercheurs a montré que les FFA comme l'acide palmitique, vont stimuler les CD à sécréter des cytokines pro-Th17 comme l'IL-1 β , l'IL-6 et l'IL-23 (Stelzner et al. 2016). **Figure 20**

Le métabolisme des cellules immunitaires ou immuno-métabolisme module la balance entre cellules effectrices et régulatrices (Pearce et Pearce 2013). Les Th17, tout comme les autres cellules effectrices (Th1 et Th2), expriment fortement Glut1 à leur surface, ce qui les active lors de la glycolyse, tandis que les Tregs sont pauvres en Glut1 et utilisent plutôt la voie de l'oxydation lipidique (Michalek et al. 2011). Comme expliqué dans les paragraphes précédents, l'hypoxie provoque l'inflammation dans le tissu adipeux des sujets obèses et induit l'augmentation du facteur de transcription hypoxia-inducible factor 1a, HIF-1 α , dans le tissu adipeux (Trayhurn 2014). HIF-

1 α est un activateur du métabolisme glycolytique, qui augmente le nombre de Th17 et diminue la genèse des Tregs (Shi et al. 2011). L'augmentation de la glycolyse, associée à d'autres facteurs environnementaux, permettent de comprendre comment les Th17 sont augmentés dans le tissu adipeux et en périphérie dans l'obésité.

Le métabolisme lipidique est aussi impliqué dans la régulation de l'inflammation. Ainsi, il a récemment été montré que l'enzyme acétyl-coA carboxylase 1 ou ACC1 (ACACA), impliqué dans la synthèse des AG, est augmentée en cas d'un régime gras et régule positivement la différenciation des Th17 en favorisant la liaison de ROR γ t au niveau du locus du gène de l'IL-17A, chez l'Homme et la souris. En effet, les auteurs ont montré une forte corrélation entre ACACA et le nombre de Th17 mémoires chez les sujets obèses (Endo et al. 2015). L'obésité exacerbe le nombre de Th17 et l'inflammation du tissu adipeux. **Figure 21**

Une des caractéristiques de l'obésité est l'augmentation des lipides saturés et du cholestérol. De façon intéressante, l'étude du lipidome des Th17 non-pathogéniques (différenciés avec IL-6 + TGF- β 1) versus pathogéniques (différenciés avec IL-6 + TGF- β 1 + IL-23) a montré que les Th17 non-pathogéniques présentent au sein de leur phospholipides membranaires un déséquilibre de la balance des AG, en faveur des acides gras poly-insaturés (PUFA). Cette balance est régulée par l'expression de CD5L cytosolique dont l'absence (CD5L^{-/-}) est liée à une augmentation du pool d'acides gras saturés (SFA) et au « switch » des LT vers les Th17 pathogéniques (C. Wang et al. 2015). Les PUFA ou SFA pourraient être des ligands de ROR γ t, et donc pourraient jouer un rôle de régulateur de l'activation des Th17. Par ailleurs, CD5L inhibe les Th17 pathogéniques en inhibant la voie de synthèse du cholestérol, en modulant la disponibilité des dérivés du cholestérol, ligands de ROR γ t, ce qui réduirait l'activité de ROR γ t au niveau des promoteurs de l'il17 et de l'il23r. De plus, Wang et al. ont montré que sous l'influence de CD5L ou des PUFA, ROR γ t peut transactiver l'expression de l'IL-10 dans les Th17, réduisant ainsi la pathogénicité des Th17 (C. Wang et al. 2015).

CD5L, un nouveau marqueur des Th17 non-pathogéniques, régule l'expression de l'IL-23R, de l'IL-17, de l'IL-10, et donc de la pathogénicité des Th17, en affectant la liaison de ROR γ t à ses ligands à travers la régulation de la balance SFA/PUFA et de la synthèse du cholestérol.

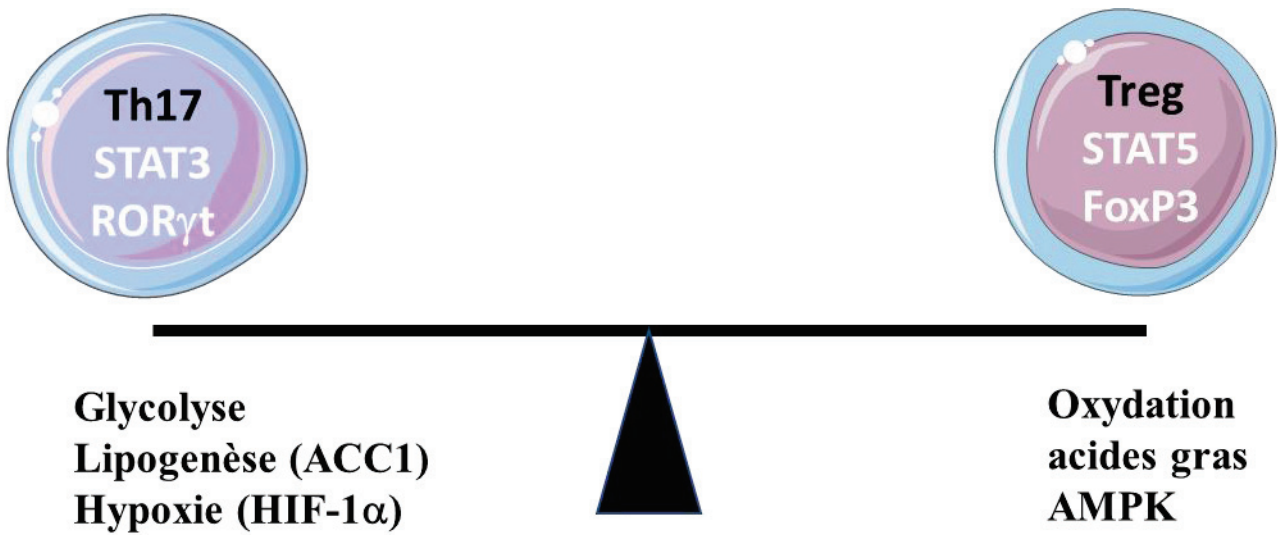


Figure 21. Rôle de l'immuno-métabolisme dans la polarisation des Th17 ou des Treg

La saturation du compartiment lipidique peut promouvoir les Th17 pathogéniques alors qu'une augmentation du pool de PUFA et la baisse du cholestérol inhibent la fonction effectrice des Th17.

F. L'obésité amplifie d'autres cellules sécrétrices d'IL-17 dans le TA

En dehors des Th17 qui appartiennent clairement à l'immunité adaptative, d'autres cellules non CD4⁺ Th17 sécrètent l'IL-17. Il s'agit des $\gamma\delta$ T17 (lymphocytes $\gamma\delta$ T sécrétant l'IL-17) et des MAIT (mucosal-associated invariant T) qui appartiennent à l'immunité innée.

A la différence des LT dits conventionnels qui possèdent un TCR avec des chaînes α et β , les lymphocytes $\gamma\delta$ T expriment les chaînes γ et δ et sont CD4⁻ et CD8⁻ (Chehimi et al). Plusieurs études ont montré l'existence des $\gamma\delta$ T au sein du tissu adipeux (Caspar-Bauguil et al. 2009; Zúñiga et al. 2010a). Zuniga et al. ont montré que la plupart de l'IL-17 retrouvé dans le tissu adipeux murin provient des CD4⁻ CD8⁻ $\gamma\delta$ T. L'IL-17 sécrétée, provoque de l'inflammation, réduit l'adipogenèse et altère le métabolisme adipocytaire du tissu adipeux obèse (Zúñiga et al. 2010a).

Les MAIT, sont des LT non conventionnels qui expriment une chaîne α semi-invariante du TCR et sont restreints aux CMH-I MR1. Elles peuvent sécréter l'IL-2, l'IFN γ , le granzyme B et surtout l'IL-17. Les MAIT se trouvent dans le sang circulant, la muqueuse intestinale et abondamment dans le foie (jusqu'à 45 % des lymphocytes hépatiques) (Dusseaux et al. 2011). L'obésité altère la fréquence et le phénotype des MAIT circulants (Carolan et al. 2015). Les équipes d'Agnès Lehuen et de Karine Clément ont émis l'hypothèse d'une dérégulation de la localisation de ces MAIT dans l'obésité et le diabète de type 2 en faveur du tissu adipeux (Magalhaes et al. 2015a). En effet, il a été montré que les MAIT du sang circulant de patients obèses et de certains diabétiques, sont significativement diminués par rapport aux sujets contrôles, avec pour certains une fréquence indétectable de MAIT circulants. De plus, les MAIT sécrétant l'IL-17 ont été retrouvés fortement concentrés dans le tissu adipeux de ces sujets. La sécrétion accrue de CCL20 par les adipocytes semble être en lien avec le recrutement des MAIT à partir du sang circulant. Enfin, les auteurs ont montré qu'une perte de poids associée à une amélioration des paramètres métaboliques est corrélée à une ré-augmentation significative de la fréquence des MAIT sanguins, avec une réduction de la sécrétion d'IL-2 et de granzyme B. En revanche, les taux d'IL-17 circulants restent relativement élevés en comparaison aux sujets contrôles même un an après l'intervention chirurgicale (chirurgie bariatrique) (Magalhaes et Lehuen 2015).

VI. LES CELLULES SOUCHES ADIPOCYTAIRES PARTICIPENT-ELLES A L'INFLAMMATION DU TISSU ADIPEUX EN CONDITION D'OBESITE ?

Spalding et al. ont déterminé que 10% des adipocytes sont renouvelés chaque année (« turnover »), pour remplacer les adipocytes morts, quel que soit l'âge de l'adulte et son IMC (*Spalding et al. 2008*). Ces observations montrent bien l'existence de cellules souches progénitrices des adipocytes dans le tissu adipeux. Ces cellules sont appelées cellules souches adipocytaires (CSA) ou « adipose-derived stem cells » (ASC), et sont retrouvées dans le SVF du tissu adipeux. Dans la littérature, les CSA sont aussi appelées cellules souches mésenchymateuses (MSC) du tissu adipeux (AT-MSC).

De façon générale, et à l'inverse des cellules souches embryonnaires, dont l'utilisation en thérapie cellulaire est controversée de par leurs origines, les MSC sont des cellules souches adultes qui exercent un rôle de soutien nutritif et de renouvellement des cellules dans les différents tissus. En plus de fournir les cellules souches hématopoïétiques, la moelle osseuse contient une réserve importante de MSC, découverte pour la première fois en 1968 par Friedenstein et al. Ces cellules multipotentes ont aussi été isolées dans d'autres tissus adultes comme le tissu adipeux, la peau, le poumon, la membrane synoviale de l'articulation, la pulpe dentaire, la muqueuse nasale, le cuir chevelu, le muscle, l'endomètre et les menstruations, le col de l'utérus et même à partir du lait maternel; suggérant une répartition ubiquitaire des MSC (*Vizoso et al. 2017*).

Les MSC ont suscité un intérêt majeur du fait de leurs propriétés régénératrices et immunomodulatrices. Ces propriétés font d'elles des candidats thérapeutiques potentiels dans la prévention et le traitement de maladies auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde, sclérose en plaques et d'autres), la réaction de rejet de greffe et la réaction du greffon contre l'hôte. Dans ce chapitre, le rôle des MSC dans l'immunomodulation de l'inflammation sera discuté.

A. Les cellules souches mésenchymateuses sont des acteurs majeurs de l'immunomodulation

1. Caractérisation des MSC

“The International Society for Cellular Therapy” a défini les 3 critères minimaux permettant de définir si une cellule est une MSC. Les 3 critères sont : 1) leurs capacités à adhérer au plastique d’une boîte dans des conditions de culture *in vitro* ; 2) toutes les MSC expriment au moins les marqueurs CD73, CD90 et CD105 et sont négatives pour les marqueurs de la lignée hématopoïétique CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79, CD19 et HLA-DR (CMH-II) ; 3) et enfin leurs capacités de différenciation *in vitro* en adipocytes, chondrocytes ou ostéoblastes (*Galipeau et al. 2016; Dominici et al. 2006*).

2. Immunogénicité des MSC

En plus de leur plasticité, les MSC sont dites « tolérogènes » car elles n’induisent pas de réaction de rejet, lorsqu’elles sont injectées chez l’animal ou l’Homme exprimant des molécules HLA différentes. Ce phénomène est lié à la faible expression, au niveau de la surface des MSC, des molécules HLA de classe I et l’absence totale des molécules de co-stimulation (CD80/CD86 et CD40/CD40L), ce qui empêche le déclenchement d’une réponse lymphocytaire. Les molécules HLA de classe II ne sont pas exprimées à la surface cellulaire, mais stockées en intracellulaire. La stimulation pendant 48h avec de l’IFN γ , induit leur expression à la membrane dans 90% des cas (*Le Blanc et al. 2003; Cui et al. 2007*). Cependant, malgré l’expression des molécules HLA de classe II, les MSC n’induisent pas l’activation des LT alloréactifs. Les MSC différenciées ou non, et même en présence d’un environnement inflammatoire, comme c’est le cas dans les maladies inflammatoires et auto-immunes, immunosuppriment la réponse immunitaire (*Le Blanc et al. 2003*).

3. Les MSC immunosuppriment la réponse lymphocytaire

Un grand nombre de travaux basés sur la compréhension du rôle des MSC dans l’immunosuppression de l’inflammation ont montré la capacité des MSC à inhiber la réponse immunitaire : i) les MSC suppriment la prolifération des lymphocytes, la sécrétion de cytokines (IL-12, TNF α et IFN γ) et la fonction cytotoxique des LT (CD4⁺/CD8⁺) et régulent la balance Th1/Th2 (*Ren et al. 2008a; Beyth et al. 2005; Ryan et al. 2007; Zappia et al. 2005; Di Nicola et al. 2002; Krampera et al. 2003*); ii) les MSC amplifient les LT régulateurs (Treg) (*Ryan et al. 2007; Selmani et al. 2008; Han et al. 2011; English et al. 2009*); iii) les MSC peuvent altérer la production d’anticorps par les lymphocytes B (*Corcione et al. 2006*); iv) les MSC inhibent la maturation et la présentation de l’antigène des CPA (macrophages ou CD) (*Beyth et al. 2005*); v) les MSC peuvent inhiber l’activation des NK (*Selmani et al. 2008; Spaggiari et al. 2006*).

La culture d'un mélange de lymphocytes T allogéniques (issus de donneurs différents) induit la prolifération de ces LT, témoin d'une réponse lymphocytaire similaire à celle observée lors d'une greffe allogénique (donneur et receveur différents). Les MSC inhibent l'activation et la prolifération des LT allogéniques naïfs ou mémoires (*Le Blanc et al. 2003; Tse et al. 2003; Bartholomew et al. 2002; Krampera et al. 2003*). Une fois que les MSC sont retirées de la culture, la réactivité des LT allogéniques est restaurée, ce qui suggère que l'inhibition est transitoire et n'implique pas une apoptose des LT (*Krampera et al. 2003; Di Nicola et al. 2002*). D'ailleurs, l'administration de MSC à des animaux ayant reçu une greffe de peau prolonge la survie du greffon et retarde la réaction de rejet de greffe, grâce à l'inhibition de la réaction allogénique (*Bartholomew et al. 2002*). De même, l'injection de MSC à un modèle murin de sclérose en plaques rend les LT anergiques (incapables de répondre à une stimulation) et réduit la sévérité de la maladie (*Zappia et al. 2005*).

Les MSC inhibent aussi la différenciation des Th17 et inhibent la sécrétion des cytokines IL-17 et IL-22 à partir des Th17 différenciés. Les MSC sécrètent constitutivement PGE2, mais sa production est fortement amplifiée par le contact avec les Th17. Les MSC inhibent donc les Th17 à travers la sécrétion de PGE2 (*Ghannam et al. 2010a*). De façon intéressante, les MSC sont capables de transformer des Th17 matures (RORC⁺) en Treg fonctionnels (FOXP3⁺) sous l'influence de la PGE2. Plus précisément, les MSC induisent des modifications épigénétiques au niveau de l'histone 3 des régions promotrices RORC et FOXP3, induisant l'activation génique de FOXP3 contre l'inhibition de l'expression de RORC (*Ghannam et al. 2010a*). *In vitro*, les MSC inhibent la différenciation des Th1 et des Th17 et induisent la différenciation des Treg (iTreg). Le nombre de iTreg dépend du ratio MSC :LT (meilleur rendement à 1 :10 que 1 :100) (*Luz-Crawford et al. 2013*). *Luz-Crawford et al.* ont montré que l'effet bénéfique de l'administration de MSC dans un modèle murin de sclérose en plaques est lié à l'inhibition des Th17 et à l'induction des Treg (*Luz-Crawford et al. 2013*).

4. Mécanismes d'action des MSC

Les MSC ont besoin de recevoir un signal provenant de cytokines pro-inflammatoires pour déclencher une action immunosuppressive envers leurs cibles. On parle d'activation préliminaire. En effet, *Benvenuto et al.* ont montré qu'en cas de stress conduisant à l'apoptose, les MSC induisent la survie des LT et les sauvent de la mort, via une down-régulation des molécules FAS et FASL (*Benvenuto et al. 2007*). De plus, un environnement inflammatoire enrichi en IFN γ seul ou

en combinaison avec le TNF α ou l'IL-1 β modifie la fonction des MSC, les rendant immunosuppressives (Krampera et al. 2006; Ren et al. 2008a). Par ailleurs, des MSC issues de souris déficientes en IFN γ R1 ne sont pas capables d'immunomoduler la réponse T, pointant du doigt le rôle majeur de l'IFN γ dans l'induction de l'activité immunosuppressive des MSC, cette cytokine étant responsable de l'augmentation de NO, via l'activation d'iNOS (Ren et al. 2008a). Enfin, L'IL-6 est nécessaire à l'induction des Treg en présence de MSC (Najar et al. 2009). **Figure 22**

a) Immunomodulation à travers la production de facteurs solubles

Les MSC expriment et sécrètent constitutivement, dans le surnageant de cellules cultivées *in-vitro*, des facteurs anti-inflammatoires comme le TGF- β , l'IL-10, l'Hepatocyte Growth Factor (Ryan et al. 2007), à des concentrations immunosuppressives. Ces facteurs isolés ou en combinaison suffisent à inhiber la prolifération des LT alloréactifs. Les MSC expriment également COX1 et COX2 de manière constitutive, et induisent la sécrétion de PGE2, qui lorsqu'elle est déplétée de la co-culture LT-MS, empêche l'effet immunosuppresseur des MSC. De plus, l'utilisation de l'aspirine, un inhibiteur irréversible des COX, supprime l'effet anti-prolifératif des MSC (Ryan et al. 2007). La PGE2 sécrétée par les MSC agit au niveau des macrophages et stimule la synthèse d'IL-10 mais aussi au niveau des monocytes en les empêchant de se différencier en CD (Németh et al. 2009; Spaggiari et al. 2009). L'IFN γ sécrétée par les cellules inflammatoires activées, stimule les MSC à sécréter davantage ces facteurs immunosuppresseurs contribuant ainsi à réduire la prolifération des cellules pro-inflammatoires et donc à inhiber l'inflammation (Krampera et al. 2006; Ryan et al. 2007; DelaRosa et al. 2009; Mellor et Munn 2004).

Parmi les facteurs sécrétés par les MSC, l'indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO) a été décrite comme immunosuppressive. L'IDO, une enzyme inductible, notamment par l'IFN γ (Chon, Hassanain, et Gupta 1996), catabolise le tryptophane en divers métabolites toxiques pour les LT, comme la kynurenine. La réduction du niveau local de tryptophane, un acide-aminé essentiel à la prolifération cellulaire, et surtout l'accumulation de métabolites toxiques pour les LT sont à l'origine de l'effet anti-prolifératif des MSC (Ryan et al. 2007).

L'IFN γ seul ou en combinaison avec le TNF α ou l'IL-1 β , stimule l'activité iNOS des MSC, la production de NO et la suppression de la réponse lymphocytaire (Ren et al. 2008a). Le NO ne peut agir que si la cellule le sécrétant est à proximité étroite avec sa cible. Les auteurs ont montré que les cytokines pro-inflammatoires induisent la production de concentrations élevées de

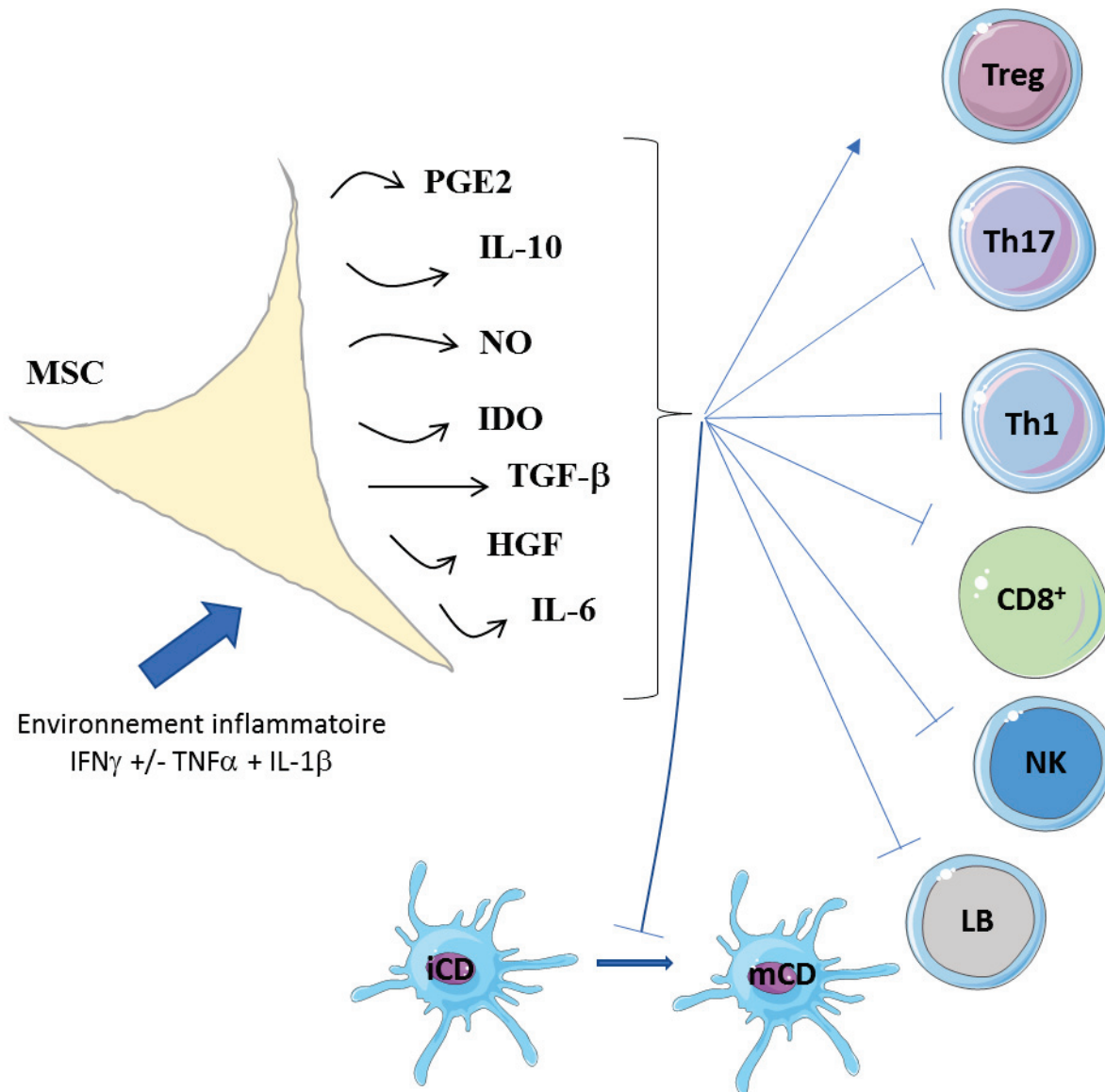


Figure 22: Les MSC activées par un environnement inflammatoire, immunomodulent l'inflammation via la sécrétion de facteurs immunosuppresseurs

chémokines (CXCL9/CXCL10) par les MSC, attirant ainsi les LT (exprimant CXCR3) à proximité des MSC. En retour, ces dernières inhibent la sécrétion d'IFN γ et de TNF α par les LT, mettant ainsi fin à l'inflammation. (Ren et al. 2008a).

Le traitement d'un mélange de lymphocytes T alloréactifs avec du surnageant de MSC en culture, inhibe considérablement l'activation et la prolifération des LT, rendant ainsi les cellules anergiques (Ryan et al. 2007). La sécrétion de facteurs solubles par les MSC peut suffire à l'immunosuppression. Le contact cellulaire peut renforcer cet effet.

b) Immunomodulation à travers un contact cellulaire direct

L'utilisation d'un filtre « Transwell » empêchant le contact cellulaire, a permis de montrer l'importance de l'interaction cellulaire dans l'action immunosuppressive des MSC envers les LT (Ren et al. 2008b). Trois autres équipes ont montré l'importance du contact cellulaire entre MSC et LT pour permettre aux MSC de réduire la prolifération et l'activation des LT, et induire les LT régulateurs (Han et al. 2011; Krampera et al. 2006; English et al. 2009).

Ren et al. ont montré que la capacité immunomodulatrice des MSC était amplifiée lorsque l'expression membranaire des molécules d'adhésion ICAM-1 et VCAM-1 l'était. L'IFN γ , l'IL-1 β et le TNF α amplifient l'expression de ces molécules et contribuent ainsi à la suppression de la réponse T (Ren et al. 2010).

Les MSC inhibent indirectement la réponse T en inhibant la maturation des CPA (ex. CD ou macrophages). En effet, il a été montré que les MSC empêchent l'expression des molécules HLA-DR (CMH II), empêchant ainsi d'apprêter l'antigène et de le présenter aux TCR des LT. Cependant, les MSC ne semblent pas affecter l'expression des molécules de co-stimulation comme la molécule CD86. La stimulation des CPA par des facteurs comme le LPS ou un anti-CD40, lève l'immunosuppression induite par les MSC (Beyth et al. 2005). De plus, Sheng et al. (Sheng et al. 2008) ont montré que l'IFN γ induit une surexpression de PD-L1, une molécule inhibitrice au niveau des MSC (aussi appelée B7-H1, qui se lie au PD1 des LT), et contribue ainsi à l'inhibition de l'activation des CD4⁺ et CD8⁺, par contact cellulaire. Ces auteurs ont montré que l'inhibition de PD-L1 par interférence (Si RNA), abolit l'effet inhibiteur des MSC sur les LT, montrant ainsi le rôle majeur de cette molécule membranaire dans l'activité des MSC.

B. Les cellules souches adipocytaires, une alternative à l'utilisation des MSC de la MO

Une alternative à l'utilisation des MSC issues de la MO en Thérapie cellulaire est l'utilisation des MSC issues du tissu adipeux (CSA), tissu retrouvé en abondance chez les personnes en surpoids, facile à récupérer (liposuccion) et ne requérant pas d'anesthésie générale. Les MSC représentent entre 0,01% à 0,0001% des cellules nucléées de la MO (Pittenger et al. 1999) tandis que les CSA sont 100 à 500 fois plus abondant dans le tissu adipeux (Casteilla 2011). Le volume de MO prélevé sous anesthésie locale ne dépasse pas 40 mL chez l'adulte, et contient environ $2,4 \cdot 10^4$ MSC ; alors qu'au moins 200 mL de tissu adipeux peuvent être prélevés par l'intermédiaire de la liposuccion, et contiennent approximativement $75 \cdot 10^6$ CSA (G. Yu et al. 2010). Sachant que des litres peuvent être récupérés par l'intermédiaire de la liposuccion, il est tout à fait possible de récolter plus de $375 \cdot 10^6$ de CSA par litre de lipoaspirat (G. Yu et al. 2010).

De plus, il y a plus de CSA dans le tissu adipeux que de MSC dans la MO, ce qui fait que l'expansion de ces cellules *in vitro* permettra d'obtenir rapidement la dose de CSA thérapeutique avec un faible nombre de passage.

1. Caractérisation et localisation des CSA du tissu adipeux

Les CSA ont une forme fibroblastique (« fibroblasts-like cells ») fusiforme ou étoilée avec des prolongements très fins. Les CSA peuvent être isolées à partir de dépôts de tissu adipeux récoltés soit à partir de la chirurgie bariatrique ou récoltés à partir de la liposuccion (Patricia A. Zuk et al. 2002). Après dissociation du tissu adipeux par traitement à la collagénase, la fraction stromale vasculaire (stromal vascular fraction ou SVF) est directementensemencée dans des flasques de culture cellulaire, à 37°C. Les CSA vont adhérer au fond de la boîte, ce qui permet de les isoler du reste des cellules du SVF, comme les cellules mononucléées. Peuvent également adhérer les fibroblastes, de morphologie similaire aux cellules souches mais incapables de se différencier (Pittenger et al. 1999). La technique du « fibroblastoid colony-forming unit » (CFU-F) est un test

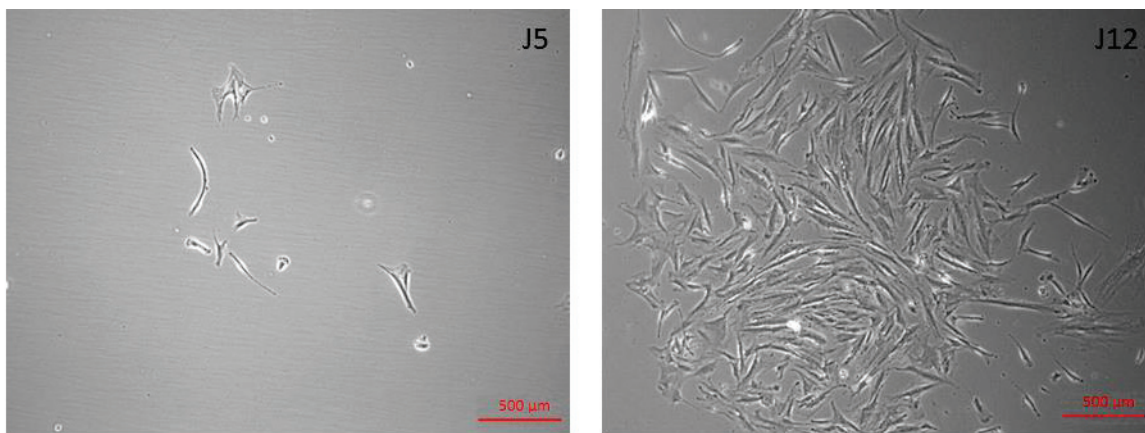


Figure 23: La technique du CFU-F permet de déterminer le nombre de cellules souches. Ensemencement de 100 cellules par cm^2 , soit 7500 cellules dans une flasque de 75 cm^2 . Ces photos ont été prises à 5 jours (à gauche) et 12 jours (à droite) de prolifération. Une cellule progénitrice es à l'origine de ces cellules souches. A 12 jours, ces cellules sont récoltées et ensemencées à plus forte densité pour prolifération.

Données personnelles

standard permettant de définir le nombre de cellules progénitrices. L'ensemencement à faible densité des cellules du SVF (40-400 cellules / cm²) permettent à chaque clone progéniteur de pousser séparément et donner naissance à des cellules souches filles. La prolifération de ces CFU-F requiert 11 à 14 jours et doit donner plus de 50 cellules filles par clone (Bourin et al. 2013). **Figure 23**

Les marqueurs des CSA

Les CSA expriment d'autres marqueurs communs aux MSC de la MO : CD9, CD10, CD13, CD49e, CD54 (ICAM-1) et CD166 (ITGA5). Cependant, il existe au moins une différence sur le plan phénotypique entre les 2 cellules. Les CSA du SVF, fraîchement isolées, expriment le marqueur CD34+, dont l'expression est rapidement diminuée dès que les cellules prolifèrent en culture (M Maumus et al. 2011; Karina R. Silva et al. 2015a). **Tableau 4**

La propriété de multipotence des CSA

En plus des adipocytes, des chondrocytes et des ostéoblastes, les CSA sont capables de se différencier en différents types cellulaires *in vivo* et *in vitro*. Les CSA peuvent donner des myocytes, des neurones, des cellules endothéliales, des cellules épithéliales, des hépatocytes et des cellules β -pancréatiques, permettant ainsi aux CSA de pourvoir les tissus en cellules spécialisées (Gimble, Katz, et Bunnell 2007; P. A. Zuk et al. 2001; Ruiz et al. 2010). **Tableau 4**

Localisation

Des observations histologiques grâce à des chambres transparentes implantées sur des oreilles de lapins ont permis de suivre la formation de nouveaux adipocytes. Les auteurs ont montré que les premiers adipocytes se forment à proximité immédiate de la vascularisation, ce qui leur a permis de suggérer que la niche des cellules progénitrices se trouvent en périvasculaire (Clark et Clark 1940) **Figure 24**. Par la suite, les travaux de Hollenberg et Vost ont permis de valider la localisation des CSA dans le SVF du TA. En effet, le suivi dans le temps de l'incorporation de la thymidine tritiée a montré que la radioactivité qui se trouvait initialement dans le SVF (plus précisément dans les CSA) s'est propagée vers les adipocytes matures, signe d'une adipogenèse (Hollenberg et Vost 1969). Ces observations ont aussi été faites en utilisant des fragments intacts de tissus adipeux humains (M Maumus et al. 2011). La proximité des CSA avec le système sanguin permet d'expliquer leurs contributions dans l'angiogenèse ou la réparation vasculaire en condition ischémique (Planat-Benard et al. 2004).

Marqueurs de surface	Capacité de différenciation <i>in vitro</i>	Capacité de différenciation <i>in vivo</i>
Sca-1, HLA-ABC (CMH-I), CD73, CD90, CD105, CD9, CD10, CD13, CD29, CD71, CD166, CD49a, CD49b, CD49d, CD49e, CD54	adipocyte (blanc ou brun); ostéoblaste; chondrocyte; myocyte (squelettique ou strié); hépatocyte; cellule endothéliale; cellule β -pancréatique	adipocyte (blanc ou brun); ostéoblaste; chondrocyte; myocyte (squelettique ou strié); hépatocyte; cellule endothéliale; cellule neurale

Tableau 4: Marqueurs de surface et capacité de différenciation des CSA

Crawthorn et al. 2012

PMID: 22140268

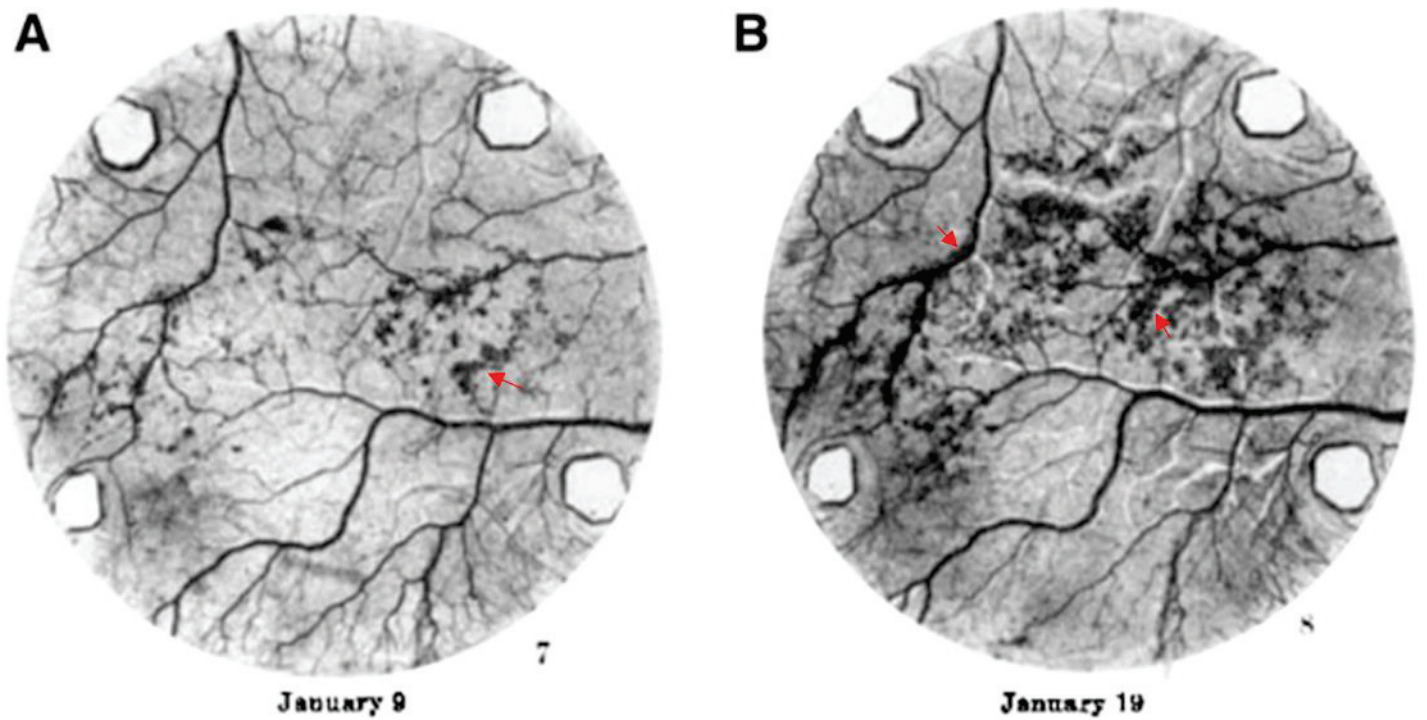


Figure 24: les cellules souches adipocytaires se trouvent à proximité de la vascularisation au sein du tissu adipeux. Suivi dans le temps de la formation de nouveaux adipocytes (flèches), à proximité étroite de la vascularisation grâce à une chambre implantée derrière l'oreille d'un lapin vivant.

*D'après Cawthorn et al. 2012
PMID: 22140268*

De façon comparable aux MSC de la MO (BM-MSc), les CSA sont vouées de capacités immunomodulatrices aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* (Yañez et al. 2006; Puissant et al. 2005)

2. Les CSA du tissu adipeux sont aussi capables d'immunomoduler l'inflammation : exemple de plusieurs pathologies

Les CSA et les BM-MSc ont les mêmes propriétés de différenciation et d'immunomodulation (Melief et al. 2013; Peroni et al. 2008). Une étude comparative des CSA et des BM-MSc, a permis de montrer que les CSA ont une plus grande capacité immunomodulatrice par rapport aux BM-MSc, et que cet effet serait lié au niveau élevé de sécrétion d'IL-6 et TGF- β par les CSA, facteurs impliqués dans l'immunomodulation (Melief et al. 2013).

a) Effet des CSA sur l'inhibition de la prolifération et de la réponse des CMN

Des réactions de co-culture de CSA humaines avec des cellules mononucléées (CMN) ou des LT activés par un mitogène (ex. Concavaline A ou phytohéماغglutinine) ont permis de montrer que les CSA inhibent de façon significative et dose dépendante la prolifération des LT et des CMN totaux (J.-H. Kim et al. 2014; Cui et al. 2007; L. Zhang et al. 2017). Un faible ratio de CSA : CMN (1 :100) est capable d'inhiber significativement la prolifération des CMN, alors qu'un ratio d'1 :30 permet l'inhibition drastique de la sécrétion d'IFN- γ et de TNF- α . Un ratio d'1 :3 est nécessaire à l'inhibition de la production d'IL-12 (Melief et al. 2013). De plus, l'ajout de CSA humaines à une lignée de macrophages murins stimulés par le LPS (ratio 1 : 10) inhibe la sécrétion d'IL-1 β , de TNF- α et d'IL-6.

En raison de leurs propriétés immunomodulatrices les CSA constituent un outil thérapeutique potentiel pour plusieurs maladies inflammatoires chroniques et/ou auto-immunes.

b) Les CSA constituent un outil thérapeutique pour les maladies auto-immunes

Les CSA, via l'inhibition des Th1/Th17 et des cytokines IL-1 β et IL-6, ont un effet positif sur certaines maladies auto-immunes (X. Li et al. 2016; M.-J. Park et al. 2015; Y. Zhou et al. 2011). Les CSA inhibent le rejet de greffe et induisent la tolérance (Larocca et al. 2013).

La polyarthrite rhumatoïde (PR)

La PR est une maladie auto-immune et chronique qui affecte les articulations. Elle se traduit par une inflammation chronique des articulations liée à une infiltration massive de cellules inflammatoires dans la membrane synoviale.

Les CSA ont montré une efficacité dans l'inhibition de l'inflammation médiée par les CMN issues de patients atteints de PR, en inhibant le nombre de cellules sécrétant l'IL-17 (Th17) et en amplifiant le nombre de cellules sécrétant TGF- β (Treg) (Baharlou et al. 2017). D'autres chercheurs ont montré des résultats similaires chez la souris (González et al. 2009). En plus de leur capacité à inhiber la population de Th17 pro-inflammatoire, les CSA sont capables de les rendre régulatrices en leur faisant sécréter de l'IL-10 et ainsi d'inhiber l'inflammation et la sévérité de la maladie (Lopez-Santalla et al. 2015). Très récemment, l'injection de $2 \cdot 10^6$ CSA humaines (pendant 5 jours) chez des souris atteintes de PR, a montré une réduction des cytokines inflammatoires plasmatique ainsi qu'une augmentation des Treg dans le sang périphérique et dans la rate. Après analyse, les CSA injectées en intraveineux ont été retrouvées dans l'articulation, ce qui suggère que les CSA sont attirées vers les sites inflammatoires pour exercer leurs actions immunomodulatrices (L. Zhang et al. 2017). Les CSA sont aussi capables d'induire des monocytes anti-inflammatoires sécrétant l'IL-10, retardant ainsi le déclenchement de la PR (Lopez-Santalla et al. 2016). Clairement, les CSA influencent le phénotype inflammatoire des cellules en modifiant leur phénotype inflammatoire vers un phénotype plutôt tolérogène.

De façon intéressante, l'effet thérapeutique des CSA dépend de l'avancée de la maladie. Des CSA injectés précocement sont capables de stopper la progression de la maladie (inhibition de la sécrétion de l'IL-6, l'IL-17, du TNF α et de l'IFN γ), alors que des CSA injectées à un stade très avancé de la maladie n'ont aucun effet thérapeutique et semblent même aggraver la maladie (Kim et al. 2014).

La sclérose en plaques

La sclérose en plaques est une maladie inflammatoire chronique et auto-immune responsables de la démyélinisation de la substance blanche du système nerveux central (SNC), avec pour conséquences une paralysie progressive.

L'administration (en IP ou en IV) de CSA murines dans un modèle murin de sclérose en plaques retarde le déclenchement de la maladie, réduit la démyélinisation ainsi que l'inflammation du SNC. L'effet dépend de la dose de CSA injectées. Après injection, les CSA ont été retrouvées

dans la moelle épinière, le cerveau et les ganglions lymphatiques (Constantin et al. 2009; Payne et al. 2013). Une autre publication a montré que des CSA d'origine humaines, injectées par la veine porte ont été localisées dans la rate des animaux malades, et ont provoqué une diminution de la population des Th17 associée à une amplification des Treg spléniques, ce qui a entraîné une réduction significative des lésions neurologiques (Jia Li et al. 2017). L'administration de CSA chez la souris atteinte de sclérose en plaques a significativement réduit l'infiltration des cellules inflammatoires dans le SNC et l'expression des cytokines inflammatoires plasmatiques (Semon et al. 2014). La réduction des lésions neurologiques n'est pas juste liée à une inhibition de l'environnement inflammatoire mais aussi à la capacité des CSA à régénérer ce tissu. En effet, les CSA (via la sécrétion de β -FGF et BDNF entres-autres) induisent la neuro-régénération et l'augmentation du nombre de progéniteurs endogènes capables de se différencier en oligodendrocytes, responsables de la synthèse de la myéline (Constantin et al. 2009). Les CSA injectés expriment activement la molécule d'adhésion α 4-integrin (CD49d), une des sous-unités de VLA-4, le ligand de VCAM-1, leur permettant ainsi d'adhérer à l'endothélium du SNC inflammatoire et de s'y accumuler (Constantin et al. 2009).

c) *Le « Homing » des CSA*

La capacité des CSA à migrer et à coloniser des tissus s'appelle le « Homing ». Ce phénomène est rendu possible par l'expression des récepteurs de facteurs trophiques comme CCR1, CCR7, CCR9, CXCR4, CXCR5, CXCR6, CXCR7 mais aussi des récepteurs de facteurs de croissance. Les CSA et les MSC au sens large migrent suivant le gradient de concentration en réponse aux chémokines et cytokines. Des expériences menées *in vitro* ont montré que les CSA /MSC migrent en réponse à différentes chémokines [Rantes (CCL5), MCP-1 (CCL2), MIP-3 β (CCL19), CCL20, SDF-1 α (CXCL12), CXCL8, CX3CL1] et facteurs de croissance (EGF, β FGF, HGF, TGF- β 1, IGF-1, PDGF-AB et TNF α). D'ailleurs une stimulation préalable des cellules aux TNF α amplifie leurs capacités migratoires en réponse à ces facteurs (Baek, Kang, et Ra 2011; Honczarenko et al. 2006; Sordi et al. 2005; Q. Li et al. 2013). De façon intéressante, un nombre de passage élevé (12 à 16 passages) provoque une perte d'expression des récepteurs de surface qui est accompagné d'une réduction de l'expression d'ICAM et VCAM (Honczarenko et al. 2006). Ceci peut avoir pour conséquence une inhibition de l'interaction entre les CSA/MS et les cellules de l'immunité, engendrant une réduction des propriétés immunomodulatrices des cellules souches.

La découverte des CSA injectées en IV ou en IP au sein des sites lésés et inflammatoires nous laisse supposer que les CSA ont besoin d'être à proximité de leurs cibles afin d'exercer l'immunomodulation et la régénération. Le contact n'étant pas indispensable, l'environnement local et systémique généré par les CSA semble être important.

d) Mécanisme d'action des CSA

Un des mécanismes de régulation possible est l'action des CSA sur la fonction même des CPA en modulant la maturation phénotypique, la sécrétion de cytokines inflammatoires et la présentation de l'antigène par les CPA (Payne et al. 2013). La modulation des CPA entraîne l'inhibition de l'induction des Th1/Th17 pro-inflammatoires et la polarisation des Treg.

Comme pour les MSC de la MO, les CSA immunomodulent la réponse immunitaire à travers l'interaction cellule-cellule et/ ou par la sécrétion de facteurs solubles. Les CSA, séparé des LT par un filtre, sont quand même capables d'inhiber la prolifération des LT, via la sécrétion de la PGE2 (Cui et al. 2007). Le milieu conditionné à lui seul est capable d'immunomoduler la réponse cellulaire.

Ainsi, en condition pathogénique, l'injection des CSA issues de sujets sains, est capable d'inhiber l'inflammation induite par des LT activés comme les Th17 (sécrétant l'IL-17) et les Th1 (sécrétant IFN γ et TNF α), les macrophages (sécrétant l'IL-1 β) et d'amplifier le nombre de LT régulateurs (sécrétant l'IL-10 et le TGF β).

C. L'obésité altère le nombre et la fonction des CSA du tissu adipeux

Les niches sont des structures anatomiques et fonctionnelles qui permettent de maintenir le pool de cellules souches et de réguler leurs fonctions physiologiques. L'obésité, altère la structure du tissu adipeux à travers l'augmentation du pool et de la taille des adipocytes. De plus, l'obésité génère un microenvironnement inflammatoire à l'origine d'un dysfonctionnement de la fonction du tissu adipeux. Toutes ces modifications liées à l'obésité pourraient altérer le fonctionnement et l'homéostasie de la niche et ainsi modifier les propriétés intrinsèques des CSA résidentes.

1. L'obésité altère le nombre de CSA dans le tissu adipeux

L'augmentation du nombre d'adipocytes durant l'obésité (hyperplasie), associée à un accroissement de la masse adipeuse, est associée à une amplification des CSA, précurseurs de ces adipocytes. Dans ce contexte, la culture *in vitro* de SVF issu de tissu adipeux de sujets obèses a montré que les CSA ont une prolifération exagérée en comparaison aux CSA normaux (Roncari et al. 1981). Quelques années plus tard, les travaux de Maumus et al. ont montré une corrélation entre le développement excessif du TA, le nombre de cellules adipeuses et l'augmentation du nombre de CSA (Maumus et al. 2008). La prolifération des cellules peut être déterminée en mesurant l'expression de la protéine Ki-67 (protéine du cycle cellulaire). Un double marquage Ki-67⁺/CD34⁺ a permis de montrer une corrélation positive entre le nombre de CSA et l'obésité (IMC ≥ 30 kg/m²), alors que le pool de CSA reste constant dans le tissu adipeux de sujets minces ou en surpoids (Spalding et al. 2008).

Au niveau moléculaire, plusieurs études ont mis en évidence les facteurs amplifiant le nombre de CSA dans le tissu adipeux des sujets obèses. La prolifération des CSA est significativement amplifiée par le microenvironnement local dans lequel baigne ces cellules, comme l'atteste le traitement de CSA fraîchement isolées avec du milieu conditionné (MC) d'adipocytes matures ou de cytokines normalement amplifiées par l'obésité comme l'IL-6 et la leptine (Maumus et al. 2008). De plus, en condition d'obésité, les macrophages du tissu adipeux stimulent les cellules souches adipocytaires, leurs faisant sécréter de l'activine A. Cette protéine aurait une action sur l'amplification de la prolifération des CSA et l'augmentation du nombre de nouveaux adipocytes (hyperplasie) (Zaragosi et al. 2010). L'hypoxie est connue pour amplifier la sécrétion de facteurs de croissance par les cellules souches, la survie, le renouvellement des cellules et le maintien des CSA dans un état indifférencié (Vizoso et al. 2017). Ainsi, Maumus a montré que l'hypoxie (1% O₂) est à l'origine d'une amplification du nombre de CSA, *in vitro*, en comparaison à la condition normoxique (20 % O₂) (Maumus et al. 2008). En effet, l'hypoxie (par l'intermédiaire de HIF- α) augmente la sécrétion du facteur angiogénique VEGF- α et du facteur de croissance FGF-2 par les CSA (Kakudo et al. 2015; Marie Maumus et al. 2008; E. Y. Lee et al. 2009). VEGF- α et surtout FGF-2 amplifient le nombre de CSA.

2. L'obésité altère le sécrétome des CSA

Les CSA issues de sujets sains n'expriment pas ou alors à un niveau très faible les marqueurs de l'inflammation. De façon surprenante, en condition inflammatoire, il a été rapporté

que les CSA de sujets obèses peuvent adopter un phénotype de type macrophage CD68⁺ (« macrophage-like phenotype »). En effet, il a été montré que la stimulation des CSA par le TNF- α , surexprimé dans l'obésité, induit l'expression significative de facteurs pro-inflammatoires de type macrophagique comme l'expression de cytokines (IL-6, IL-1 β , TNF α , GM-CSF), de chémokines (IL-8, MCP-1, MIP-1 α), de molécules d'adhésion intercellulaire (ICAM-1) et de métalloprotéinases (MMP3, MMP7) (Isakson et al. 2009; M. J. Lee et al. 2010). En plus de sécréter ces facteurs pro-inflammatoires, une étude a montré que les CSA issues de sujets obèses (obCSA) morbides expriment HLA-DR et MMP9 (Nair et al. 2005), et ont une expression amplifiée d'IL-1 β , IL-8 et MCP-1, en comparaison aux CSA issues de sujets minces (InCSA) (Oñate et al. 2013). Les obCSA semblent donc jouer un rôle majeur dans l'induction et l'exacerbation de l'inflammation et le recrutement de cellules immunitaires comme les monocytes/macrophages et les neutrophiles.

Les CSA, contribuent différemment à l'inflammation chronique en fonction des différents dépôts de TA. En effet, il semblerait que les CSA humaines isolés à partir de femmes obèses morbides, soient plus inflammatoires quand elles proviennent du TAv (++ IL-6, MCP-1 et G-CSF) alors que les CSA issues de dépôt pré-péritonéal, sont moins inflammatoires. Les CSA issues du TAsc présentent un profil inflammatoire intermédiaire (Silva et al. 2017).

Les CSA de sujets obèses et spécialement celles provenant du TAv répondent à l'hypoxie de façon exacerbée, en amplifiant l'activation et la translocation du facteur de transcription NF κ B, induisant ainsi l'expression de gènes pro-inflammatoires (Petrangeli et al. 2016).

3. L'obésité altère la fonction physiologique des CSA

Il a été rapporté que dans une même fraction stromale du TA, les CSA sont très hétérogènes par rapport à leurs capacités de différenciation en adipocytes (Djian et al. 1985). Ceci est aussi vrai en fonction des dépôts de TA. Plusieurs facteurs influencent le nombre et la fonction des CSA du TA, l'âge et l'obésité en font partie.

En effet, il a été montré dans diverses publications que les CSA du TAv sont moins prolifératives, moins adipogéniques et plus susceptibles à l'apoptose que les CSA du TAsc, chez l'Homme (Tchkonina et al. 2005). Au sein même du TAsc, les CSA CD10⁺ sont plus adipogéniques que les CSA CD200⁺ (Ong et al. 2014). Récemment, l'équipe de recherche du Dr. Bouloumié a identifié les CSA CD36⁺/CD200⁺ comme des CSA à fort pouvoir adipogénique et de stockage des lipides (Gao et al. 2017). De plus, les CSA du TAsc expriment plus le facteur de transcription adipogénique

C/EBP α que les CSA du TAV (Tchkonina et al. 2005). Ces observations corroborent les résultats de Drolet qui a montré que l'hyperplasie (ou l'adipogenèse) est prédominante dans le TAsc, alors que l'hypertrophie est observée à la fois dans le TAsc et le TAV (Drolet et al. 2008).

L'hyperplasie des adipocytes se réfère à l'adipogenèse, mécanisme par lequel les CSA se différencient en adipocytes. Les obCSA présentent un faible potentiel adipogénique en comparaison aux InCSA (De Girolamo et al. 2013; Oñate et al. 2013; Isakson et al. 2009; Oliva-Olivera et al. 2015). Une étude comparative de la composition du tissu adipeux de femmes minces ou obèses, a permis de montrer que le SVF issus du tissu adipeux de femmes minces est composé d'environ 30% de CSA engagé dans la voie adipogénique (FABP4⁺), tandis que celui des femmes obèses ne contient que 17% (Tchoukalova et al. 2007). Notamment, De Girolamo a montré que les CSA ont un comportement différentiel selon leurs tissus d'origine. En effet, ils ont montré que les CSA issues du TAsc obèses sont capables de se différencier en adipocytes, mais dans une moindre mesure que celles issues de sujets minces. En revanche, les CSA issues de TAV perdent toutes multipotences et sont incapables de se différencier (De Girolamo et al. 2013). Il est cependant à noter que l'hyperplasie des CSA dans le tissu adipeux obèse est limitée par l'inflammation, et que le défaut d'hyperplasie est un marqueur d'insulino-resistance. De plus, les CSA issues de sujets obèses et ayant un syndrome métabolique ont une multipotence modifiée (Oliva-Olivera et al. 2015).

L'activation des voies de signalisation Wnt (Gustafson et al. 2015), Sonic Hedgehog (Fontaine et al. 2008) et FOXO1 (Armoni et al. 2006) ont été impliquées dans l'inhibition de l'adipogenèse. Roldan et al. ont montré que les CSA provenant de sujets ayant une obésité morbide ont une expression élevée de ces facteurs anti-adipogéniques. Plus les sujets ont une obésité morbide et plus ces facteurs sont surexprimés. De plus, les CSA des sujets obèses sécrètent des quantités importantes d'IL-6 qui ont été associée à l'amplification de l'expression de la voie Wnt et donc à l'inhibition de l'adipogenèse (Roldan et al. 2011). Isakson a montré quant à lui, que le TNF α (aussi augmenté dans le tissu adipeux obèse) et non pas l'IL-6 est responsable de l'activation de la voie Wnt induisant une inhibition de l'adipogenèse (Isakson et al. 2009).

Le facteur de transcription PPAR γ est indispensable à l'adipogenèse (Rosen et al. 2002). D'autres facteurs sont nécessaires à l'adipogenèse et régulent positivement l'expression de PPAR γ , comme C/EBP α , C/EBP β et FABP4 (Ahrends et al. 2014; Q. Q. Tang et Lane 2012). PPAR γ est normalement très peu exprimé dans les CSA non différenciées. Roldan et al. ont montré une inhibition de l'activation de ce facteur pro-adipogénique et donc une inhibition de la différenciation

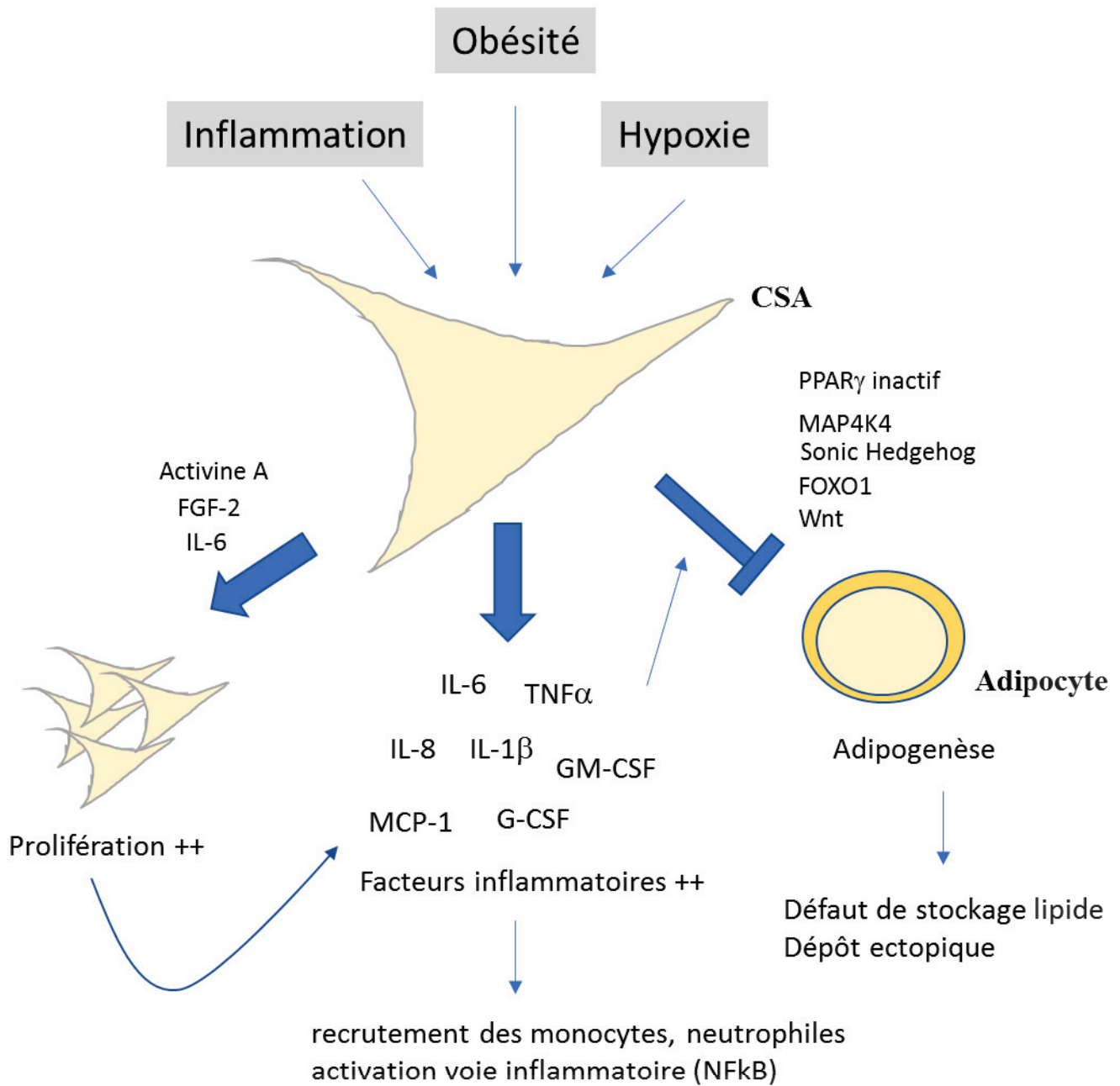


Figure 25: L'obésité associée à l'inflammation et l'hypoxie du tissu adipeux altère la biologie des cellules souches adipocytaires.

et de la maturation des cellules en adipocytes, chez les sujets obèses (Roldan et al. 2011). En effet, des CSA en culture ou des adipocytes matures fraîchement isolés, à partir de sujets obèses, ont une expression élevée en MAP4K4, connu pour inhiber l'activation de PPAR γ (Isakson et al. 2009). Pour résumer, l'altération de la biologie des CSA au cours de l'obésité peut être à l'origine d'un dysfonctionnement dans la capacité des CSA à immunomoduler l'inflammation dans le tissu adipeux (**Figure 25**).

VII. OMEGA-3 ET INFLAMMATION DU TISSU ADIPEUX AU COURS DE L'OBESITE

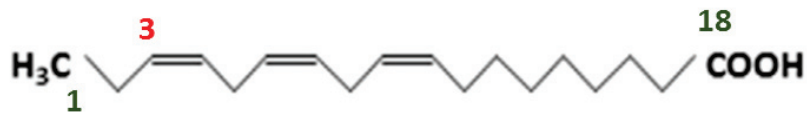
La qualité des lipides alimentaires est un facteur majeur dans la prévention et le traitement des anomalies du métabolisme. Il est bien établi que certains acides gras polyinsaturés (AGPI) ont un effet bénéfique sur l'insulino-résistance et l'inflammation. Des interventions nutritionnelles visent à normaliser les paramètres métaboliques notamment via une alimentation pauvre en AG saturés et plus riche en AG polyinsaturés (AGPI) de type oméga-3 (ω -3).

A. Structure, métabolisme et mécanismes d'actions des AGPI

1. Structure

Les AG diffèrent les uns des autres par la longueur de la chaîne carbonée et le nombre de doubles liaisons. Les AG sont classifiés en AG saturés (AGS, 0 double liaison), AG monoinsaturé (AGMI, 1 double liaison) et AG polyinsaturés (AGPI, ≥ 2 doubles liaisons). 2 familles d'AGPI existent, les AGPI de type ω -3 (n-3) et de type ω -6 (n-6). Ces deux sous-groupes se distinguent par la position de la première double liaison la plus proche du groupement méthyle terminal. En biochimie, les acides gras sont souvent désignés sous la forme C:D dans laquelle C représente le nombre de carbones et D le nombre de doubles liaisons. Par exemple, l'acide α -linoléique (ALA) est représenté sous la forme 18:3n-3, pour 18 carbones et 3 doubles liaisons, alors que l'acide linoléique (LA), représenté sous la forme 18:2n-6, contient 18 carbones et 2 doubles liaisons (**Figure 26A**).

A. Structure de l'acide α -linoléique



acide α -linoléique (ALA; 18:3-3)

B. Métabolisme de l'acide linoléique (LA) et l'acide alpha-linoléique (ALA)

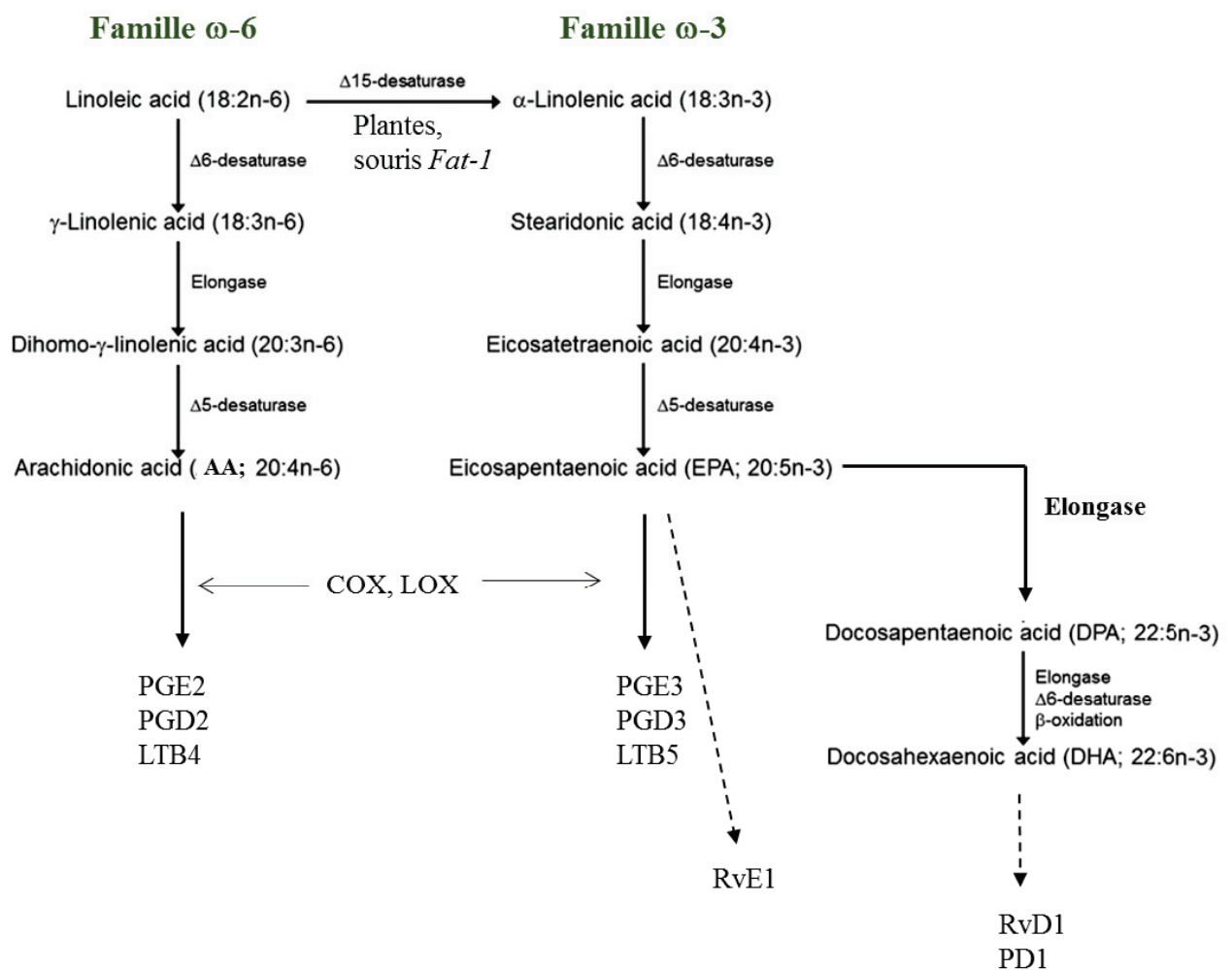


Figure 26: Structure et métabolisme de l'acide α -linoléique et de l'acide linoléique.

Adapté de Calder 2015
PMID: 25149823

L'acide linoléique (ALA, 18:3n-3) et ses dérivés les AG éicosapentaénoïque (EPA, 20:5n-3) et docosahexaénoïque (DHA, 22:6n-3) sont les principaux AGPI de type ω -3. Ainsi, l'ALA est considéré comme un AGPI à longue chaîne alors que l'EPA et la DHA sont des AGPI à très longues chaînes.

2. Métabolisme des ω -6 et ω -3

LA et ALA sont synthétisés en grande quantité par les plantes à partir de l'acide oléique (18 :1n-9), ce qui n'est pas le cas chez les mammifères en raison de l'absence de la D12 désaturase. De plus, du fait de l'absence de la D15-désaturase, la conversion LA vers ALA est impossible (Je Lee et al. 2016). Ces AGPI sont donc considérés comme indispensables et doivent être apportés par l'alimentation. L'EPA et la DHA sont synthétisés à partir du précurseur ALA par une série d'enzymes désaturases et élongases (Sassa et Kihara 2014). En revanche le taux de conversion de l'ALA en EPA ou DHA est faible chez l'Homme (0,3%-8% pour l'EPA et <1% pour la DHA chez l'homme ; mais peut aller jusqu'à 21% pour l'EPA et 9% pour la DHA chez la femme) (E. J. Baker et al. 2016). Le taux de conversion dépend en partie du ratio ω -6: ω -3 puisque les enzymes catabolisant LA et ALA sont les mêmes (**Figure 26B**). Il est donc primordial d'adapter son alimentation pour équilibrer la synthèse des médiateurs lipidiques sous-jacents qui peuvent avoir des rôles pro-ou anti-inflammatoires.

Métabolisme du LA

L'acide linoléique (LA) est métabolisé en acide arachidonique (AA - 20:4n-6), un précurseur majeur de plusieurs médiateurs lipidiques impliqués dans l'inflammation. L'AA peut aussi être apporté par les lipides alimentaires. L'AA tout comme son précurseur, le LA, est stocké dans les phospholipides membranaires, et peut être libéré en réponse à divers stimuli (ex. stimuli via TLR4) via l'action de la phospholipase A2 (PLA2) (Norris et Dennis 2012). Dans le cytoplasme, l'AA est métabolisé par les cyclooxygénases 1/2 (COX), des lipoxygénases (LOX) et d'autres enzymes en dérivés lipidiques communément appelés éicosanoïdes. Parmi ces éicosanoïdes, le tromboxane, les leucotriènes ainsi que la prostaglandine de la série 2 (PGE2) exercent des rôles divers dans la réponse immunitaire et l'inflammation (Yates et al. 2014).

Métabolisme de l'ALA

Le destin de l'ALA apporté par l'alimentation est divers. L'ALA rentre très peu dans la composition des phospholipides membranaires, mais est surtout stocké sous forme de TG, principalement dans le TA. Par contre les métabolites de l'ALA, EPA et DHA sont plus souvent

retrouvés dans les membranes. De plus, l'ALA peut être β -oxydé dans les mitochondries et participer au bilan énergétique. Enfin, il a été rapporté que la chaîne carbonée constituant l'ALA peut être recyclée et participer à la synthèse des AGS et monoinsaturés (E. J. Baker et al. 2016). La conversion de l'ALA en acide stéaridonique (SDA) est catalysée par la delta-6 désaturase, enzyme limitante du métabolisme de l'ALA. La réaction de conversion du SDA en EPA ou DHA se fait principalement dans le foie, même si la réaction peut être réalisée dans le cerveau, la rétine et le testicule.

La supplémentation de l'alimentation en ω -3 permet de diminuer le ratio ω -6 : ω -3 au sein des phospholipides membranaires, les ω -3 (ALA, EPA ou DHA) remplacent le LA ou l'AA au sein des phospholipides. De plus, l'EPA, un métabolite de l'ALA rentre en compétition avec l'AA pour la synthèse des éicosanoïdes. En effet, les enzymes qui convertissent l'AA en éicosanoïdes pro-inflammatoires sont les mêmes qui convertissent l'EPA en éicosanoïdes anti-inflammatoires. Plus le ratio ω 6 : ω 3 est faible et plus les dérivés lipidiques de la voie des ω -3 seront générés. Récemment, il a été montré que l'acide docosapentaénoïque (DPA), dérivé de l'EPA, inhibe l'activité de la COX2 et est donc responsable de l'activité anti-inflammatoire associée aux ω -3 (Norris et Dennis 2012). Il est intéressant de préciser qu'il existe deux isoformes de la COX. COX-1 est exprimée de manière constitutive et ubiquitaire alors que COX-2 est induite en réponse à un signal inflammatoire. En condition physiologique, elle est indétectable. L'activité de COX-2 est amplifiée par les cytokines inflammatoires telles que l'IL-1 β et le TNF- α . De plus, il a été rapporté que l'IL-17A amplifie l'expression protéique de COX-2 et la sécrétion de PGE2, *in vitro* (Jing-kun Li et al. 2016; Faour et al. 2003). L'axe COX-2/PGE2 est aussi induit par l'activation de la voie TLR4 (A. Lin et al. 2016).

3. Mécanismes d'action des ω -3 dans l'inhibition de l'inflammation

a) *Les ω -3 agissent au niveau de « senseurs » intracellulaires ou de récepteurs membranaires*

Les ω -3 activent les protéines PPARs.

PPAR γ est exprimé dans le tissu adipeux, où il régule la différenciation adipocytaire et la réponse métabolique tout en favorisant la sensibilité à l'insuline. PPAR γ est aussi exprimé dans les cellules du système immunitaire où il contrôle l'expression de médiateurs inflammatoires et favorise la réponse anti-inflammatoire. De façon intéressante, les effets anti-inflammatoires et insulino-sensibilisants associées aux ω -3 peuvent passer par l'activation du facteur PPAR γ (Martínez-Fernández et al. 2015; Kong et al. 2010; Zapata-Gonzalez et al. 2008) (**Figure 27A**). En effet, les

ω -3 ainsi que leurs dérivés lipidiques représentent des agonistes de PPAR γ (Forman, Chen, et Evans 1997; Kliewer et al. 1997). Une fois activé, PPAR γ forme un hétérodimère avec RXR (retinoic-X-receptor) et active des gènes cibles impliqués dans la différenciation adipocytaire, le stockage des lipides ainsi que la sensibilité à l'insuline (Zapata-Gonzalez et al. 2008; Calder 2012). RXR peut être directement activé par les ω -3 (P. J. White et al. 2015). Il a été montré qu'un traitement à la DHA plus qu'à l'EPA induit la différenciation des cellules en adipocytes via l'amplification de l'expression de C/EBP α , PPAR γ et aP2/FABP4 dans les cellules 3T3-L1 (Murali et al. 2014). De plus, White et al. ont récemment montré que PPAR γ et RXR sont surexprimés dans le TAV de souris *fat-1* (souris transgéniques capables de convertir de façon endogène les ω -6 en ω -3 (J. X. Kang et al. 2004), avec une inhibition de l'expression de GATA3, un puissant inhibiteur de l'adipogenèse, suggérant ainsi un rôle positif des ω -3 dans l'adipogenèse. D'ailleurs, les auteurs ont montré que les souris *fat-1* nourries avec un régime riche en gras, ont des adipocytes dont le diamètre est inférieur aux adipocytes des souris contrôles nourries avec le même régime (P. J. White et al. 2015). En revanche, d'autres études ont associé les ω -3 à un effet anti-obésogène avec une inhibition de la lipogenèse et de l'adipogenèse. Ces études seront discutées plus loin. De plus, les ω -3 sont connus pour activer PPAR α , abondamment exprimé dans le foie (Ferré 2004) et ayant un rôle majeur dans la bêta-oxydation des lipides (Tapia et al. 2014).

Les ω -3 inhibent la translocation de NFkB.

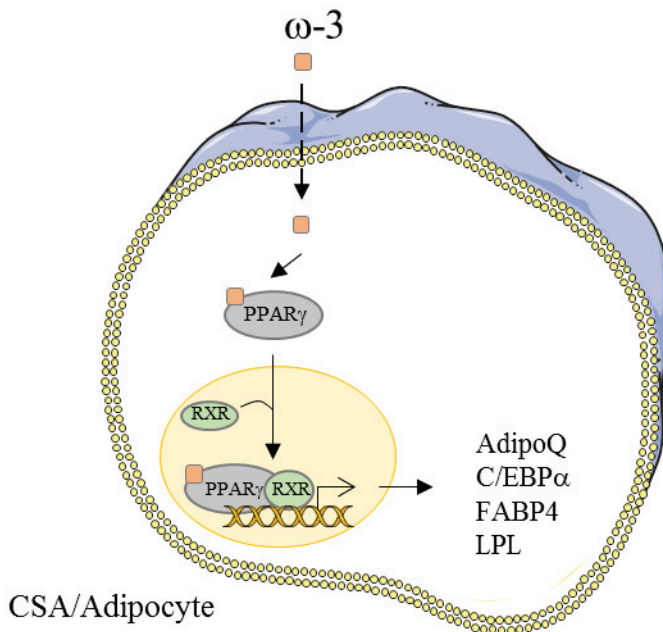
Les acides gras saturés induisent une réponse inflammatoire via la stimulation de TLR2/TLR4 dans les adipocytes, et l'activation de NFkB. L'EPA ou la DHA inhibent l'expression et la signalisation intracellulaire de TLR2/TLR4 (Yeop Han et al. 2010).

Un nombre conséquent de travaux ont associé le pouvoir anti-inflammatoire des ω -3 à sa capacité d'inhiber NFkB (Novak et al. 2003; J. Y. Lee et al. 2001; Kong et al. 2010; Oh et al. 2010; Allam-Ndoul et al. 2016). En effet, l'activation de NFkB nécessite la phosphorylation et la dégradation d'IkB comme vu précédemment (Hayden et Ghosh 2012). Il a été rapporté que les ω -3 inhibent la phosphorylation d'IkB, la stabilisent, ce qui a pour conséquence de maintenir la séquestration de NFkB et d'inhiber son activation (Oh et al. 2010) (**Figure 27B**).

D'autre part, PPAR γ , une fois activé par les ω -3, est capable d'interférer avec NFkB ce qui réduit son activation et sa translocation dans le noyau (Vanden Berghe et al. 2003). Le pré-traitement des cellules dendritiques avec la DHA induit PPAR γ , prévient l'activation de NFkB par le LPS, ainsi que la production d'IL-6 et de TNF α (Kong et al. 2010).

Les ω -3 agissent au niveau de senseurs intracellulaires

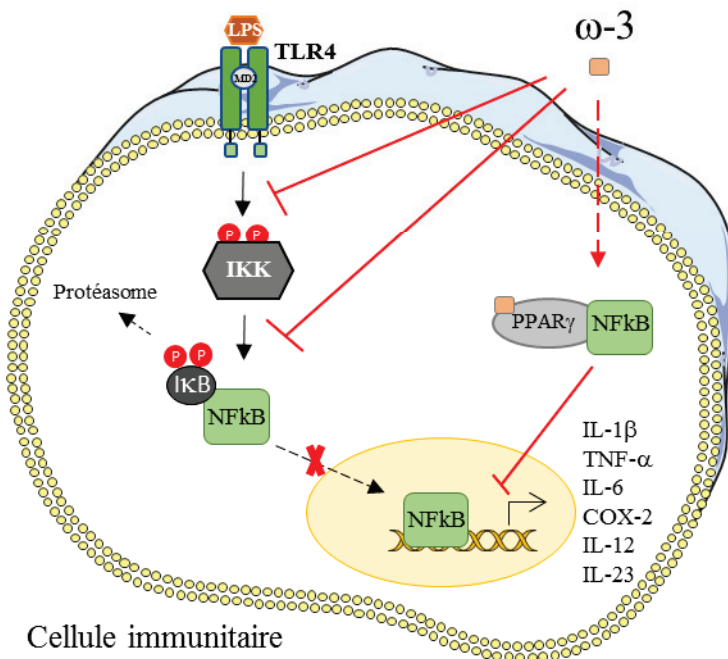
A. Les ω -3 activent PPAR γ



Effets:

Adipogenèse
Lipogenèse
Sensibilité à l'insuline

B. Les ω -3 inhibent NF κ B



Effets:

Inhibition de l'Inflammation
médiée par NF κ B

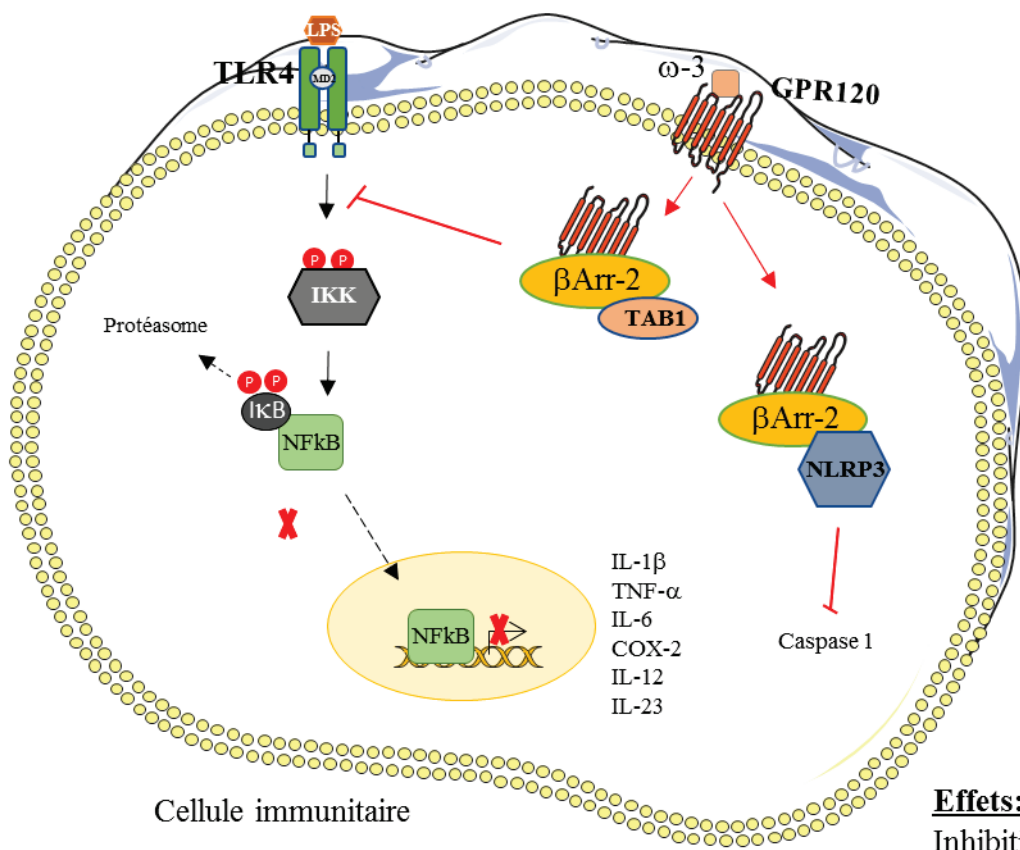
Figure 27: Les ω -3 agissent au niveau de senseurs intracellulaires, PPAR γ (A) et NF κ B (B).

Les ω -3 activent le récepteur membranaire GPR120.

GPR120 est un récepteur aux ω -3, à 7 domaines transmembranaires couplé à une protéine G, G α q/II. Ce récepteur est fortement exprimé dans les adipocytes matures et les macrophages pro-inflammatoires, suggérant ainsi un rôle important de GPR120 dans l'inflammation et la fonction métabolique et régulatrice du tissu adipeux (Oh et al. 2010; Gotoh et al. 2007). Il est intéressant de noter que GPR120 n'est pas exprimé dans les pré-adipocytes 3T3-L1, à l'inverse des adipocytes. En revanche, les pré-adipocytes 3T3-L1 expriment GPR40, un autre récepteur aux AGPI (Oh et al. 2010). De plus, le tissu adipeux des sujets obèses, et en particulier les macrophages, sont fortement enrichis en GPR120, en comparaison à celui des sujets minces (Ichimura et al. 2012).

L'action anti-inflammatoire des ω -3 médiée par GPR120 dépend de l'expression de la protéine chaperonne β -Arrestin 2 (β -Arr-2). Ainsi dans les macrophages, l'activation de GPR120 par les ω -3 entraîne le recrutement de la β -Arr2 au niveau de GPR120. Cette interaction est suivie de l'internalisation du complexe GPR120/ β -Arr-2 dans le cytoplasme. TAB1 est la protéine activatrice de TAK1, impliquée dans l'activation de NF κ B (Cf. Voie de signalisation TLR4/NF κ B). Da Youg Oh et al. ont montré que suite à l'internalisation du complexe, la β -Arr-2 interagit avec TAB1 ce qui va bloquer l'interaction de TAB1 à TAK1 et donc empêcher l'activation de TAK1. Il en résulte donc une inhibition de la signalisation des voies NF κ B et JNK et une réduction des médiateurs inflammatoires comme l'IL-6 et le TNF α (Oh et al. 2010) mais aussi COX-2, IL-1 β et IL-12 (Calder 2013) induits par une stimulation de TLR4 par le LPS (**Figure 28**). De plus, l'huile de poisson donnée à des souris stimulées par le LPS, prévient l'expression de TLR4 membranaire et de son adaptateur MyD88 dans l'intestin, réduisant ainsi l'expression de cytokines inflammatoires plasmatiques (Y.-H. Liu et al. 2015).

D'autre part, le LPS via TLR4 active la voie de l'inflammasome nécessaire à la maturation et la sécrétion de l'IL-1 β (Lin et al. 2014). Dans ce contexte-là, Yan et al. ont montré que les ω -3 sont capables d'inhiber l'activation de l'inflammasome et la production d'IL-1 β par les macrophages stimulés par le LPS. En effet, les ω -3 via l'activation des récepteurs GPR120 ou GPR40 et l'interaction avec la β -arrestin-2 séquestrent NLRP3, composant majeur de l'inflammasome, et inhibent l'activation de la caspase 1 et la production d'IL-1 β (Yan et al. 2013) (**Figure 28**). Le rôle de GPR120 ou GPR40 dans l'inhibition de l'inflammasome peut expliquer pourquoi les souris déficientes en GPR120 et soumises à un régime hypercalorique présentent une augmentation de l'inflammation du tissu adipeux en comparaison aux souris contrôles, associée à une aggravation de l'insulino-résistance globale (Ichimura et al. 2012). Enfin, les ω -3 préviennent le développement du



Effets:
Inhibition de l'inflammation
médiée par TLR4/NFκB
et l'inflammasome

Figure 28: Les ω-3 agissent au niveau du récepteur membranaire GPR120.

syndrome métabolique via l'inhibition de NLRP3 et l'inhibition de la sécrétion d'IL-1 β , du TNF α et de MCP-1 dans le tissu adipeux et le foie des souris soumises à un régime riche en graisse (Yan et al. 2013). De plus, des co-cultures de lymphocytes T CD8⁺ extraits de souris nourries pendant 3 semaines avec de l'huile de poisson avec des adipocytes 3T3-L1 induisent beaucoup moins de cytokines et chémokines inflammatoires que des LT issus de souris nourries aux ω -6 (huile de maïs). En effet, l'expression des ARNm de Nlrp3, Caspase-1 et Il-1 β sont réduits par le traitement aux ω -3, témoin d'une inhibition de l'inflammasome (Monk et al. 2015).

b) Les ω -3 modifient la composition des phospholipides membranaires

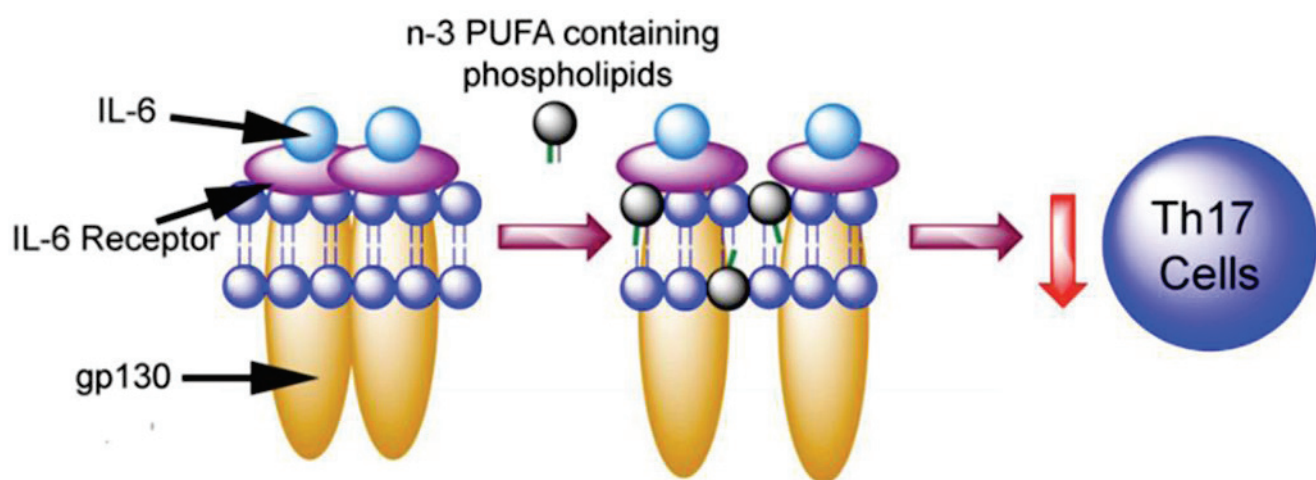
L'analyse de la composition des membranes de cellules du sang, impliquées dans la réponse inflammatoire, de sujets normaux consommant une nourriture de type occidental contient entre 15 et 20 % d'acide arachidonique (ω -6), 0.5-1 % d'EPA et 2-3 % de DHA. De même pour les souris de laboratoire nourries avec un régime standard faiblement gras (« chow diet »). La supplémentation de ces régimes en ω -3 augmente la composition des membranes plasmiques en ω -3 aux dépens de l'AA (Calder 2015). Le taux d'incorporation des ω -3 au sein des phospholipides dépend de la dose et de la durée d'exposition. L'enrichissement des membranes en ω -3 entraîne la destruction de certains radeaux lipidiques et entraîne une modification du profil des médiateurs lipidiques dérivés de ces ω -3 (Calder 2015).

Les ω -3 altèrent l'organisation des radeaux lipidiques

Les radeaux lipidiques sont des régions structurellement différentes du reste de la membrane plasmique. Ces régions sont particulièrement denses en cholestérol, en sphingolipides et en phospholipides contenant des acides gras saturés. Le degré de saturation élevé de ces régions, ainsi que la forte teneur en cholestérol, augmentent la rigidité de cette portion de membrane et en fait une plateforme idéale pour l'ancrage de plusieurs protéines et molécules essentielles à la transduction du signal. Un modèle de simulation mathématique a montré que le diamètre idéal des radeaux doit être compris entre 6 et 14 nm afin de permettre une interaction optimale des protéines (Nicolau et al. 2006). Plusieurs réponses inflammatoires peuvent être inhibées par la déstructuration de ces radeaux lipidiques. En effet, ainsi expliqué dans le chapitre IV-2 relatif au développement de la réponse immunitaire via l'interaction des cellules dendritiques et des LT, les molécules nécessaires

à l'activation des LT sont ancrées et concentrées au niveau des radeaux lipidiques (Hou et al. 2016). Les ω -3 sont capables de réduire l'inflammation en altérant la structure des radeaux lipidiques :

- L'incorporation des ω -3 au sein des phospholipides membranaires augmente le diamètre des radeaux lipidiques des LT issus de la rate de souris fat-1 en comparaison à des souris contrôles, ce qui a pour conséquence la suppression de l'activation lymphocytaire (Turk et Chapkin 2013; W. Kim et al. 2008).
- La réponse lymphocytaire est aussi affectée par la déstructuration des radeaux lipidiques au niveau de la synapse immunologique. En effet, il a été rapporté une inhibition de l'expression membranaire des molécules de CMH-II, indispensable à l'interaction CMH-II-peptides/TCR et à l'établissement de la réponse immunitaire adaptative. La réduction du contact entre les LT et les CPA inhibe la prolifération des LT comme rapporté par de nombreuses études (Hou et al. 2016; Calder 2015). L'utilisation de la lignée lymphocytaire Jurkat a montré que les ω -3 incorporés au sein des phospholipides membranaires déstructurent l'ancrage des protéines de signalisation nécessaires à l'activation des LT. Enfin, une étude citée par Hou et al. montre que des LT issus de souris dont le régime a été enrichi avec l'EPA, surexpriment la protéine de régulation négative CTLA-4, inhibant ainsi l'activation lymphocytaire.
- Les ω -3 interfèrent avec la signalisation de l'IL-6R, exprimés sur les LT naïfs, et inhibent la différenciation des Th17 (Allen et al. 2014). En effet, l'IL-6R se trouve ancré au niveau des radeaux lipidiques, et les ω -3 inhibent l'expression membranaire de l'IL-6R (**Figure 29a**).
- MyD88 est un adaptateur moléculaire présent au niveau des radeaux lipidiques et recruté par TLR4 en réponse à des stimuli comme le LPS ou les acides gras saturés. L'altération de l'organisation des radeaux lipidiques par les ω -3 inhibe l'interaction entre Myd88 et TLR4, réduisant ainsi l'activation de NFkB et la production de COX-2 (Calder 2015; Wong et al. 2009).



Modifié à partir de Hou et al. 2016. Eur J Pharmacol

Figure 29a: Les ω -3 modifient la composition des phospholipides membranaires et détruisent les radeaux lipidiques: exemple de la signalisation IL-6/IL-6R/gp130.

*Adapté à partir de Hou et al. 2016
PMID: 26001374*

Les ω -3 génèrent des médiateurs lipidiques dits anti-inflammatoires

Groeger a montré l'effet différentiel de la COX-2. Cette oxygénase, en utilisant l'AA comme substrat, génère des médiateurs pro-inflammatoires inducteurs d'inflammation. En revanche, lors de la résolution de l'inflammation, COX-2 métabolise les AGPI ω -3 et synthétise des médiateurs anti-inflammatoires comme les résolvines, les protectines et la lipoxine (Groeger et al. 2010). De plus, les propriétés anti-inflammatoires des ω -3 via la modulation de l'activité inflammatoire de la COX-2 ont été validées sur des cultures de macrophages *in-vitro* (Babcock et al. 2002; Y. Liu et al. 2014).

La fièvre, la douleur, la vasodilatation et la perméabilité vasculaire sont des phénomènes amplifiés par la PGE2. PGE2, via son récepteur EP4, est reconnue comme la PG la plus abondante au sein du tissu adipeux et a été associée à l'inhibition de l'adipogenèse (Tsuboi et al. 2004; García-Alonso et al. 2013). En effet, Garcia-Alonso et al. ont mis en évidence une régulation négative de PGE2 par PPAR γ : des souris déficientes en PPAR γ ont une amplification de l'expression de COX-2 et de PGE2, inhibant ainsi la différenciation des ASC de souris en adipocytes (García-Alonso et al. 2013).

Les éicosanoïdes générés à partir de l'EPA exercent des effets moins inflammatoires que ceux générés par la voie de l'AA (Yates et al. 2014). En effet, la PGE3 dérivant de l'EPA est moins capable de stimuler son récepteur que la PGE2 dérivé de l'AA (récepteur commun), résultant d'une réduction de la production de cytokines amplifiées par la PGE2 (Bagga et al. 2003; Wada et al. 2007). De même, le LTB5 généré par le métabolisme de l'EPA a un pouvoir 10 à 30 fois moins chémo-attractant vis-à-vis des neutrophiles que le LTB4 dérivé de l'AA. Enfin, la PGD3 (dérivé de l'EPA) antagonise la liaison de PGD2 à son récepteur (PGD2-R) et inhibe la transmigration des neutrophiles à travers une couche de cellules endothéliales (Tull et al. 2009).

D'autres médiateurs lipidiques dérivés de l'EPA et de la DHA ont été associés avec la résolution de l'inflammation. Les résolvines de la série E (dérivés de l'EPA), résolvines de la série D (dérivés de la DHA) ainsi que les protectines dérivés de la DHA inhibent l'inflammation (Schwab et al. 2007; Serhan et al. 2008). La production de ces médiateurs requiert l'activation des enzymes COX et LOX (Calder 2012) (**Figure 29b**).

Ainsi la réduction du ratio ω -6 : ω -3 permet de « shifter » la balance vers la production d'éicosanoïdes plutôt anti-inflammatoires et bénéfiques dans le contexte de la résolution de l'inflammation et la prévention de l'inflammation chronique (Serhan et al. 2008). Les éicosanoïdes

(ω -6) jouent un rôle majeur dans l'initiation de la réponse inflammatoire et dans la résolution de celle-ci (ω -3).

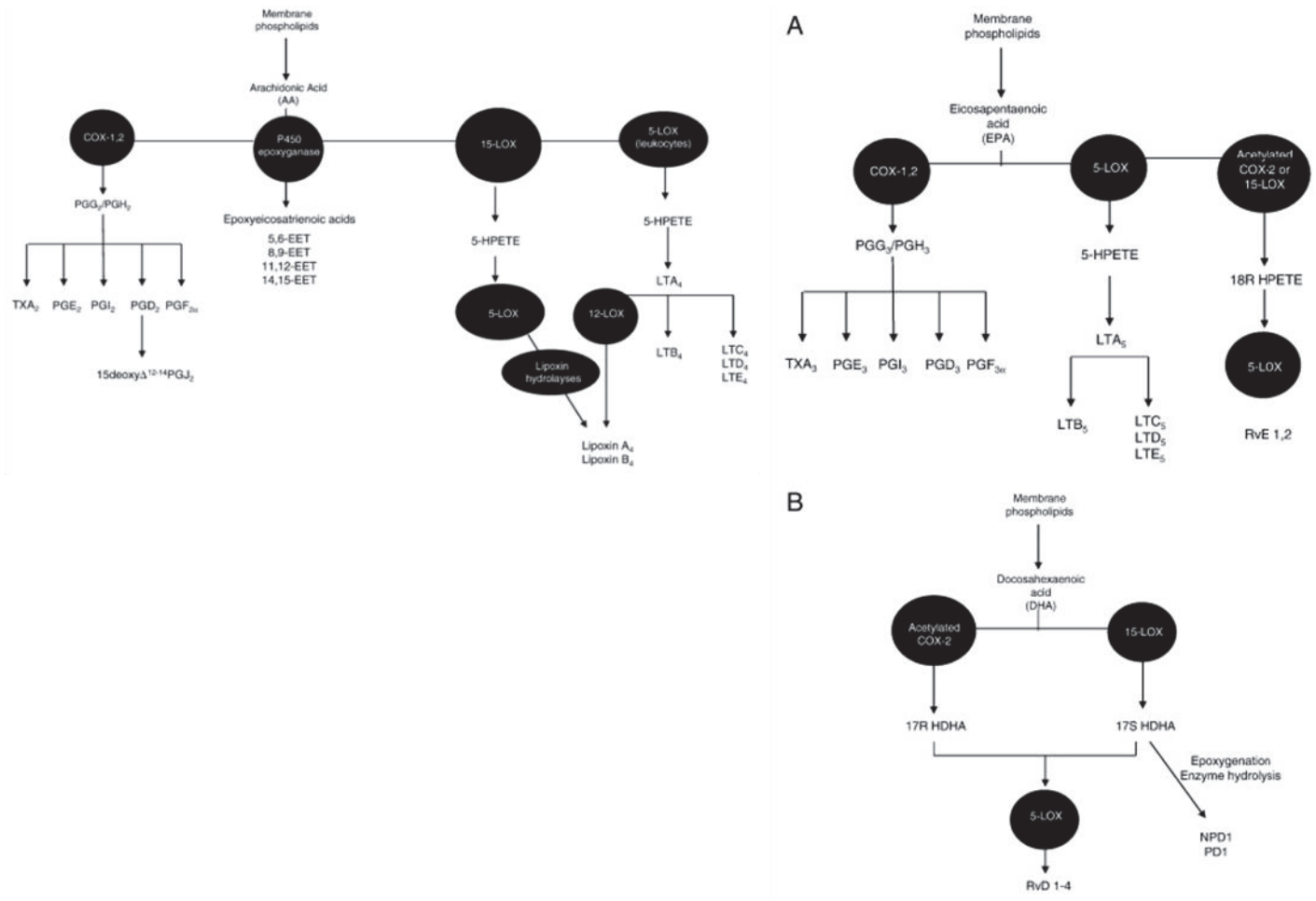


Figure 29b: Les ω -3 modifient la composition des phospholipides membranaires et gènèrent des médiateurs lipidiques.

*Adapté à partir de Yates et al. 2014
PMID: 24201219*

B. Sources alimentaires, recommandations et intérêts pour la santé

1. Sources alimentaires

L'ALA a une origine végétale alors que l'EPA et la DHA sont apportés par la consommation d'aliments d'origine marine. Les graines de chia, de lin et le basilic ont des teneurs en ALA très élevées, alors que des espèces comme le saumon d'Atlantique, la morue et les anchois sont très riches en EPA et DHA (Abedi et Sahari 2014). Le **tableau 5** regroupe plusieurs sources alimentaires riches en ω -3. Bien que le poisson soit considéré comme la principale source en ω -3 (75 % de l'apport total en DHA pour les adultes, ANSES 2015), plusieurs limitations peuvent s'opposer à la consommation d'huile de poisson, notamment, les teneurs élevées en dioxine, mercure, métaux lourds ou antibiotiques (pour les espèces d'élevages). Les ω -3 contenus dans les plantes végétales peuvent être des alternatives à la consommation de poisson (Abedi et Sahari 2014).

2. Recommandations nutritionnelles

La nature des régimes occidentaux n'est pas favorable à un bon équilibre ω -6: ω -3, ceux-ci varient entre 10:1 et 20:1, à l'inverse des pays où la consommation de poisson est traditionnelle et donc plus élevée (ex. Japon) à hauteur de 4:1 (Kalupahana et al. 2011). Du fait de l'apport excessif en ω -6, les eicosanoïdes qualifiés de pro-inflammatoires sont produits en plus grande quantité que ceux issus des ω -3. Ainsi, la membrane plasmique des cellules, issues d'individus nourris selon un régime occidental, contient approximativement 20% d'oméga-6 tel que l'AA contre 1 à 2 % d'EPA et d'ALA, respectivement (Calder 2006).

Il est conseillé de privilégier les apports directs en EPA ou en DHA pour faire face au faible taux de conversion de l'ALA en EPA et DHA. L'ALA et le DHA sont considérés comme des AG « essentiels », à l'inverse de l'EPA. Afin de prévenir le risque de maladie cardiovasculaire, l'ANSES, recommande un apport minimal en DHA de 250 mg par jour et un apport total en EPA+DHA de 500 mg par jour (ANSES 2011). Les enzymes désaturases et élongases catalysent aussi bien l'ALA que le LA. C'est pourquoi, il est important que l'apport nutritionnel journalier en ω -6 ne dépasse pas 5 fois celui des ω -3 (ω -6 : ω -3 = 5 :1) (ANSES 2011).

Le rapport de l'ANSES 2015 sur les apports en acides gras des français a révélé que 89 % des adultes présentent un risque d'insuffisance, lié à un apport cumulé en EPA et DHA inférieur à 500 mg/jour (environ 239 mg par jour)(ANSES 2015 ; Tressou et al. 2016).

Produits végétaux

Sources végétales	ALA (g / 100 g)
Graines de chia	63
Graines de lin	58.7
Basilic	57.4-62.5
Mûres	35.2-35.3
Framboises	29.1-32.4
Myrtilles	25.1
Noix	13.1

Produits marins

Sources marines	EPA (g/ 100 g)	DHA (g/ 100 g)
Caviar	2.741	3.8
Anchois	0.538	0.991
Morue	0.867	0.92
Saumon Atlantique	0.69	1.457
Maquereau	0.504	0.695
Huîtres pacifiques	0.876	0.500
Moules	0.276	0.506

Tableau 5: Principales sources alimentaires en ALA, EPA ou DHA.

Adapté à partir Abedi and Sahari (2014)

PMID: 25473503

3. Intérêts pour la santé

Les AGPI ω -3 sont nécessaires au bon développement du cerveau, de la vision ainsi que dans la prévention des maladies cardiovasculaires (Li and Hu 2009). Des études épidémiologiques européennes, américaines et japonaises ont montré un effet bénéfique des ω -3 sur la prévention du risque des maladies cardiovasculaires et sur l'inflammation. La baisse de la pression artérielle, de l'agrégation plaquettaire, de l'arythmie cardiaque, mais aussi de la triglycéridémie et de l'inflammation a été attribuée aux ω -3 (E. J. Baker et al. 2016).

C. Effets connus des ω -3 sur la sensibilité à l'insuline

1. Etudes chez les animaux

Effet sur l'insulino-résistance

La modification de la composition lipidique des régimes nutritionnels des animaux vers une augmentation de la concentration en ω -3 a permis l'étude des mécanismes et des effets de ces AG sur la réponse à l'insuline. La substitution d'un tiers des lipides d'un régime hyper-lipidique (60 % de graisse) par des ω -3 (huile de poisson) prévient l'insulino-résistance et maintient l'activité de la PI3K ainsi que l'expression de GLUT4, au niveau musculaire chez la souris (Taouis et al. 2002). De plus, les données de la littérature montrent que la substitution de seulement 6 % des ω -6 par des ω -3 (huile de poisson) suffit à complètement inhiber le développement de l'insulino-résistance dans le muscle, chez des rats soumis à un régime de 4 semaines (Storlien et al. 1987). D'ailleurs, le degré d'insaturation des AG des phospholipides membranaires musculaires a positivement été corrélé avec la sensibilité à l'insuline (Storlien et al. 1991). L'effet bénéfique des ω -3 semble reposer sur la réduction de l'accumulation des TG au niveau musculaire, dont l'accumulation est positivement corrélée avec l'insulino-résistance (Jucker et al. 1999; Simončíkova et al. 2002).

Au niveau hépatique, les ω -3 inhibent l'accumulation des TG, la stéatose hépatique et prévient l'hypertriglycéridémie et le développement de l'insulino-résistance (Tapia et al. 2014; Simončíkova et al. 2002; González-Pérez et al. 2009). L'action des ω -3 repose sur l'inhibition de plusieurs voies clés du métabolisme des lipides : l'inhibition de la lipogenèse de novo, l'accroissement de l'oxydation hépatique des AG et la diminution de la libération des VLDL dans la circulation. Les ω -3 régulent négativement l'expression de certains gènes de la lipogenèse de novo (*acétyl CoA carboxylase*, *acides gras synthase*) mais inhibent aussi certains gènes de la glycolyse (*L-pyruvate kinase*) qui génère l'acétyl-coA, précurseur de la lipogenèse de novo (Sampath et Ntambi 2005). D'autre part, les ω -3 activent PPAR α par interaction, et amplifient l'expression de la carnitine

palmitoyl transférase 1 et 2 (CPT-I/II) qui vont réorienter les AG vers la bêta-oxydation aux dépens de leur ré-estérification en TG (Schoonjans, Staels, et Auwerx 1996; Calder 2012; P. W. Baker et Gibbons 2000). Enfin, les ω -3 exercent un rôle hypoglycémiant et insulino-sensibilisant, en augmentant l'expression de GLUT 2, PPAR γ , et IRS-2 dans le foie de souris ob/ob soumises à 5 semaines de régime riche en ω -3. (González-Pérez et al. 2009).

Au niveau systémique, l'introduction des ω -3 dans l'alimentation des souris soumises à un régime riche en graisse a montré le maintien de la glycémie et de l'insulinémie à des taux équivalents aux souris soumises à un régime faiblement calorique (Kalupahana, Claycombe, et Moustaid-Moussa 2011).

L'effet des ω -3 ne se limite pas à l'amélioration de la sensibilité des cellules à l'insuline mais agit aussi au niveau de la sécrétion d'insuline, puisqu'il a été montré que des souris ayant reçu une dose d'ALA (100 nmol/g) par gavage ont une augmentation de l'insuline sérique, liée à une amplification, en amont, de la sécrétion de GLP-1. Il est intéressant de noter que cet effet est observé seulement 24h après l'administration de l'ALA (Hirasawa et al. 2005).

Néanmoins, la consommation chronique de poisson comme le saumon peut engendrer des effets délétères sur le métabolisme. En effet, une étude menée par notre laboratoire a montré que des souris nourries avec un régime riche en graisse et supplémentées avec des filets de saumon (8 semaines) développent une obésité plus importante que les souris non supplémentées ainsi qu'une insulino-résistance. Ces effets ont été prévenus en réduisant de 50 % la concentration des polluants organiques persistants contenus dans le saumon commercial (Mohammad Madani Ibrahim et al. 2011).

Impact des ω -3 sur le tissu adipeux

Dans le tissu adipeux, les ω -3 exercent un rôle hypoglycémiant et insulino-sensibilisant, en augmentant l'expression de GLUT 4, adiponectine, PPAR γ , et IRS-1 tel que démontré dans un modèle de souris ob/ob soumises à 5 semaines de régime enrichi en ω -3 (González-Pérez et al. 2009). Le degré d'adiposité est corrélé avec le syndrome métabolique (Sun et al. 2011). Une intervention diététique par remplacement d'une partie des lipides d'un régime riche en graisse par un mélange d'EPA et de DHA, a été associée à une réduction de l'accumulation des lipides et de l'adiposité. La substitution de 12 % des lipides alimentaires par le même pourcentage d'EPA/DHA a montré une limitation du développement de l'obésité à travers le contrôle de l'hypertrophie dans le TAv. De plus, la triglycéridémie et l'insulinémie ont été abaissées chez ces souris (Ruzickova et al. 2004). Récemment, une équipe française a montré que seul l'EPA est capable de prévenir

l'expansion du tissu adipeux et l'hypertrophie des adipocytes chez la souris dont l'alimentation a été supplémentée en EPA (Pinel et al. 2016). En revanche, les données sont moins convaincantes en ce qui concerne la réversion du développement du tissu adipeux. En effet, Kalupahana et al. n'ont pas réussi à montrer un effet bénéfique des ω -3 sur des souris soumises à 6 semaines de régime riche en graisse, puis traitées avec des ω -3 pendant 5 semaines (Kalupahana et al. 2010).

La réduction des dépôts graisseux dans le TAV a été associée à une inhibition de la lipogenèse (inhibition de l'expression de la glycérol 3 phosphate déshydrogénase -GPDH) (Kalupahana et al. 2010) et à l'amplification de l'expression des gènes responsables de la biogenèse mitochondriale et de la β -oxydation des AG, à savoir PGC1 α et Nrf1 (Flachs et al. 2005; González-Pérez et al. 2009). En effet, Couet et al. avaient déjà montré que l'huile de poisson décroît la teneur en graisse corporelle, via l'augmentation du niveau basal de l'oxydation des lipides chez l'Homme (Couet et al. 1997). Les effets insulino-sensibilisant, anti-lipogénique et pro-catabolique des ω -3 font intervenir l'activation de l'AMPK, senseur métabolique majeur dans l'activation de ces voies (Lorente-Cebrián et al. 2009; Daval, Fougère, et Ferré 2006; Jelenik et al. 2010). De façon intéressante, les ω -3 n'agissent pas que seulement sur les adipocytes, mais aussi sur les macrophages M2, où ils amplifient la bêta-oxydation des AG libérés par les adipocytes et des TG phagocytés par les macrophages (Rombaldova et al. 2017).

Alors qu'un apport élevé en ω -6 et un ratio élevé ω -6 : ω -3 est associé avec la prise de poids et un contenu élevé des adipocytes en TG, un apport plus élevé en ω -3 et la réduction du ratio ω -6 : ω -3 semble être en faveur d'une réduction des dépôts graisseux via des mécanismes alliant l'inhibition de la lipogenèse et l'augmentation de la bêta-oxydation des AG (Simopoulos 2016).

1. Etudes chez l'Homme

L'hypothèse d'un effet potentiellement bénéfique des ω -3 sur l'insulino-résistance et le diabète de type 2 a été formulée au vu de la capacité des ω -3 à inhiber l'inflammation et à améliorer l'expression des gènes du métabolisme énergétique des lipides (Deckelbaum, Worgall, et Seo 2006). Plusieurs études épidémiologiques ont montré qu'une alimentation riche en ω -3 était associée à une faible prévalence du diabète de type 2. En effet, la population japonaise vivant au niveau du littoral avait une plus faible prévalence du diabète de type 2 que les japonais continentaux (Kagawa et al. 1982). De plus des études sur les populations esquimaudes d'Alaska ont montré une

augmentation de l'incidence du diabète de type 2 depuis quelques années en raison du changement dans leur mode de vie, en passant d'une alimentation traditionnelle à base de produit d'origine marine (riche en ω -3) vers une alimentation plutôt industrielle (riche en acides gras saturés et en ω -6) (S. O. Ebbesson et al. 1999). La réintroduction d'une alimentation traditionnelle dans ces populations d'Alaska (sur 4 ans) a permis d'améliorer la tolérance au glucose et de baisser les taux de cholestérol, de triglycéride et la glycémie à jeun (S. O. E. Ebbesson, Ebbesson, et al. 2005; S. O. E. Ebbesson, Risica, et al. 2005). D'autre part, une étude observationnelle menée par Muramatsu et al. en 2010 regroupant le mode de vie de 3383 japonais, le type de régime alimentaire, ainsi que les variables métaboliques a permis de montrer un effet bénéfique des ω -3 sur la prévalence du syndrome métabolique mais uniquement chez les sujets sains non obèses (Muramatsu et al. 2010). Enfin une étude publiée dans Nature par Ichimura et al., menée sur une cohorte européenne regroupant 6942 individus obèses et 7654 individus sains, a montré que la perte de fonction de GPR120 (un des récepteurs des ω -3), liée à l'expression d'un de ses variants (R270H), prédispose l'Homme à l'obésité et au syndrome métabolique. Par ailleurs, des cellules exprimant le variant non-fonctionnel de GRPR120 sont incapables de répondre efficacement à l'ALA (allant jusqu'à 100 μ M) et sont donc incapables de déclencher une réponse anti-inflammatoire et protectrice (Ichimura et al. 2012).

Chez l'Homme, les études montrant un effet des ω -3 sur l'insulino-résistance sont assez rares. En effet, et à l'inverse des études menées chez la souris ou le rat, l'administration des ω -3 ne montre pas d'effet probant sur la réversion de l'insulino-résistance chez les sujets atteints de diabète de type 2 (Akinkuolie et al. 2011; Flachs et al. 2005; Kabir et al. 2007).

En revanche, de nombreuses études ont également mis en avant le rôle bénéfique des ω -3 dans la prévention des maladies cardiovasculaires et notamment en raison des propriétés anti-arythmique, anti-trombotique, anti-inflammatoire et hypo-triglycéridémique des ω -3. Les ω -3 abaissent la pression artérielle et améliorent la fonction des cellules endothéliales (Rudkowska 2010). De plus, les volumes des tissus adipeux épigastrique et abdominal (estimé par tomographie) de patients souffrant de maladies cardiaques ont été réduits suite à une prise journalière de 1.8 g d'EPA purifiée, montrant l'effet bénéfique des ω -3 sur la réduction du risque de maladies cardiovasculaires (Sato et al. 2014). En effet, diverses études utilisant des doses variées en oméga-3 et des durées de traitement plus ou moins longues ont toutes conclu à une réduction des TG sanguin (Hartweg et al. 2009). D'ailleurs, le taux d'oméga-3 incorporé dans la membrane des globules rouges, témoin de l'incorporation des ω -3 au sein des phospholipides, est inversement corrélé avec la triglycéridémie

(Skulas-Ray et al. 2015). Néanmoins, une étude randomisée portant sur 12 536 patients insulino-résistants ou diabétiques et supplémentés quotidiennement avec de l'huile de poisson n'a pas montré d'effet cardio-protecteur même si une réduction significative de la triglycéridémie a été observé (ORIGIN Trial Investigators et al. 2012).

Enfin, il a été rapporté que même suite à une supplémentation, les ω -3 ne sont pas préférentiellement stockés dans le tissu adipeux mais sont plutôt retrouvés en abondance dans le sang circulant et dans la membrane des globules rouges (Hodson et al. 2008).

Pour conclure sur ces études menées chez l'Homme, que l'individu soit sain ou obèse, la consommation régulière d'une source riche en ω -3 réduit les taux de TG sanguin ce qui est en accord avec une baisse du risque cardiovasculaire. En revanche, hormis quelques études menées chez le sujet sain, les ω -3 ne semblent pas améliorer la réponse à l'insuline chez les sujets obèses ou diabétiques. Une étude récente, a même associé l'apport en ω -3 avec une aggravation de l'insulino-résistance déjà établie dans le muscle, le foie et le tissu adipeux (Delarue et al. 2016).

B. Effets connus des ω -3 sur l'inflammation du tissu adipeux

1. Etudes dans les modèles animaux

Les ω -3 exercent un rôle anti-inflammatoire au sein du tissu adipeux en inhibant en partie l'infiltration des macrophages et surtout la sécrétion de cytokines et chémokines inflammatoires.

Réduction du nombre de cellules immunitaires inflammatoires dans le tissu adipeux.

Effectivement, plusieurs études ont montré un effet bénéfique des ω -3 dans la réduction du nombre de macrophages infiltrant le tissu adipeux en condition d'obésité ou de diabète. Todoric a montré que 6 semaines de supplémentation d'un régime riche en graisse avec des ω -3 prévient l'infiltration des macrophages dans le tissu adipeux des souris db^+/db^+ (Todoric et al. 2006). Monk et al. ont montré une réduction significative de l'infiltration des $F4/80^+ CD11c^+$ (M1) dans le TAV (Monk et al. 2012a). En effet, Da Youg Oh a montré que des macrophages pré-traités avec des ω -3 et exposés à du surnageant adipocytaire ou à du MCP-1 ont une chémotaxie réduite (-80%), ce qui explique qu'elles sont moins capables d'infiltrer le tissu adipeux en cas d'obésité (Oh et al. 2010). De même, le remplacement de 15 % d'un régime riche en graisse par de l'EPA, prévient l'infiltration du tissu adipeux par les macrophages. Les auteurs ont associé cet effet à la réduction de l'hypertrophie des adipocytes et à une augmentation de l'oxydation des AG (LeMieux et al. 2015). De plus, des souris Fat-1, riche en ω -3, sont protégées contre l'obésité, normalement provoqué par un régime

hyperlipidique chronique, et sont donc protégées de l'infiltration des macrophages dans le tissu adipeux (Belchior et al. 2015).

Confortant l'idée d'un rôle anti-inflammatoire des ω -3 sur le tissu adipeux, la RvE1, un des métabolites des ω -3, est capable d'inhiber la migration des CD limitant ainsi l'activation des LT dans les ganglions lymphatiques (Sawada et al. 2015).

Immunosuppression de la réponse inflammatoire.

L'huile de poisson (EPA/DHA) inhibe la production d'une variété de protéines inflammatoires comme COX-2, CD80/CD86, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 et l'IL-12 dans des cultures de cellules endothéliales (De Caterina et Libby 1996; Khalfoun et al. 1997), de macrophages (Oh et al. 2010; Babcock et al. 2002; Y. Liu et al. 2014; J. Y. Lee et al. 2001) et de cellules dendritiques (Kong et al. 2010; Draper et al. 2011; Weatherill et al. 2005). L'huile de poisson inhibe aussi l'inflammation médiée par TLR4 en réduisant les gènes cibles amplifiés par cette voie inflammatoire, comme le TNF α , l'IL-1 β , l'IL-6 et COX2. Les ω -3 inhibent également l'expression de TLR4 membranaire et de son adaptateur MyD88 (Y.-H. Liu et al. 2015). La supplémentation en huile de poisson d'un régime riche en graisse protège les souris de l'obésité et inhibe l'expression de l'IL-6, du TNF- α , de l'IFN γ et de MCP-1 dans le TAV (Monk et al. 2012a). En plus des dérivés de l'ALA, les médiateurs lipidiques jouent un rôle dans l'inhibition de l'inflammation. En effet, la RvE1 exerce un effet anti-inflammatoire en limitant la sécrétion de plusieurs cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-12, l'IL-23, l'IL-6 et l'IL-17 (Arita et al. 2005; Ishizuka et al. 2008). En revanche Enos et al. n'ont montré aucun effet des ω -3 sur l'inflammation du tissu adipeux (Enos et al. 2014)

2. Etudes chez l'Homme

De nombreuses études montrent un effet bénéfique des ω -3 sur l'inflammation du tissu adipeux (Spencer et al. 2013; Haghiac et al. 2015; Itariu et al. 2012; Kabir et al. 2007). Les ω -3 minimisent les effets d'un régime riche en graisse en partie via l'inhibition de l'inflammation et l'augmentation de l'oxydation des lipides. Une étude de supplémentation en ω -3 (1.8g/jour sur 8 semaines) menée sur des femmes ménopausées et atteintes de diabète de type 2, et ayant un IMC similaire aux alentours de 30 kg/m², a montré un effet bénéfique sur le degré d'adiposité et l'inflammation du TAsc. En effet, une baisse des facteurs MMP9, CD68 et MCP-1 dans le TAsc ont été rapportés (Kabir et al. 2007), reflétant éventuellement une inhibition des facteurs impliqués dans le

remodelage tissulaire et dans l'infiltration des macrophages. Une autre étude concerne un essai randomisé dans lequel des sujets obèses morbides ont reçu des suppléments d'EPA/DHA sous forme de capsules ou un équivalent en gramme de beurre, pendant 8 semaines. Les résultats sont en faveur d'une baisse de l'inflammation du tissu adipeux, puisque les auteurs ont montré une inhibition de l'expression des facteurs chimiotactiques comme MCP-1 et CCL-3, mais aussi de l'IL-6 et HIF-1 α et une augmentation de l'expression de l'adiponectine dans le TAsc (Itariu et al. 2012). Un peu plus tard, Spencer et al. ont montré que 12 semaines de supplément d'oméga-3 ont réduit le niveau de MCP-1 plasmatique, avec une diminution du nombre de macrophage ainsi qu'une augmentation de la capillarité du TAsc (Spencer et al. 2013). Enfin, une étude plus récente menée sur des femmes enceintes en surpoids ou obèses, et supplémenté en ω -3 dès la 10^{ème} semaine de grossesse et jusqu'à terme, a montré une réduction de l'inflammation du TAsc, avec une expression réduite de l'IL-6, l'IL-8, TNF- α et TLR4 (Haghiac et al. 2015) (**Tableau 6**).

Auteurs (Année)	Sujets	Type et durée des traitements	Principaux résultats
Haghiac et al. (2015)	Femmes enceintes en surpoids ou obèses	supplémentation en ω -3 (0,8 g DHA + 1,2 g EPA), début traitement à 10 sem. de grossesse jusqu'à terme. traité (n=25) vs. placebo (n=24)	augmentation des ω -3 totaux plasmatique + fort ratio ω -3/ ω -6 (p<0,005) entre 34 -36 sem. Pas d'effet sur TA et placenta. Pas d'effet sur l'indice HOMA-IR; diminution de l'expression ARNm IL-6, IL-8, TNF α et TLR4 dans le TAsc et tissu placentaire (p<0,05); diminution CRP plasmatique (p<0,05).
Haghiac et al. (2015)	Femmes enceintes en surpoids ou obèses	<i>in vitro</i> , 24h de traitement du SVF issu du TAsc ou des cellules du trophoblaste avec EPA ou DHA +/- LPS ou palmitate	Le traitement des cellules par l'EPA ou le DHA prévient l'inflammation induite par le LPS ou le palmitate (ARNm TLR4, IL-6 et IL-8 réduits)
Itariu et al. (2012)	Individus obèses morbides	8 semaines supplémentation en ω -3 (0,46g EPA + 0,38g DHA) vs. groupe contrôle supplémenté en équivalent de beurre (ω -6) traité (n=27) vs. contrôle (n=28)	Baisse expression ARNm MCP1, CCL3, IL-6, HIF-1 α et TFG- β 1 et augmentation adiponectine dans TAsc. Augmentation des éicosanoïdes anti-inflammatoires dans le TAV: RvE1, PD1, RvD1 et 17-HDHA.
Spencer et al. (2013)	Individus en surpoids ou obèses insulino-résistants	12 semaines de supplémentation en ω -3 (4g/jour) traité (n=19) vs. placebo (n=14)	Réduction des niveaux de MCP-1 sanguins et dans le TAsc, avec une diminution du nombre de macrophages et une augmentation de la capillarité du TA. Les taux ω -3 sont augmentés dans le TAsc/muscle mais pas d'amélioration de l'insulino-sensibilité.
Kabir et al. (2007)	Femmes surpoids/obèses et DT2 sans hypertriglycémie	8 semaines de supplémentation en ω -3 (1,8 g/jour) traité (n=12) vs. placebo (n=14)	L'huile de poisson inhibe l'expression de MCP-1 et CD68 dans le TAsc

Tableau 6: Effets connus des ω -3 sur l'inflammation du tissu adipeux (TA).

C. Effets connus des ω -3 sur les Th17 en pathologie

Le traitement des LT CD4⁺ avec des ω -3 (huile de poisson ou EPA ou DHA purifié) a montré une réduction de la polarisation des Th1 (P. Zhang et al. 2006) et Th17 (Monk et al. 2012a, 2013a), *ex vivo*. Au niveau mécanistique, il semblerait que les ω -3 modulent le niveau d'activation de STAT3 (P-STAT3/STAT3), l'expression de ROR γ t et donc réduit la polarisation et l'activation des Th17 (Monk et al. 2012a, 2013a). De plus, Monk et al. ont montré une réduction significative de l'expression membranaire des récepteurs à l'IL-6 (IL-6R) et à l'IL-23 (IL-23R) au niveau des Th17 issu de souris ayant été nourries avec un régime standard supplémenté avec des ω -3 en comparaison à celles nourries avec des ω -6 (huile de maïs) pendant 3 semaines. Les Th17 sont donc moins capables de répondre à l'IL-6 et à l'IL-23, réduisant ainsi la prolifération et le maintien des Th17 en culture (Monk et al. 2013a). Par la suite, Allen et al. ont attribué la baisse de l'IL-6R avec la modification des rafts lipidiques (Allen et al. 2014). Par ailleurs, il est probable que l'effet immunosuppresseur des ω -3 sur les Th17 passe par l'augmentation de la sécrétion de l'IL-27, cytokine suppressive de la différenciation des Th17 (Yoshida, Nakaya, et Miyazaki 2009; Monk et al. 2012a; Allen et al. 2014). Enfin, les ω -3 inhibent l'expression de CCR6, inhibant ainsi son recrutement des Th17 vers les sites inflammatoires (Monk et al. 2012a). Validant les résultats obtenus par Monk et al., des chercheurs français ont montré que des LT naïfs (CD4⁺ CD62L) issus de souris dont le régime a été enrichi en DHA (3 semaines) et soumis à un milieu polarisant pro-Th17, ne sont plus capables de se différencier en Th17 (CD4⁺ RORc⁺) (Berger et al. 2013). Cette immunosuppression est dose-dépendante et est maximale à 100uM de DHA (l'EPA n'a pas inhibé les Th17). Au niveau mécanistique, la DHA active le facteur de transcription PPAR γ qui va se fixer sur le promoteur de Socs3, induire sa transcription, provoquant une baisse de la phosphorylation de STAT3, une baisse de l'expression de Rorc et une inhibition de la production d'IL-17 (Berger et al. 2013). A noter que SOCS3 est un puissant régulateur de l'activité de STAT3 (Yu et al. 2008). Par ailleurs, il est possible que le DHA agisse à un autre niveau. En effet, il a été montré que l'activation de PPAR γ (par un agent pharmacologique) empêche l'activation du promoteur Ror γ t en empêchant la dégradation de son corépresseur (Klotz et al. 2009). De plus, les auteurs ont montré que l'activation de PPAR γ dans les CD4⁺ prévient la différenciation des Th17 mais n'a aucun effet sur les Th1, Th2 ou Treg (Klotz et al. 2009). Donc PPAR γ , en outre activé par les ω -3, représente un régulateur négatif de la différenciation des Th17 aussi bien chez l'Homme que la souris (Klotz et al. 2009) (**Figure 30**).

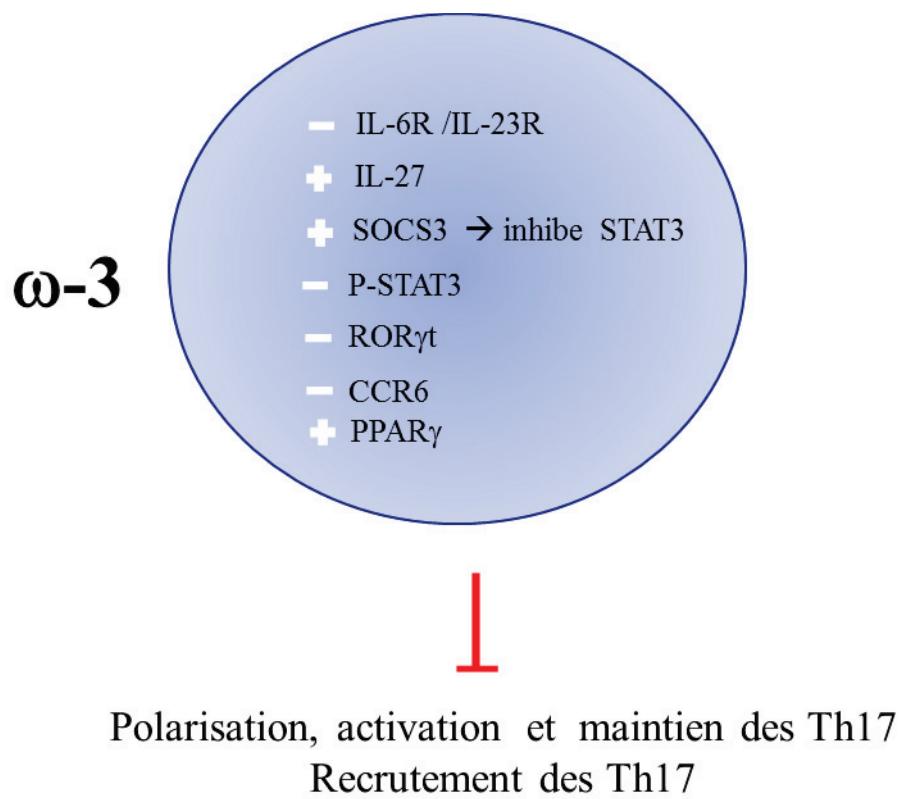


Figure 30: Mécanisme d'action des ω -3 sur l'inhibition des Th17.

Plusieurs pathologies inflammatoires chroniques et/ou auto-immunes impliquent l'activation des Th17. Certaines études ont montré un effet bénéfique des ω -3 sur la réduction de la gravité de la maladie à travers l'inhibition des Th17 et des cytokines associées (**Tableau 7**).

La colite intestinale est une maladie inflammatoire chronique du colon impliquant en partie les cellules Th17 inflammatoires et où l'on retrouve un fort taux de PGE2 intestinale. L'utilisation de souris Fat-1 prévient l'inflammation du colon induite par un traitement au TNBS, réduit l'expression des marqueurs des Th17 (ex. l'IL-17, l'IL-23 et ROR γ t), en plus des marqueurs de l'inflammation comme l'IL-1 β , le TNF- α et MCP-1, ainsi que de la fréquence des Th17 dans le colon. Les auteurs ont associé l'inhibition de l'induction des Th17 à une réduction de la PGE2 intestinale par les ω -3 (Monk et al. 2014).

De plus, des souris nourries aux ω -3 sont moins susceptibles à l'uvéïte, inflammation des structures internes de l'œil, en comparaison à celles nourries aux ω -6. Cette différence est liée à l'inhibition de la fonction des Th1 et Th17 et de leurs fréquences au sein de la rétine, normalement très présents dans cette pathologie (Shoda et al. 2015).

Par ailleurs, les ω -3 ont montré des effets bénéfiques dans le psoriasis aussi bien chez l'Homme que chez la souris. Des souris fat-1 traitées avec un agent psoriasique (IMQ-fat-1) développent beaucoup moins de lésions psoriasiques que les souris WT. Les auteurs ont montré que cette protection est liée à une réduction de l'inflammation propre à la voie IL-17/IL-23 avec une réduction considérable des Th17 et une augmentation des Treg au niveau de la rate des souris IMQ-fat-1 (Qin et al. 2014).

Des thérapies utilisant un anticorps neutralisant le TNF α sont courantes chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde. Une des conséquences de ce traitement est l'induction des Th17. En effet, en inhibant le TNF α , les CD4⁺ en condition inflammatoire auront plus tendance à se différencier en Th17. Les ω -3 ont pu inhiber cette tendance, *in vitro* (Jeffery et al. 2017).

Un traitement préventif avec 5% d'EPA, inhibe significativement l'induction de la sclérose en plaques chez la souris. Les auteurs de cette étude ont corrélé ce phénotype à une augmentation de l'expression des PPAR (α , β et γ) et à une inhibition de la production d'IL-17A et d'IFN γ par les CD4⁺ infiltrant le SNC (Unoda et al. 2013). Par ailleurs, Kong et al. avaient montré une réduction du nombre de Th17 et de Th1 dans la rate et le SNC de souris atteintes de sclérose en plaques, en raison de l'immaturité des CD traités avec des ω -3 (Kong et al. 2011).

En lien avec l'obésité et l'augmentation de la population des Th17 infiltrant le tissu adipeux, une seule étude montre un effet bénéfique d'une supplémentation nutritionnelle en huile de poisson (12 semaines) sur la réduction de l'IL-17 dans le TAV (Monk et al. 2012a). En effet, un régime enrichi

en ω -3 réduit l'expression des marqueurs de l'inflammation courant comme le l'IL-6, l'IFN γ et MCP-1, mais surtout les cytokines sécrétées par les Th17 comme l'IL-17F et l'IL-21. Les ω -3 réduisent l'expression de Ror γ t dans le TAv (régime gras (9.08 \pm 3.21) vs. riche en ω -3 (3.75 \pm 0.54)) mais la différence n'est pas significative ($p = 0.08$). En revanche, ce régime riche en ω -3 réduit significativement la population de CD4⁺ capable de se différencier en Th17 en condition polarisante (milieu polarisant riche en TGF- β + IL-6 + IL-23+ anti-IFN γ + anti-IL-4) (Monk et al. 2012a).

Auteurs (Année)	Pathologies	Espèces	Type et durée des traitements	Principaux résultats
Monk et al. 2012	OBESITE	souris WT	souris soumises à un régime gras (HF) vs. supplémentées en ω -3 (HF-FO) pendant 12 sem.	inhibition % Th17 rate; réduction leptine et résistance plasmaticques; inhibition expression gènes inflammatoires (IL-6, IFN γ , MCP-1, IL-17F, IL-21) dans le TAV; inhibition polarisation HF-FO-CD4 ⁺ en Th17
Monk et al. 2012 Monk et al. 2014	COLITE	souris WT vs. <i>fat-1</i>	souris <i>fat-1</i> (synthèse endogène ω -3); induction de la colite expérimentale chez souris WT et <i>fat-1</i>	réduction % Th17 colon/rate/ganglions mésentériques souris <i>fat-1</i> vs. WT; réduction expression gènes relatifs aux Th17 (IL-17A, IL-17F, IL-21, CCR6, ROR γ t) et augmentation IL-27 (suppresseur Th17) dans le colon; réduction expression IL-6, IL-1 β et TNF α dans le colon
Shoda et al. 2015	UVEITE	souris WT	souris supplémentées avec ω -3 ou ω -6 2 sem avant et après l'induction de l'uvéite expérimentale	les ω -3 inhibent la sécrétion d'IL-17A par les Th17 de la rétine/ganglions lymphatiques. réduction ARNm ROR γ t rétine/ganglions lymphatiques en comparaison aux souris nourries aux ω -6.
Qin et al. 2014	PSORIASIS	souris WT vs. <i>fat-1</i>	souris WT vs. <i>fat-1</i> traitées avec agent psoriasiatique (IMQ)	réduction du % de Th17 et augmentation % Treg dans la rate des souris <i>fat-1</i> -IMQ en comparaison aux souris WT. Réduction des niveaux IL-17A, IL-22 et IL-23 plasmaticques des souris <i>fat-1</i> -IMQ vs. IMQ-WT
Unoda et al. 2013 Kong et al. 2011	SCLEROSE EN PLAQUES	souris EAE (modèle sclérose en plaques)	souris traitées aux ω -3	inhibition IL-17A ⁺ Th17 et IFN γ ⁺ Th1 du pool de LT CD4 ⁺ infiltrant le SNC et la rate

Tableau 7: Effets connus des ω -3 sur les Th17 en pathologies.

Revue 1



Review

Pathogenic Role of IL-17-Producing Immune Cells in Obesity, and Related Inflammatory Diseases

Marwa Chehimi ¹, Hubert Vidal ¹ and Assia Eljaafari ^{1,2,*}

¹ Univ-Lyon, CarMeN Laboratory, Inserm U1060, INRA U1397, Université Claude Bernard Lyon 1, INSA Lyon, Charles Mérieux Medical School, F-69600 Oullins, France; marwa.chehimi@gmail.com (M.C.); hubert.vidal@univ-lyon1.fr (H.V.)

² Clinical Research Department, Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon-Sud, F-69495 Pierre Bénite, France

* Correspondence: assia.eljaafari@univ-lyon1.fr; Tel.: +33-426-235-922

Received: 30 April 2017; Accepted: 4 July 2017; Published: 14 July 2017

Abstract: Obesity is associated with low-grade chronic inflammation. Indeed, adipose tissues (AT) in obese individuals are the former site of progressive infiltration by pro-inflammatory immune cells, which together with increased inflammatory adipokine secretion induce adipocyte insulin resistance. IL-17-producing T (Th17) cells are part of obese AT infiltrating cells, and are likely to be promoted by adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, as previously reported by our team. Whereas Th17 cell are physiologically implicated in the neutralization of fungal and bacterial pathogens through activation of neutrophils, they may also play a pivotal role in the onset and/or progression of chronic inflammatory diseases, or cancer, in which obesity is recognized as a risk factor. In this review, we will highlight the pathogenic role of IL-17A producing cells in the mechanisms leading to inflammation in obesity and to progression of obesity-related inflammatory diseases.

Keywords: obesity; IL-17-producing T (IL-17) cells; adipose-derived-stem-cells; inflammatory diseases; immuno-metabolism

1. Introduction

Overweight and obesity are defined as excessive fat accumulation induced by consuming many more calories than the body can burn. They have become a major worldwide health problem. In fact, a recent study has evaluated that more than 2 billion adults worldwide are overweight (Body Mass Index (BMI) ≥ 25 kg/m²), and 671 million of them are clinically obese (BMI ≥ 30 kg/m²) [1]. Accordingly, a model of mathematical analysis forecasts that more than 51% of the population worldwide will be obese by 2030 [2].

Excessive weight gain can provoke severe complications such as hypertension, type II diabetes (T2D), atherosclerosis and hyperlipidemia, which define the “metabolic syndrome”. But, only half of obese patients with BMI from 30 to 50 kg/m² are metabolically unhealthy [3]. However, transient metabolic syndrome can be encountered in lean individuals, such as during infection, where increased secretion of TNF- α , IL-6 and IL-1 β by macrophages inside infected tissues induces a locally and temporary insulin-resistant (IR) state. Such a response is beneficial for the elaboration of a potent defense against pathogens, through a decrease of nutrient storage but an increase of glucose concentrations [4]. While transient inflammation-mediated IR can be helpful, excessive adipocyte death and lipid availability leads to permanent inflammation, and transforms a temporary IR state into a chronic and systemic IR state. Thus, chronic adipose tissues (AT) inflammation is considered the causal event leading to insulin resistance, and subsequently to T2D in obese individuals. At an advanced stage, obese AT become heavily infiltrated by a variety of immune cells such as macrophages and T cells, leading to inflammation. T cell distribution varies in obese AT, with a trend

towards higher CD8⁺ to CD4⁺ ratios, in particular in visceral AT [5]. Whereas macrophage activation is likely to be mediated by IFN γ -secreting T helper 1 (Th1) cells, CD8⁺ T cells appear to play an essential role in the initiation of adipose tissue inflammation, through recruitment and differentiation of macrophages [6]. In addition to Th1 cells, Th17 cells, recognized as active players of chronic inflammatory and autoimmune diseases, have been recently found to play an important role in obesity and T2D (as reviewed below).

Because obesity appears to exacerbate chronic inflammatory diseases, autoimmune diseases and cancer [7,8], in this review, we will point out the role of pathogenic Th17 cells in obesity and related chronic inflammatory diseases and cancer. We will also describe the impact of immuno-metabolism interference in Th17 cell differentiation, which should bring new insights into the understanding of obesity contribution in inflammatory disease exacerbation.

2. IL-17 Producing Cells

IL-17A or F is produced by cells of innate and/or adaptive immunity. Th17 cells are, however, the major source of IL-17 production, an inflammatory cytokine that in part induces neutrophil recruitment towards inflammation sites, through release of chemokines, like CXC-chemokine ligand-1 (CXCL1), CXCL2, IL-8, or GCP-2/CXCL6 [9]. Moreover, IL-17A or F increases neutrophil elastase and myeloperoxidase (MPO) activities and plays an important role in the defense against the bacteria or fungi that have not been cleared by Th1 or Th2 cells, such as *Propionibacterium acnes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter rodentium*, or *Candida albicans* [10]. Accordingly, in the hyper-IgE syndrome Th17 cell deficiency, which occurs subsequently to STAT3a mutation, leads to recurrent *C. albicans* and *Staphylococcus aureus* skin and lung infections [11]. Besides physiology, Th17 cells have been given particular attention in pathology, due to their implication in chronic inflammatory/autoimmune diseases, or cancer.

2.1. Characterization of Th17 Cells

IL-17A and IL-17F are members of a six cytokine family, i.e., IL-17A to IL-17F, which surface receptors are IL-17RA to IL-17RE. IL-17A (also named IL-17) is the major cytokine secreted by Th17 cells. It forms a homo or heterodimer with IL-17F, and signals through binding to IL-17RA/IL-17RC heterodimeric complex. IL-17RA ubiquitous expression may account for the potential propagation of IL-17-mediated inflammation [12]. Commitment of IL-17 from naive T cells has been shown to require a combination of antigen-presenting cells (APC)-secreted cytokines, such as at least IL-6 and TGF- β , together with CD28 plus ICOS costimulation [13]. While naive T cells do not express the IL-23 receptor, IL-23 is required for differentiation, expansion and maintenance of Th17 cell pools [14]. Differentiation of Th17 cells are derived from a three-step process. In the first step, the combination of TGF- β and IL-6 drives naive T cells towards the Th17 cell pathway. IL-6 through Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3), triggers activation of the Retinoic acid Orphan Receptor γ thymus (ROR γ t) transcription factor in mouse, or RORC in human, a critical transcription factor (TF) implicated in Th17 cell development [15]. As CD161 surface molecule is induced by RORC, it serves as a marker of human Th17 cells [16]. Then TGF β renders naive T cells sensitive to IL-23 by increasing expression of its receptor [17]. In the second and third steps, IL-21 participates to Th17 cell expansion, whereas IL-23 stabilizes the Th17 cell phenotype [18]. TGF- β appears to play a pleiotropic role, as it is involved in the generation of regulatory T cells (Tregs) through Forkhead box P3 (FoxP3) expression, but it activates Th17 cell differentiation, in the presence of IL-6. Since IL-6 inhibits FoxP3, but favors Th17 cell differentiation, this results in a reciprocal regulation between Tregs and Th17 cells [19]. In this balance, IL-2 plays also a regulatory role since this growth factor is required for Tregs expansion and activation, but inhibits Th17 cell promotion. Thus, Th17 cells are promoted when IL-2 is consumed, notably by Tregs. At the molecular level, inhibition of IL-17A production is likely to be related to competitive inhibition of STAT-5 binding to the IL-17-enhancer element by STAT-3 [20]. Accordingly, we have reported that interaction between adipose-derived

stem cells and T cells promotes Th17 cell activation and IL-17 production through inhibition of STAT5 binding to the IL-17 enhancer element [21]. IRF4 transcription factor seems also involved in ROR γ t expression, as assessed by the failure of IRF4-deficient T cells to induce ROR γ t and subsequent Th17 cell differentiation, following IL-6 and TGF- β co-stimulation [22].

2.2. Pathogenic Th17 Cells

Th17 cells that have differentiated from naïve T cells in the presence of IL-6 plus TGF- β present limited pathogenicity, as opposed with Th17 cells that have been generated in the presence of IL-1 β , IL-6 plus IL-23 with or without TGF- β [23]. The pathogenicity of Th17 cells has been related to their double expression of ROR γ t and Tbet, leading to double secretion of IL-17 and IFN γ by Th17 cells. Indeed, IFN γ induces pathogenic Th17 cell polarization and recruitment, through induction of IL-1 β /IL-23 cytokine secretion by APC, together with CCL20, a chemokine which receptor, i.e., CCR6, is preponderantly expressed by Th17 cells [24]. Moreover, pathogenic Th17 cells are also known to secrete Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor (GM-CSF), and to express cytolytic granzyme B, and/or IL-18R [25,26] with IL-18 being able to stimulate IL-17 secretion by Th17 cells [27]. Expression of IL-1R1 is a marker of pathogenic Th17 cells which persists even when Th17 cells lose their ability to secrete IL-17 upon time. It helps thus to distinguish between Th1 cells and “ex-Th17” cells [28]. Finally, pathogenic Th17 cells have been implicated in a number of chronic inflammatory diseases and cancers, as it will be described below.

However, Th17 cells are not the sole IL-17-secreting cells, as mice depleted from functionally CD4⁺ and CD8⁺ T cells only show a 90% reduction in IL-17 secretion [29]. Moreover, ROR γ t deficient T cell mice display only a 75% deficiency in gut Th17 cells [15].

2.3. $\gamma\delta$ T17 Cells

$\gamma\delta$ T17 cells are actors of innate immunity, they express TCR with γ and δ chains and produce IL-17. Commitment of $\gamma\delta$ T17 cell occurs in the thymic compartment, from double negative CD4⁻ CD8⁻ cells whereas Th17 cell skewing occurs in lymphoid organs. $\gamma\delta$ T17 cells share several surface markers with Th17 cells such as CD161, CCR7, CCR4 and CCR6. They express ROR γ t transcription factor, and AhR, a marker of non-pathogenic Th17 cells [30]. Like Th17 cells, $\gamma\delta$ T17 cells secrete IL-17A/F, IL-21 and IL-22, cytokines and express IL-23R [31]. However, in contrast to Th17 cells, $\gamma\delta$ T17 cells do not require IRF4 transcription factor activation to produce IL-17 [32], and are able to directly respond to cytokine or TLR stimuli, such as TLR1, TLR2 but not TLR4 [30]. Moreover, they classically secrete both IL-17 and IFN γ , through upregulation and activation of both RORC and Tbet TFs. Such an innate response helps to develop immune responses against microbial antigens, such as HIV, or *C. Albicans* [33]. Finally, probably due to their ability to secrete both IL-17 and IFN γ , $\gamma\delta$ T17 cells have also been implicated in autoimmune disorders, such as rheumatoid arthritis (RA) or experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) [34,35].

2.4. Invariant Natural Killer T (iNKT) Cells

iNKT cells are enriched in tissue barriers including lung and skin, but are also found in adipose tissues and liver. They belong to the innate immune system and serve to mount an efficient defense against microbial pathogens. iNKT cells express an invariant TCR which recognizes self or foreign glycolipids, such as α -galactoceramide (α -GalCer), loaded on the CD1d molecule (MHC-I like molecule). IL-17-producing iNKT cells (iNKT17) express ROR γ t and AhR, but do not secrete IL-22. Their characteristic phenotype is CD4⁻ NK1.1⁻ CD161⁺, IL-23R⁺. Like pathogenic Th17 cells, their activation depends on the presence of IL-1 β , IL-6, IL-23 and TGF- β which activates the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [36,37]. IL-17⁺ iNKT cells have been shown to drive neutrophilic airway inflammation upon adoptive transfer [38] and have been implicated in diseases, such as T2D [39].

2.5. Innate Lymphoid Cells (ILC)

ILC are found in various tissues including intestine, adipose tissues and mesenteric lymph nodes. Moreover, mucosal surfaces are enriched in ILC. They regulate tissue development, integrity and homeostasis [40] and are described as the former innate immune cells able to react against pathogens because of their location in the gut. Of interest is the identification of different subsets, which secretion patterns correspond to those of T helper cells. Thus, ILC1/Th1, ILC2/Th2, ILC3/Th17 cells present highly similar cytokine patterns.

ILC3 are niched in the gut lymphoid follicles, where they can cooperate with various immune cells to induce an efficient and rapid immune response against pathogens. They also express ROR γ t and CD161. ILC3 predominantly secrete IL-22, which plays an essential role in epithelial and stem cell regeneration, and in homeostasis between host and microbes at mucosal surfaces [41]. IL-17 is secreted by CCR6⁺, but not CCR6⁻ ILC3 cells, in response to bacterial or fungal antigens, through MHC-peptide presentation [42]. Consistent with this observation, ILC3 lacking MHC II fail to regulate host-specific commensal bacteria interactions, but initiate the onset of inflammation, as demonstrated in inflammatory bowel disease (IBD) [43]. Finally, IL-23-secreting dendritic cells (DC) are sufficient to induce IL-17 and IL-22 secretion by ILC3, while IL-7 and IL-1 β stimulate proliferation and survival of ILC3 [44]. In pathology, ILC3 can exert pro- or anti-tumor activities depending on the environment and the stage of the disease. ILC3 are increased in peripheral blood of patients with psoriasis [45], and are linked with obesity-associated asthma [46]. A correlation between ILC3 and multiple sclerosis (MS) has recently been reported [47].

3. Mechanisms Involved in Th17 Cell Polarization in Obese AT, or Periphery

Obesity has been shown to promote expansion of IL-17-producing T cells in AT or periphery, in human and rodent models, as well. The presence of CD4⁺- and CD8⁺-infiltrating cells in obese adipose tissues is correlated with the occurrence of insulin resistance. In addition, CD4⁺ and CD8⁺ cells are more abundant in visceral AT as compared with subcutaneous AT. Among CD4⁺ cells, both IFN γ ⁺/TNF α ⁺-secreting cells Th1 cells and Th17 cells have been identified [48]. However, Winer et al., using the diet-induced-obesity (DIO) murine model, have shown a selective promotion of splenic IL-17A⁺ CD4⁺ T cells pools, without modification of Th1 and Th2 pools [49]. Accordingly, a significant increase in circulating IL-17 and IL-23 cytokines has also been observed in obese as compared with lean individuals, in human [50]. The relationship between obesity and Th17 cells has been further demonstrated in a sheep model, where maternal obesity provoked an inflammatory state in fetal intestine, with increased levels of inflammatory cytokines, and in particular IL-17 [51]. Infiltrating IL-17⁺-secreting cells have also been found more abundant, in obese versus lean AT, and in visceral versus subcutaneous AT [52]. Dalmas et al. have shown that single populations of IL-17⁺ IL-22⁻ and IL-17⁻ IL-22⁺ and double populations of IL-17⁺ IL-22⁺ CD4⁺ T cells were highly induced in the mucosal tissues of obese subjects, as compared with non-obese. Moreover, they have also demonstrated that T2D further increased the frequency of these cells [53]. Supporting the implication of IL-17 in the metabolic syndrome, the levels of IL-17R expression in liver or muscle were shown to correlate with insulin-resistance [52], and IL-17 blocking resulted in the decrease of hepatic inflammation in the non-alcoholic steatohepatitis syndrome (NASH) [54].

3.1. Obesity and Adipose Tissue Inflammation: Role of Macrophages

Besides adipocytes, lean or obese AT contain a wide range of cells such as endothelial cells, fibroblasts, adipose stem-cells (ASC), smooth muscle cells, local mast cells, resident macrophages and leukocytes. Therefore, AT is considered as an endocrine tissue, relative to its aptitude to secrete (i) adipokines, such as leptin or, adiponectin, (ii) cytokines, and/or (iii) chemokines. Adipocyte homeostasis will depend on the balance between adiponectin plus anti-inflammatory cytokines, versus leptin plus pro-inflammatory cytokines. Thus, in the non-obese state (BMI \leq 25 kg/m²),

healthy AT expansion relies to appropriate adipogenesis (hyperplasia), adequate angiogenesis and effective remodeling of the extracellular matrix (ECM). In contrast, sustained increase in energy intake induces pathological AT expansion with massive enlargement of existing adipocytes (hypertrophy) and restricted angiogenesis, resulting in a poorly oxygenated AT [55]. AT hypoxia leads then to adipocyte death and initiates macrophage recruitment [56]. The metabolic health of adipocytes has been correlated with macrophage numbers and their activation state [57]. Namely, in lean AT, depots contain fewer than 10% of resident macrophages, whereas in severe obese individuals, macrophage content can increase up to 50% [58]. Furthermore, in obese AT, 90% of macrophages are localized close to dead adipocytes [59], allowing their aggregation to necrotic adipocytes and formation of crown-like structure (CLS), a histological hallmark of inflammation and insulin resistance, which subsequently leads to AT fibrosis [60]. Moreover, at the qualitative level, macrophages are quite different in lean versus obese AT. Indeed, resident anti-inflammatory, or “alternatively activated” M2 adipose tissue macrophages (ATM) secrete IL-10, IL-4, IL-13, TGF- β and express IL-1RA (IL-1 receptor antagonist), Macrophage Galactose type C-Lectin 1 (MGL1), arginase 1 (Arg1), Ym1 and CD163 [56,60,61]. Obesity induces a switch from anti-inflammatory M2 ATM towards pro-inflammatory M1 ATM which secrete pro-inflammatory cytokines, such as TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-12, IL-23, and leukocyte-attracting chemokines, such as IL-8, Rantes, MIP-1 α and MIP-1 β . Moreover, M1 ATM express CCR2 and CD62L and contribute to angiogenesis and remodeling, through metalloproteinase (MMP) up-regulation, notably MMP9 [62,63]. At the transcriptional level, M1 and M2 ATM are characterized by the expression of IRF5 or IRF4, respectively [64]. Thus, IRF5 deficiency is able to prevent M2 towards M1 switch in DIO-mice, and to results in limited expansion of visceral AT together with enhanced insulin sensitivity [65].

Pro-inflammatory M1 macrophages play thus a crucial role in attracting other immune cells inside AT, such as neutrophils, Th1 and/or Th17 cell subsets.

3.2. Macrophages and Th17 Cell Polarization in Obese AT

The first evidence of the involvement of macrophages in the polarization of T cells towards IL-17 secreting cells was supported by studies demonstrating a correlation between the presence of pro-inflammatory M1 ATM and CD4⁺ Th17 cells in obese AT, as shown in Figure 1. Thus IL-1 β , IL-6 and IL-23, which are produced by M1 ATM, have been correlated with skewing and expansion of Th17 cells in obese and T2D patients [66,67]. Using IL-1 β blocking experiments in a co-culture model where CD3⁺ and CD14⁺ cells were derived from obese AT, Dalmas et al. have confirmed the role of macrophage-secreted IL-1 β in IL-17 production [53]. Indeed, overexpression of IRF5 in M1 macrophages induced activation of genes encoding inflammatory cytokines involved in Th17 cell differentiation or expansion, such as IL-6, and IL-23. TNF α , a cytokine known to be overexpressed in obese AT [7], has been demonstrated to indirectly promote naïve T cells to differentiate into Th1 and Th17 cells as well, through induction of monocyte differentiation into mature dendritic cells (DC) [68] (Figure 1).

In addition to M1 macrophages, a new macrophage subset has recently been identified as able to selectively activate Th17 cells and down-regulate Th1 and Th2 subsets, called mycobacterial infection-induced suppressor macrophages (MIS-MQ). This MIS-MQ subset can be distinguished from M1 and M2 macrophages by its increased levels of IL-1 β and TNF- α gene expression [69]. Finally, the clear demonstration of the implication of CD14⁺ monocytes in the maintenance of the Th17 cell cytokine signature in peripheral blood T cells from T2D patients, was demonstrated with the use of CD14⁺ depleted cell populations in CD3⁺/CD14⁺ co-cultures. Indeed, the rate of IL-17 secretion decreased down to the levels of non-diabetic patients [70].

3.3. Contribution of ASC and Adipocytes in Th17 Cell Polarization

Besides M1 macrophages, adipose-derived stem cells (ASC) can also polarize infiltrating T cells towards the pathogenic Th17 cells, IL-17/IFN γ double secreting subset, in obese AT. This has been demonstrated by our team, using a co-culture model, with ASC and peripheral blood mononuclear

cells (PBMC). In this model, CD14⁺ cells were not found absolutely required, albeit able to amplify ASC-mediated IL-17 production, through IL-1 β secretion [21]. Interestingly enough, adipocytes that were differentiated from obese ASC, displayed a similar ability to promote pathogenic Th17 cells [71]. Moreover, the inflammatory cytokine content of these co-cultures was shown to induce insulin resistance of obese ASC-derived adipocytes and to impair ASC adipogenesis, probably related to the presence of IL-17 in the milieu. Accordingly, IL-17 has been shown to downregulate expression of pro-adipogenic TFs, such as PPAR γ , C/EBP α and KLF15 and to upregulate expression of anti-adipogenic TFs, such as KLF2 and KLF3, in adipocytes [72]. The anti-adipogenic effect of IL-17A can also be caused by COX-2 activation and subsequent increased levels of prostaglandin E2, as treatment of human mesenchymal stem cells with aspirin, a COX-2 inhibitor, reverted the anti-adipogenic IL-17 effect [73].

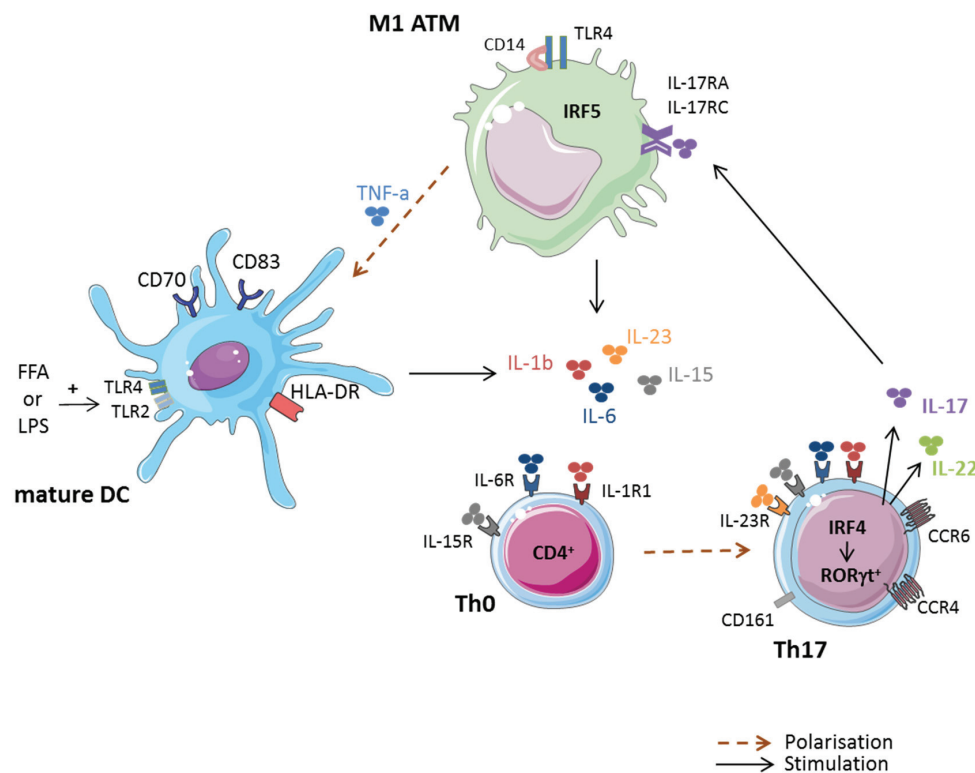


Figure 1. Pro-inflammatory M1 adipose tissue macrophages (ATM) promote IL-17-secreting CD4⁺ Th17 cells in obese adipose tissue (AT). Obese M1 ATM secrete high levels of pro-inflammatory cytokines, including IL-1 β , IL-6, IL-23, and IL-15, which are involved in the promotion and maintenance of Th17 cells. Th17 cells can be either induced from naive IL-23R⁻ CD4⁺ T cells in response to IL-1 β , IL-6 and IL-15 or resting IL-23R⁺ Th17 cells in response to pro-inflammatory cytokines plus IL-23. Interestingly, CD14⁺ M1 can induce maturation of infiltrating dendritic cells (DC) when stimulated by lipopolysaccharide (LPS) or free-fatty acids (FFA). Mature DC, can lead to Th17 cell skewing, through secretion of IL-1 β , IL-6 and IL-23, in obese AT.

3.4. Immunometabolism and Th17 Cell Differentiation

Recent studies have pointed out the role of energy in T helper (Th) cell differentiation, expansion and proliferation [74,75]. Thus, metabolic nutrients are likely to regulate the interplay between Th cells and regulatory T cells, relative to their distinct energy requirements. One such example has been clearly demonstrated with Th17 cells and Foxp3⁺ Tregs. Indeed, as detailed above, Th17 cells and Tregs are tightly and reciprocally regulated by the coordinated action of IL-1 β , IL-23, plus IL-6, in favor of pathogenic Th17 cells or IL-2 plus TGF- β , in favor of Tregs [19]. However, cytokines

appear not to be the sole players in this balance. Glycolysis, which allows the rapid conversion of glucose into pyruvate gives rapid access to 2 ATP molecules, whereas oxidation of pyruvate and subsequent mitochondrial phosphorylation (OXPHOS) are much more potent in fueling the cells, since 36 ATP molecules are generated [76]. Even though less ATP is produced, Th17 cell differentiation and proliferation is preferentially induced by glycolysis, and therefore preferentially uses glucose, amino-acid, or nucleotide substrates, whereas Tregs differentiation is rather induced by the OXPHOS of fatty acid substrates (FAO) [76,77]. As mentioned in a preceding study, hypoxia appears to precede and provoke the onset of inflammation in obese adipose tissues [56]. Such hypoxia increases levels of HIF-1 α , an activator of the glycolytic metabolism, which facilitates Th17 cell generation, under the control of mTOR [78–80], but inhibits Tregs generation, through up-regulation of the Pyruvate Dehydrogenase Kinase (PDHK1), an enzyme impairing OXPHOS [81]. Accordingly, rapamycin, an mTOR inhibitor has been demonstrated to favor Tregs generation, while inhibiting Th17 cell differentiation [82]. De novo fatty acid synthesis (FAS) is also interfering in the balance between Th17 cells and Tregs, since inhibition of acetyl carboxylase (ACC1), a crucial enzyme for de novo fatty acid synthesis, was demonstrated to favor Tregs and impair Th17 cells, indicating thus that FAS is required in the process leading to Th17 cell promotion [83]. Interestingly, a strong correlation between ACC1 expression and Th17 cell differentiation was found in obese mice [84]. Oxysterols such as 27-dihydrocholesterols, oxidized lipoproteins (oxLDLs) or lysophosphatidic acids (LPA) have also been implicated in the promotion of Th17 cells, contributing thus to the understanding of the impact of obesity and its excessive nutrients in Th17 cell promotion [85–88].

4. Obesity and Th17 Cell-Driven Inflammatory Diseases

4.1. Rheumatoid Arthritis

Obesity is likely to be a risk factor of RA, because obese patients display more active and severe RA disease than lean patients. This has been correlated with increased levels of synovial Th17 cells [89]. Accordingly, in the collagen-induced arthritis (CIA) murine model, aggravation of RA in obese mice, as compared with lean mice, has been shown to correlate with higher titers of anti-type-II collagen immunoglobulins, and increased levels of IL-17 mRNA [90]. Moreover, IL-8, a chemokine, involved in the recruitment of neutrophils and up-regulated by IL-17, has been found to be increased in the synovial membranes of obese individuals [91]. Finally, T2D has also been associated with increased risk to develop RA [92].

4.2. Multiple Sclerosis

Obesity is reported as a risk factor of MS, since a correlation between BMI, genetic factors, and MS has been reported [93]. This is likely due to a crosstalk between adipose, immune and neural tissues, through adipokine secretion [94]. Indeed, leptin deficient obese mice (ob/ob mice) have been found to be resistant to EAE induction, and to present a Th17 cell deficiency [95]. In contrast, adiponectin deficient mice have been shown to develop severe EAE, with high levels of IL-17, IFN- γ and IL-6 [96].

Chemerin is an adipokine likely to play a role in EAE, through increased chemerin-receptor expression in CNS-infiltrating leukocytes [97]. Interestingly enough chemerin plasmatic levels are up-regulated in obese MS patients [98]. Supporting the role of obesity in MS pathophysiology, five week calorie restriction has been shown to significantly reduce inflammation and demyelination, correlated with increased serum adiponectin and reduced IL-6 and leptin in EAE mice [99]. Interestingly, a drastic reduction in the number of spinal cord Th17 cells and a decrease in IL-17 seric levels have been found in calorie restricted EAE suffering mice. In this study, the authors have also demonstrated a significant reduction in Th1 cytokines and numbers [100]. Finally, besides pathogenic Th17 cells, obese ASC have also been shown to exacerbate clinical symptoms of EAE mice [101], supporting our data about the pro-inflammatory role of ASC in obesity [21].

4.3. Psoriasis

Obesity is an additional risk factor of psoriasis [102] possibly due to shared characteristics, such as higher serum levels of leptin and/or VEGF- α and lower levels of adiponectin. At the metabolic level, obesity is associated with elevated serum levels of FFA, IL-17, IL-22 and IL-23 which have been correlated with psoriasis severity [103]. Accordingly, treatment of human keratinocytes with palmitic acid, a fatty acid mainly involved in obesity development, induced the expression of Th17 cell-related cytokines together with Reg3 γ , which resulted in epidermal hyperplasia, like in psoriasis [104]. Finally, lipocalin-2 (LCN2), an adipokine correlated with obesity and IR, has been shown to exacerbate psoriatic skin lesions in mice, through increase of IL-17A/F, IL-23p19, IL-12p40, CCL20 and TNF- α , levels, but not IL-12p35 [105]. Altogether, these reports highlight the combined action of FFA and IL-17 in psoriasis aggravation.

4.4. Cancer

Various factors that are present in obesity and T2D are able to increase the risk of developing cancer, such as chronic inflammation, metabolic dysfunction and altered gut microbiota. Inversely, energy restriction is associated with reduced tumor development, and refeeding abrogates the protective effects of fasting against cancer development, in rodent [106]. Among obesity-related adipokines, leptin is likely to play a major role in cancer growth. Indeed, the leptin receptor (ObR) is expressed in various human cancers including colorectal, breast, ovarian or prostate cancers [107], and contributes to carcinogenesis, proliferation, and metastasis [108]. Inversely, adiponectin elicits opposite effects, as administration of adiponectin has been shown to decrease proliferation, vascularity, growth, and invasion, and to increase apoptosis of colorectal or prostate cancer cells [107,109]. Thus, obese preadipocyte-, or mature adipocyte-surrounding tumors (also named cancer-associated-adipocytes, CAA) are likely to negatively impact the course of tumor, through increased secretion of leptin or pro-inflammatory cytokines, as demonstrated in human breast cancers [110,111]. ASC have also been implicated in cancer invasiveness, due to their overexpression chemokine receptors (such as CCR3, CCR7, CXCR4). This allows them to migrate towards tumor sites [112] and exert pro-tumoral properties, such as promotion of neo-angiogenesis and expansion of tumor mass [113].

Besides ASC and adipocytes, Th17 cells and IL-17 secreting cells have been found to infiltrate several types of cancers, in human or rodent models, as well [114–119]. But their role in cancer prognosis is controversial and seems to be tissue specific or dependent on host immune responses [117,120]. Indeed, several studies have linked IL-17 producing cells with protective effects against tumor development and progression [120–125], whereas other studies have correlated the presence of Th17 cells or IL-17-secreting cells in tumors or serum with a poor prognosis [126–134].

At the mechanistical level, the anti-tumor activity of Th17 cells is likely to be related to the recruitment of effector cells, such as Th1, CD8⁺ cells, NK cells, or dendritic cells within the tumor micro-environment, through increased secretion of CXCL9, CXCL10, and CCL20 [123,135,136], and/or the negative presence of Tregs [114]. Moreover, pathogenic Th17 cells have been shown to be as more potent effectors than Th1 cells in the eradication of cutaneous melanoma, due to their ability to secrete IFN γ [124]. Accordingly, recent reports have demonstrated that the efficiency of cyclophosphamide in eradicating tumors may be related to the alteration of the microbiota composition in favor of bacterias able to stimulate generation of pathogenic Th17 cells [122,137]. In contrast, the pro-tumoral role of Th17 cells may be related to their ability to induce tumor vascularization, especially in immune-deficient mice [117]. Indeed, IL-17 induces IL-6 production by tumor cells and/or tumor-associated stromal cells, which results in the activation of STAT3, a well-known oncogenic TF, that up-regulates pro-angiogenic factors [138]. Thus, host immune competency is likely to account for Th17 cell role in tumor development.

Table 1 highlights recent studies in which IL-17-secreting cells have been found to display anti- or pro-tumoral properties.

Table 1. IL-17-secreting cells: pro- or anti-tumoral activity? This table highlights different studies in which IL-17-secreting cells were associated with either anti- or pro-tumoral activities.

IL-17 Effects	IL-17 Secreting Cells	Cancer Type	Experimental Model	Key Findings	Ref.
	Th17 Tc17	MC38 colorectal tumor cells	in vitro assays; cells were SC injected in C57BL/6 mice followed by adoptive transfer of polarized-Tc17 treated or not with LYC-54143	Activation of ROR γ t with an agonist (LYC-54143) enhanced Th17 (IL-17+CD4+) and Tc17 (IL-17+CD8+) effector activity and reduced Treg immunosuppressive a function, allowing potent anti-tumor response in vitro. Adoptive transfer of Tc17 cells treated with ROR γ t agonists inhibited tumor growth.	[121]
	pTh17 Th1-Th17 γ δ T17	MCA205 fibrosarcoma, MC38-OVA dim colorectal cells	SC injection of tumoral cells into ATBs-treated C57BL/6 mice followed with E. hirae or B. intestinihominis bacteria inoculation	E.hirae markedly increased pTh17 cells (a population of double positive IFN- γ +IL-17+ T cells), cytotoxic IFN- γ +CD8+ T cells, but decreased regulatory Foxp3+CD25+CD4+ TILs. B. intestinihominis-inoculated mice increased the numbers of IL-17+ γ δ T cells and IFN- γ + γ δ T cells infiltrating tumor. These 2 bacteria species enhanced anticancer immune responses.	[122]
	pTh17	MCA205 fibrosarcoma, B16 melanoma	SC injection of tumoral cells into cyclophosphamide-treated SPF mice	The anti-tumor efficacy of cyclophosphamide depended on the translocation of Gram+ bacteria in secondary lymphoid organs, which stimulated pathogenic Th17 (gut pTh17) generation and memory Th1 immune responses. These results suggest that the gut microbiota help shape the anti-cancer immune response.	[137]
ANTI-TUMORAL EFFECTS OF IL-17	Th17	B16 lung melanoma	IL-17 deficient mice bearing B16/F10 melanoma	Adoptive transfer of tumor-specific CCL20+ -secreting Th17 cells inhibited tumor growth through improvement of tumor antigen presentation to dendritic cells (CCR6+CD11c+CD11b+ and CCR6+CD11c+CD8 α + DC), and amplification of tumor-specific CD8+ T cell killing activity. Th17 (75% fewer tumor colonies) had a greater potency to control tumor growth than Th1 (40% fewer tumor colonies) when transferred into mice harboring melanoma.	[123]
	Th17	B16 melanoma	SC injection of tumoral cells into TRP-1 TCR transgenic mice	Among the Th0, Th1, and Th17 subtypes, it was found that Th17-polarized cells better mediated destruction of advanced B16 melanoma. However, their therapeutic effect was critically dependent on interferon-gamma (IFN γ) production.	[124]
	γ δ T17	B16/F10 melanoma and lung Lewis carcinoma	IV injection of tumoral cells in ATBs-treated C57BL/6 mice after adoptive transfer of γ δ T cells	Antibiotics increased susceptibility to develop engrafted B16/F10 melanoma and Lewis lung carcinoma in mice. Adding normal γ δ T cells or supplementing IL-17 restored the impaired immune surveillance phenotype, which demonstrated the importance of commensal bacteria in supporting the host immune response against cancer.	[125]
	Th17	Ovarian cancer	Human	Levels of tumor-infiltrating Th17 cells are negatively correlated with tumor-infiltrating regulatory T cells. Th17 cells contributed to protective human tumor immunity by inducing Th1-type chemokines, CXCL9 and CXCL10, and recruiting effector cells to the tumor microenvironment.	[135]

Table 1. Contd.

IL-17 Effects	IL-17 Secreting Cells	Cancer Type	Experimental Model	Key Findings	Ref.
	$\gamma\delta T17$	Hepa1-6 hepatocellular carcinoma cell line	SC injection of tumoral cells in C57BL/6 or IL-17 ^{-/-} C57BL/6	The tumor-promoting effect of IL-17A, mainly produced by $\gamma\delta T17$ cells, was mediated through suppression of antitumor responses, especially CD8 ⁺ T cell responses. IL-17A induced CXCL5 production by tumor cells to enhance the infiltration of myeloid-derived suppressor cells (MDSC) to tumor sites in a CXCL5/CXCR2-dependent manner	[130]
	Th17 Tc17	Hepatocellular carcinoma (HCC)	Human	A cohort of 105 patients with liver cirrhosis and an established HCC revealed higher serum levels of IL-17 and a massive hepatic infiltration of CD4 ⁺ and CD8 ⁺ IL-17 secreting cells	[131]
	Th17	HCC	High Fat Diet fed C57BL/6 mice	Hepatic unconventional prefoldin RPB5 interactor (URI) induced enriched diet to cause liver DNA damages, recruitment of Th17 cells in liver, development of a non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and of HCC. pharmacological suppression of Th17 cell differentiation, IL-17A blocking antibodies, and genetic ablation of the IL-17A receptor in myeloid cells, prevented diet induced Th17 and subsequent HCC.	[126]
	Th17	CRC (Colorectal Cancer)	Human	Elevated numbers of CD4 ⁺ Th17 in 54 CRC patients were observed inside tumors compared with non-tumor regions, together with a higher microvessel density. Colorectal cell lines stimulated IL-17 produced VEGF α in a dose dependent manner	[127]
PRO-TUMORAL EFFECTS OF IL-17	IL-17 and TNF- α secreting Th17	CRC (HCT116) and prostate (LNCaP) cancer cell lines	Human	IL-17 and TNF- α individually rather than cooperatively, up-regulated PD-L1 expression in human prostate and colon cancer cell lines. PD-L1 expression acts on PD-1 ligands (PD-L1 and PD-L2) to suppress activation of cytotoxic T lymphocytes.	[132]
	IL-17 and TNF- α secreting Th17	CRC	human	An increased frequency of Th17 cells was observed inside 22 CRC tumor tissue, as compared to adjacent uninvolved tissue. These Th17 cells mostly coproduced TNF- α , but not IFN- γ . There was a negative correlation between expression of PD-1 and IFN- γ , but not IL-17, in CRC, and an enrichment in Tregs. Thus PD-1 expressing T cells and Treg cells within the tumor may have a suppressive effect on T cells secreting IFN- γ , IL-2, or TNF- α , but not Th17 cells	[128]
	IL-17 and TNF- α cytokines	CRC cell lines (Caco-2, HCT116)	Human	IL-17 and TNF- α were shown to enhance glycolysis in several colorectal cancer cell lines, through increased expression of HIF-1 α and c-myc. TNF α and IL-17 also synergistically stimulated production by HT-29 cells of a growth factor that simulated proliferation/survival of NIL8 fibroblastic cells, promoting thus colorectal tumorigenesis	[133]
	$\gamma\delta T17$	CRC	Human	$\gamma\delta T17$ were found predominant in CRC tissues of 154 patients. $\gamma\delta T17$ cells promoted migration, survival and proliferation of MDSC via production of IL-8, GM-CSF and TNF- α in vitro	[134]
	ROR γ t ⁺ Th17	Prostate cancer	Pten-null mice	The treatment of Pten-null mice with SRI1001, Th17 cell inhibitor, or an anti-IL17 monoclonal antibody during 6 weeks was sufficient to reduce prostate tumor progression, angiogenesis and tumor cell infiltration.	[129]
	Th17	B16 melanoma MB49 bladder carcinoma	SC injection of tumoral cells into WT or IL17 ^{-/-} mice	IL-17 promotes tumor growth through an IL-6/Stat3 pathway	[138]

5. Conclusions

Obesity is well known to predispose individuals to the metabolic syndrome. The mechanisms involved in obesity-related pathological processes implicate various immune cells, among which pathogenic Th17 cells are likely to play a crucial role, not only through their pro-inflammatory properties, and their ability to propagate inflammation, but also, through their immunometabolism, which can be easily modified with a hypercaloric diet. As it is mentioned before hypercaloric diet induce an enrichment of pathogenic Th17 cells, in several metabolic organs, however it provoke a pronounced decrease of intestinal IL-17/IL-22 secreting ROR γ t⁺ Th17 cells [139]. In addition, the involvement of Th17 cells in the pathogenesis of autoimmune diseases and cancer, give clues as the reason why obesity is a risk factor in these diseases.

Of particular interest is the role of mesenchymal stem cells (MSCs) in the regulation of the Tregs/Th17 cell balance. Indeed, as demonstrated by our team, or by Patel et al, in breast cancer, MSCs are able to switch from immune-modulatory towards pro-inflammatory functions, depending on their interaction with T cells in lean versus obese AT [21], or with cancer stem cells versus breast cancer progenitors [140]. Thus, identifying the molecules involved in the interaction of MSCs with T cells, or cancer stem/progenitor cells, should help to control the immune-modulatory versus pro-inflammatory cell function of MSC, and therefore the Tregs/Th17 cell balance.

Figure 2 summarizes the implications of IL-17 secreting cells in various autoimmune or chronic inflammatory diseases linked to obesity.

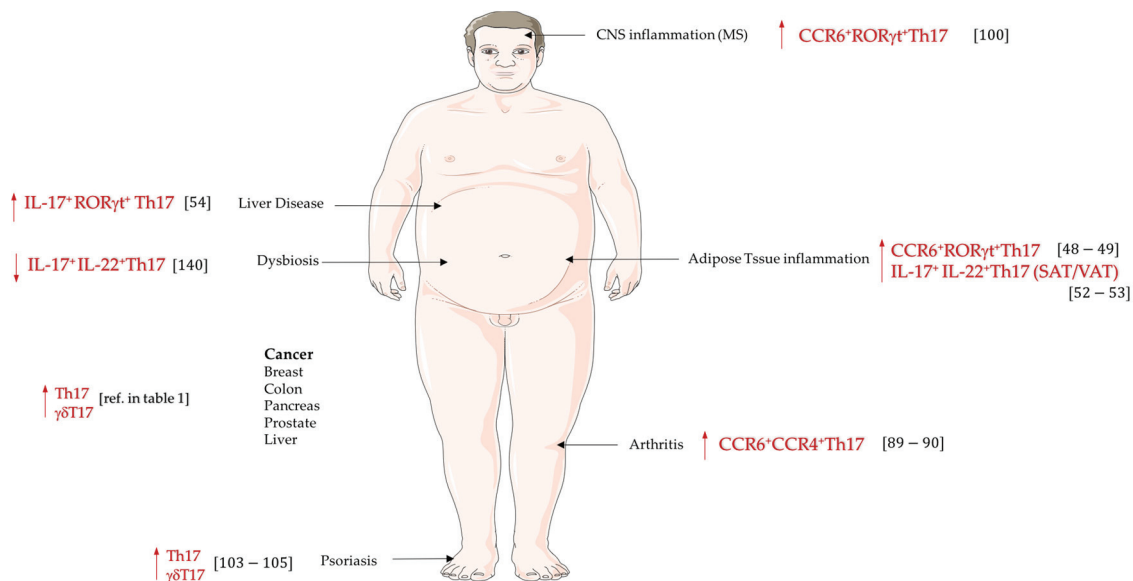


Figure 2. IL-17-secreting cells in obesity related pathologies. A variety of IL-17-secreting cells is implicated in obesity and/or related-inflammatory diseases. Whereas obesity-induced dysbiosis is associated with a decrease in gut Th17 cells, Th17 cell frequency is enhanced in peripheral blood, and metabolic organs, such as liver, pancreas, or adipose tissues, in obesity and/or related-inflammatory diseases.

Acknowledgments: M.C. thesis is supported by ARC1 Région Auvergne-Rhône-Alpes fundings.

Author Contributions: M.C. has contributed in the redaction of the paper and the figures. H.V. has contributed in the revision of the paper and A.E. has contributed in the redaction of some chapters and the correction of the paper.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Ng, M.; Fleming, T.; Robinson, M.; Thomson, B.; Graetz, N.; Margono, C.; Mullany, E.C.; Biryukov, S.; Abbafati, C.; Abera, S.F.; et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: A systematic analysis for the global burden of disease study 2013. *Lancet* **2014**, *384*, 766–781. [[CrossRef](#)]
2. Finkelstein, E.A.; Khavjou, O.A.; Thompson, H.; Trogdon, J.G.; Pan, L.; Sherry, B.; Dietz, W. Obesity and severe obesity forecasts through 2030. *Am. J. Prev. Med.* **2012**, *42*, 563–570. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Ding, C.; Chan, Z.; Magkos, F. Lean, but not healthy: The ‘metabolically obese, normal-weight’ phenotype. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2016**, *19*, 408–417. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Odegaard, J.I.; Chawla, A. Pleiotropic actions of insulin resistance and inflammation in metabolic homeostasis. *Science* **2013**, *339*, 172–177. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Winer, S.; Chan, Y.; Paltser, G.; Truong, D.; Tsui, H.; Bahrami, J.; Dorfman, R.; Wang, Y.; Zielenski, J.; Mastronardi, F.; et al. Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat. Med.* **2009**, *15*, 921–929. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Nishimura, S.; Manabe, I.; Nagasaki, M.; Eto, K.; Yamashita, H.; Ohsugi, M.; Otsu, M.; Hara, K.; Ueki, K.; Sugiura, S.; et al. CD8⁺ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat. Med.* **2009**, *15*, 914–920. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Hotamisligil, G.S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* **2006**, *444*, 860–867. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Kanneganti, T.D.; Dixit, V.D. Immunological complications of obesity. *Nat. Immunol.* **2012**, *13*, 707–712. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Ye, P.; Rodriguez, F.H.; Kanaly, S.; Stocking, K.L.; Schurr, J.; Schwarzenberger, P.; Oliver, P.; Huang, W.; Zhang, P.; Zhang, J.; et al. Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating factor expression, neutrophil recruitment, and host defense. *J. Exp. Med.* **2001**, *194*, 519–527. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Curtis, M.M.; Way, S.S. Interleukin-17 in host defence against bacterial, mycobacterial and fungal pathogens. *Immunology* **2009**, *126*, 177–185. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Milner, J.D.; Brenchley, J.M.; Laurence, A.; Freeman, A.F.; Hill, B.J.; Elias, K.M.; Kanno, Y.; Spalding, C.; Elloumi, H.Z.; Paulson, M.L.; et al. Impaired T(H)17 cell differentiation in subjects with autosomal dominant hyper-IgE syndrome. *Nature* **2008**, *452*, 773–776. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Gaffen, S.L. Structure and signalling in the IL-17 receptor family. *Nat. Rev. Immunol.* **2009**, *9*, 556–567. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Park, H.; Li, Z.; Yang, X.O.; Chang, S.H.; Nurieva, R.; Wang, Y.H.; Wang, Y.; Hood, L.; Zhu, Z.; Tian, Q.; et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat. Immunol.* **2005**, *6*, 1133–1141. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Parham, C.; Chirica, M.; Timans, J.; Vaisberg, E.; Travis, M.; Cheung, J.; Pflanz, S.; Zhang, R.; Singh, K.P.; Vega, F.; et al. A receptor for the heterodimeric cytokine IL-23 is composed of IL-12β1 and a novel cytokine receptor subunit, IL-23R. *J. Immunol.* **2002**, *168*, 5699–5708. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Ivanov, I.I.; McKenzie, B.S.; Zhou, L.; Tadokoro, C.E.; Lepelley, A.; Lafaille, J.J.; Cua, D.J.; Littman, D.R. The orphan nuclear receptor rorγ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17⁺ T helper cells. *Cell* **2006**, *126*, 1121–1133. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Cosmi, L.; De Palma, R.; Santarlasci, V.; Maggi, L.; Capone, M.; Frosali, F.; Rodolico, G.; Querci, V.; Abbate, G.; Angeli, R.; et al. Human interleukin 17-producing cells originate from a CD161⁺CD4⁺ T cell precursor. *J. Exp. Med.* **2008**, *205*, 1903–1916. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Veldhoen, M.; Hocking, R.J.; Flavell, R.A.; Stockinger, B. Signals mediated by transforming growth factor-β initiate autoimmune encephalomyelitis, but chronic inflammation is needed to sustain disease. *Nat. Immunol.* **2006**, *7*, 1151–1156. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Zhou, L.; Ivanov, I.I.; Spolski, R.; Min, R.; Shenderov, K.; Egawa, T.; Levy, D.E.; Leonard, W.J.; Littman, D.R. IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. *Nat. Immunol.* **2007**, *8*, 967–974. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Bettelli, E.; Carrier, Y.; Gao, W.; Korn, T.; Strom, T.B.; Oukka, M.; Weiner, H.L.; Kuchroo, V.K. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector Th17 cells and regulatory T cells. *Nature* **2006**, *441*, 235–238. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

20. Laurence, A.; Tato, C.M.; Davidson, T.S.; Kanno, Y.; Chen, Z.; Yao, Z.; Blank, R.B.; Meylan, F.; Siegel, R.; Hennighausen, L.; et al. Interleukin-2 signaling via STAT5 constrains T helper 17 cell generation. *Immunity* **2007**, *26*, 371–381. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Eljaafari, A.; Robert, M.; Chehimi, M.; Chanon, S.; Durand, C.; Vial, G.; Bendridi, N.; Madec, A.M.; Disse, E.; Laville, M.; et al. Adipose tissue-derived stem cells from obese subjects contribute to inflammation and reduced insulin response in adipocytes through differential regulation of the Th1/Th17 cell balance and monocyte activation. *Diabetes* **2015**, *64*, 2477–2488. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Korn, T.; Bettelli, E.; Oukka, M.; Kuchroo, V.K. IL-17 and Th17 cells. *Annu. Rev. Immunol.* **2009**, *27*, 485–517. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Lee, Y.; Awasthi, A.; Yosef, N.; Quintana, F.J.; Xiao, S.; Peters, A.; Wu, C.; Kleinewietfeld, M.; Kunder, S.; Hafler, D.A.; et al. Induction and molecular signature of pathogenic Th17 cells. *Nat. Immunol.* **2012**, *13*, 991–999. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Kryczek, I.; Bruce, A.T.; Gudjonsson, J.E.; Johnston, A.; Aphale, A.; Vatan, L.; Szeliga, W.; Wang, Y.; Liu, Y.; Welling, T.H.; et al. Induction of IL-17+ T cell trafficking and development by IFN-gamma: Mechanism and pathological relevance in psoriasis. *J. Immunol.* **2008**, *181*, 4733–4741. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Peters, A.; Yosef, N. Understanding Th17 cells through systematic genomic analyses. *Curr. Opin. Immunol.* **2014**, *28*, 42–48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Hinrichs, C.S.; Kaiser, A.; Paulos, C.M.; Cassard, L.; Sanchez-Perez, L.; Heemskerk, B.; Wrzesinski, C.; Borman, Z.A.; Muranski, P.; Restifo, N.P. Type 17 CD8⁺ T cells display enhanced antitumor immunity. *Blood* **2009**, *114*, 596–599. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Lee, J.H.; Cho, D.H.; Park, H.J. IL-18 and cutaneous inflammatory diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 29357–29369. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Hirota, K.; Duarte, J.H.; Veldhoen, M.; Hornsby, E.; Li, Y.; Cua, D.J.; Ahlfors, H.; Wilhelm, C.; Tolaini, M.; Menzel, U.; et al. Fate mapping of IL-17-producing T cells in inflammatory responses. *Nat. Immunol.* **2011**, *12*, 255–263. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Ferretti, S.; Bonneau, O.; Dubois, G.R.; Jones, C.E.; Trifilieff, A. IL-17, produced by lymphocytes and neutrophils, is necessary for lipopolysaccharide-induced airway neutrophilia: IL-15 as a possible trigger. *J. Immunol.* **2003**, *170*, 2106–2112. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Martin, B.; Hirota, K.; Cua, D.J.; Stockinger, B.; Veldhoen, M. Interleukin-17-producing gammadelta T cells selectively expand in response to pathogen products and environmental signals. *Immunity* **2009**, *31*, 321–330. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Korn, T.; Petermann, F. Development and function of interleukin 17-producing gammadelta T cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2012**, *1247*, 34–45. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Raifer, H.; Mahiny, A.J.; Bollig, N.; Petermann, F.; Hellhund, A.; Kellner, K.; Guralnik, A.; Reinhard, K.; Bothur, E.; Huber, M.; et al. Unlike $\alpha\beta$ T cells, gammadelta T cells, LTi cells and NKT cells do not require IRF4 for the production of IL-17A and IL-22. *Eur. J. Immunol.* **2012**, *42*, 3189–3201. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Fenoglio, D.; Poggi, A.; Catellani, S.; Battaglia, F.; Ferrera, A.; Setti, M.; Murdaca, G.; Zocchi, M.R. Vdelta1 T lymphocytes producing IFN- γ and IL-17 are expanded in HIV-1-infected patients and respond to *Candida albicans*. *Blood* **2009**, *113*, 6611–6618. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Roark, C.L.; French, J.D.; Taylor, M.A.; Bendele, A.M.; Born, W.K.; O'Brien, R.L. Exacerbation of collagen-induced arthritis by oligoclonal, IL-17-producing gamma delta T cells. *J. Immunol.* **2007**, *179*, 5576–5583. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Sutton, C.E.; Lator, S.J.; Sweeney, C.M.; Brereton, C.F.; Lavelle, E.C.; Mills, K.H. Interleukin-1 and IL-23 induce innate IL-17 production from gammadelta T cells, amplifying Th17 cell responses and autoimmunity. *Immunity* **2009**, *31*, 331–341. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Moreira-Teixeira, L.; Resende, M.; Coffre, M.; Devergne, O.; Herbeuval, J.P.; Hermine, O.; Schneider, E.; Rogge, L.; Ruemmele, F.M.; Dy, M.; et al. Proinflammatory environment dictates the IL-17-producing capacity of human invariant NKT cells. *J. Immunol.* **2011**, *186*, 5758–5765. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Webster, K.E.; Kim, H.O.; Kyparissoudis, K.; Corpuz, T.M.; Pinget, G.V.; Uldrich, A.P.; Brink, R.; Belz, G.T.; Cho, J.H.; Godfrey, D.I.; et al. IL-17-producing nkt cells depend exclusively on IL-7 for homeostasis and survival. *Mucosal Immunol.* **2014**, *7*, 1058–1067. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Monteiro, M.; Almeida, C.F.; Agua-Doce, A.; Graca, L. Induced IL-17-producing invariant NKT cells require activation in presence of TGF- β and IL-1 β . *J. Immunol.* **2013**, *190*, 805–811. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

39. Simoni, Y.; Gautron, A.S.; Beaudoin, L.; Bui, L.C.; Michel, M.L.; Coumoul, X.; Eberl, G.; Leite-de-Moraes, M.; Lehuen, A. Nod mice contain an elevated frequency of iNKT17 cells that exacerbate diabetes. *Eur. J. Immunol.* **2011**, *41*, 3574–3585. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Spits, H.; Di Santo, J.P. The expanding family of innate lymphoid cells: Regulators and effectors of immunity and tissue remodeling. *Nat. Immunol.* **2011**, *12*, 21–27. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Lindemans, C.A.; Calafiore, M.; Mertelsmann, A.M.; O'Connor, M.H.; Dudakov, J.A.; Jenq, R.R.; Velardi, E.; Young, L.F.; Smith, O.M.; Lawrence, G.; et al. Interleukin-22 promotes intestinal-stem-cell-mediated epithelial regeneration. *Nature* **2015**, *528*, 560–564. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Hepworth, M.R.; Fung, T.C.; Masur, S.H.; Kelsen, J.R.; McConnell, F.M.; Dubrot, J.; Withers, D.R.; Hugues, S.; Farrar, M.A.; Reith, W.; et al. Immune tolerance. Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria-specific CD4⁺ T cells. *Science* **2015**, *348*, 1031–1035. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Goc, J.; Hepworth, M.R.; Sonnenberg, G.F. Group 3 innate lymphoid cells: Regulating host-commensal bacteria interactions in inflammation and cancer. *Int. Immunol.* **2016**, *28*, 43–52. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Klose, C.S.; Artis, D. Innate lymphoid cells as regulators of immunity, inflammation and tissue homeostasis. *Nat. Immunol.* **2016**, *17*, 765–774. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Villanova, F.; Flutter, B.; Tosi, I.; Gryns, K.; Sreeneebus, H.; Perera, G.K.; Chapman, A.; Smith, C.H.; Di Meglio, P.; Nestle, F.O. Characterization of innate lymphoid cells in human skin and blood demonstrates increase of NKp44+ ILC3 in psoriasis. *J. Investig. Dermatol.* **2014**, *134*, 984–991. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Kim, H.Y.; Chang, Y.J.; Subramanian, S.; Lee, H.H.; Albacker, L.A.; Matangkasombut, P.; Savage, P.B.; McKenzie, A.N.; Smith, D.E.; Rottman, J.B.; et al. Innate lymphoid cells responding to IL-33 mediate airway hyperreactivity independently of adaptive immunity. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2012**, *129*, 216–227. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Perry, J.S.; Han, S.; Xu, Q.; Herman, M.L.; Kennedy, L.B.; Csako, G.; Bielekova, B. Inhibition of LT α cell development by CD25 blockade is associated with decreased intrathecal inflammation in multiple sclerosis. *Sci. Transl. Med.* **2012**, *4*, 145ra106. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. McLaughlin, T.; Liu, L.F.; Lamendola, C.; Shen, L.; Morton, J.; Rivas, H.; Winer, D.; Tolentino, L.; Choi, O.; Zhang, H.; et al. T-cell profile in adipose tissue is associated with insulin resistance and systemic inflammation in humans. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2014**, *34*, 2637–2643. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Winer, S.; Paltser, G.; Chan, Y.; Tsui, H.; Engleman, E.; Winer, D.; Dosch, H.M. Obesity predisposes to Th17 cell bias. *Eur. J. Immunol.* **2009**, *39*, 2629–2635. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Sumarac-Dumanovic, M.; Stevanovic, D.; Ljubic, A.; Jorga, J.; Simic, M.; Stamenkovic-Pejkovic, D.; Starcevic, V.; Trajkovic, V.; Micic, D. Increased activity of interleukin-23/interleukin-17 proinflammatory axis in obese women. *Int. J. Obes.* **2009**, *33*, 151–156. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Yan, X.; Huang, Y.; Wang, H.; Du, M.; Hess, B.W.; Ford, S.P.; Nathanielsz, P.W.; Zhu, M.J. Maternal obesity induces sustained inflammation in both fetal and offspring large intestine of sheep. *Inflamm. Bowel Dis.* **2011**, *17*, 1513–1522. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Fabbri, E.; Cella, M.; McCartney, S.A.; Fuchs, A.; Abumrad, N.A.; Pietka, T.A.; Chen, Z.; Finck, B.N.; Han, D.H.; Magkos, F.; et al. Association between specific adipose tissue CD4⁺ T-cell populations and insulin resistance in obese individuals. *Gastroenterology* **2013**, *145*, 366–374.e3. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Dalmas, E.; Venteclaf, N.; Caer, C.; Poitou, C.; Cremer, I.; Aron-Wisniewsky, J.; Lacroix-Desmazes, S.; Bayry, J.; Kaveri, S.V.; Clement, K.; et al. T cell-derived IL-22 amplifies IL-1 β -driven inflammation in human adipose tissue: Relevance to obesity and type 2 diabetes. *Diabetes* **2014**, *63*, 1966–1977. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Tang, Y.; Bian, Z.; Zhao, L.; Liu, Y.; Liang, S.; Wang, Q.; Han, X.; Peng, Y.; Chen, X.; Shen, L.; et al. Interleukin-17 exacerbates hepatic steatosis and inflammation in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin. Exp. Immunol.* **2011**, *166*, 281–290. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Sun, K.; Kusminski, C.M.; Scherer, P.E. Adipose tissue remodeling and obesity. *J. Clin. Investig.* **2011**, *121*, 2094–2101. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Murray, P.J.; Wynn, T.A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat. Rev. Immunol.* **2011**, *11*, 723–737. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Wynn, T.A.; Chawla, A.; Pollard, J.W. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature* **2013**, *496*, 445–455. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Weisberg, S.P.; McCann, D.; Desai, M.; Rosenbaum, M.; Leibel, R.L.; Ferrante, A.W., Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Investig.* **2003**, *112*, 1796–1808. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

59. Cinti, S.; Mitchell, G.; Barbatelli, G.; Murano, I.; Ceresi, E.; Faloia, E.; Wang, S.; Fortier, M.; Greenberg, A.S.; Obin, M.S. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J. Lipid Res.* **2005**, *46*, 2347–2355. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Lumeng, C.N.; Bodzin, J.L.; Saltiel, A.R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J. Clin. Investig.* **2007**, *117*, 175–184. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Ouchi, N.; Parker, J.L.; Lugus, J.J.; Walsh, K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat. Rev. Immunol.* **2011**, *11*, 85–97. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Bourlier, V.; Zakaroff-Girard, A.; Miranville, A.; De Barros, S.; Maumus, M.; Sengenès, C.; Galitzky, J.; Lafontan, M.; Karpe, F.; Frayn, K.N.; et al. Remodeling phenotype of human subcutaneous adipose tissue macrophages. *Circulation* **2008**, *117*, 806–815. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Geissmann, F.; Jung, S.; Littman, D.R. Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties. *Immunity* **2003**, *19*, 71–82. [[CrossRef](#)]
64. Krausgruber, T.; Blazek, K.; Smallie, T.; Alzabin, S.; Lockstone, H.; Sahgal, N.; Hussell, T.; Feldmann, M.; Udalova, I.A. IRF5 promotes inflammatory macrophage polarization and Th1-Th17 cell responses. *Nat. Immunol.* **2011**, *12*, 231–238. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Dalmas, E.; Toubal, A.; Alzaid, F.; Blazek, K.; Eames, H.L.; Lebozec, K.; Pini, M.; Hainault, I.; Montastier, E.; Denis, R.G.; et al. IRF5 deficiency in macrophages promotes beneficial adipose tissue expansion and insulin sensitivity during obesity. *Nat. Med.* **2015**, *21*, 610–618. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Yang, L.; Anderson, D.E.; Baecher-Allan, C.; Hastings, W.D.; Bettelli, E.; Oukka, M.; Kuchroo, V.K.; Hafler, D.A. IL-21 and TGF- β are required for differentiation of human T(H)17 cells. *Nature* **2008**, *454*, 350–352. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Acosta-Rodriguez, E.V.; Napolitani, G.; Lanzavecchia, A.; Sallusto, F. Interleukins 1 β and 6 but not transforming growth factor- β are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat. Immunol.* **2007**, *8*, 942–949. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Iwamoto, S.; Iwai, S.; Tsujiyama, K.; Kurahashi, C.; Takeshita, K.; Naoe, M.; Masunaga, A.; Ogawa, Y.; Oguchi, K.; Miyazaki, A. TNF- α drives human CD14⁺ monocytes to differentiate into CD70⁺ dendritic cells evoking Th1 and Th17 cell responses. *J. Immunol.* **2007**, *179*, 1449–1457. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Tatano, Y.; Shimizu, T.; Tomioka, H. Unique macrophages different from M1/M2 macrophages inhibit T cell mitogenesis while upregulating Th17 cell polarization. *Sci. Rep.* **2014**, *4*, 4146. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
70. Jagannathan-Bogdan, M.; McDonnell, M.E.; Shin, H.; Rehman, Q.; Hasturk, H.; Apovian, C.M.; Nikolajczyk, B.S. Elevated proinflammatory cytokine production by a skewed T cell compartment requires monocytes and promotes inflammation in type 2 diabetes. *J. Immunol.* **2011**, *186*, 1162–1172. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
71. Chehimi, M.; Robert, M.; Bechwaty, M.E.; Vial, G.; Rieusset, J.; Vidal, H.; Pirola, L.; Eljaafari, A. Adipocytes, like their progenitors, contribute to inflammation of adipose tissues through promotion of Th-17 cells and activation of monocytes, in obese subjects. *Adipocyte* **2016**, *5*, 275–282. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Ahmed, M.; Gaffen, S.L. IL-17 inhibits adipogenesis in part via C/EBP α , PPAR γ and Kruppel-like factors. *Cytokine* **2013**, *61*, 898–905. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Shin, J.H.; Shin, D.W.; Noh, M. Interleukin-17a inhibits adipocyte differentiation in human mesenchymal stem cells and regulates pro-inflammatory responses in adipocytes. *Biochem. Pharmacol.* **2009**, *77*, 1835–1844. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Binger, K.J.; Corte-Real, B.F.; Kleinewietfeld, M. Immunometabolic regulation of interleukin-17-producing T helper cells: Uncoupling new targets for autoimmunity. *Front. Immunol.* **2017**, *8*, 311. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Endo, Y.; Yokote, K.; Nakayama, T. The obesity-related pathology and Th17 cells. *Cell. Mol. Life Sci.* **2017**, *74*, 1231–1245. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Vander Heiden, M.G.; Cantley, L.C.; Thompson, C.B. Understanding the warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation. *Science* **2009**, *324*, 1029–1033. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
77. Wang, R.; Solt, L.A. Metabolism of murine Th 17 cells: Impact on cell fate and function. *Eur. J. Immunol.* **2016**, *46*, 807–816. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
78. Shi, L.Z.; Wang, R.; Huang, G.; Vogel, P.; Neale, G.; Green, D.R.; Chi, H. HIF1 α -dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of Th17 cells and Treg cells. *J. Exp. Med.* **2011**, *208*, 1367–1376. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

79. Dang, E.V.; Barbi, J.; Yang, H.Y.; Jinasena, D.; Yu, H.; Zheng, Y.; Bordman, Z.; Fu, J.; Kim, Y.; Yen, H.R.; et al. Control of T(H)17/T(REG) balance by hypoxia-inducible factor 1. *Cell* **2011**, *146*, 772–784. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
80. Yang, K.; Chi, H. mTOR and metabolic pathways in T cell quiescence and functional activation. *Semin. Immunol.* **2012**, *24*, 421–428. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
81. Gerriets, V.A.; Kishton, R.J.; Nichols, A.G.; Macintyre, A.N.; Inoue, M.; Ilkayeva, O.; Winter, P.S.; Liu, X.; Priyadharshini, B.; Slawinska, M.E.; et al. Metabolic programming and PDHK1 control CD4⁺ T cell subsets and inflammation. *J. Clin. Investig.* **2015**, *125*, 194–207. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Delgoffe, G.M.; Kole, T.P.; Zheng, Y.; Zarek, P.E.; Matthews, K.L.; Xiao, B.; Worley, P.F.; Kozma, S.C.; Powell, J.D. The mtor kinase differentially regulates effector and regulatory T cell lineage commitment. *Immunity* **2009**, *30*, 832–844. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
83. Berod, L.; Friedrich, C.; Nandan, A.; Freitag, J.; Hagemann, S.; Harmrolfs, K.; Sandouk, A.; Hesse, C.; Castro, C.N.; Bahre, H.; et al. De novo fatty acid synthesis controls the fate between regulatory T and T helper 17 cells. *Nat. Med.* **2014**, *20*, 1327–1333. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Endo, Y.; Asou, H.K.; Matsugae, N.; Hirahara, K.; Shinoda, K.; Tumes, D.J.; Tokuyama, H.; Yokote, K.; Nakayama, T. Obesity drives Th17 cell differentiation by inducing the lipid metabolic kinase, acc1. *Cell Rep.* **2015**, *12*, 1042–1055. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
85. Soroosh, P.; Wu, J.; Xue, X.; Song, J.; Sutton, S.W.; Sablad, M.; Yu, J.; Nelen, M.I.; Liu, X.; Castro, G.; et al. Oxysterols are agonist ligands of rorgammat and drive Th17 cell differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 12163–12168. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
86. Li, Q.; Wang, Y.; Chen, K.; Zhou, Q.; Wei, W.; Wang, Y.; Wang, Y. The role of oxidized low-density lipoprotein in breaking peripheral Th17 cell/Treg balance in patients with acute coronary syndrome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2010**, *394*, 836–842. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
87. Lim, H.; Kim, Y.U.; Sun, H.; Lee, J.H.; Reynolds, J.M.; Hanabuchi, S.; Wu, H.; Teng, B.B.; Chung, Y. Proatherogenic conditions promote autoimmune T helper 17 cell responses in vivo. *Immunity* **2014**, *40*, 153–165. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
88. Miyabe, Y.; Miyabe, C.; Iwai, Y.; Takayasu, A.; Fukuda, S.; Yokoyama, W.; Nagai, J.; Jona, M.; Tokuhara, Y.; Ohkawa, R.; et al. Necessity of lysophosphatidic acid receptor 1 for development of arthritis. *Arthritis Rheumatol.* **2013**, *65*, 2037–2047. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
89. Stavropoulos-Kalinoglou, A.; Metsios, G.S.; Koutedakis, Y.; Kitas, G.D. Obesity in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* **2011**, *50*, 450–462. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
90. Jhun, J.Y.; Yoon, B.Y.; Park, M.K.; Oh, H.J.; Byun, J.K.; Lee, S.Y.; Min, J.K.; Park, S.H.; Kim, H.Y.; Cho, M.L. Obesity aggravates the joint inflammation in a collagen-induced arthritis model through deviation to Th17 cell differentiation. *Exp. Mol. Med.* **2012**, *44*, 424–431. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
91. Derdemezis, C.S.; Voulgari, P.V.; Drosos, A.A.; Kiortsis, D.N. Obesity, adipose tissue and rheumatoid arthritis: Coincidence or more complex relationship? *Clin. Exp. Rheumatol.* **2011**, *29*, 712–727. [[PubMed](#)]
92. Lu, M.C.; Yan, S.T.; Yin, W.Y.; Koo, M.; Lai, N.S. Risk of rheumatoid arthritis in patients with type 2 diabetes: A nationwide population-based case-control study. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e101528. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
93. Gianfrancesco, M.A.; Barcellos, L.F. Obesity and multiple sclerosis susceptibility: A review. *J. Neurol. Neuromed.* **2016**, *1*, 1–5.
94. Guerrero-Garcia, J.J.; Carrera-Quintanar, L.; Lopez-Roa, R.I.; Marquez-Aguirre, A.L.; Rojas-Mayorquin, A.E.; Ortuno-Sahagun, D. Multiple sclerosis and obesity: Possible roles of adipokines. *Mediat. Inflamm.* **2016**, *2016*, 4036232. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
95. Galgani, M.; Procaccini, C.; De Rosa, V.; Carbone, F.; Chieffi, P.; La Cava, A.; Matarese, G. Leptin modulates the survival of autoreactive CD4⁺ T cells through the nutrient/energy-sensing mammalian target of rapamycin signaling pathway. *J. Immunol.* **2010**, *185*, 7474–7479. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
96. Piccio, L.; Cantoni, C.; Henderson, J.G.; Hawiger, D.; Ramsbottom, M.; Mikesell, R.; Ryu, J.; Hsieh, C.S.; Cremasco, V.; Haynes, W.; et al. Lack of adiponectin leads to increased lymphocyte activation and increased disease severity in a mouse model of multiple sclerosis. *Eur. J. Immunol.* **2013**, *43*, 2089–2100. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
97. Graham, K.L.; Zabel, B.A.; Loghavi, S.; Zuniga, L.A.; Ho, P.P.; Sobel, R.A.; Butcher, E.C. Chemokine-like receptor-1 expression by central nervous system-infiltrating leukocytes and involvement in a model of autoimmune demyelinating disease. *J. Immunol.* **2009**, *183*, 6717–6723. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

98. Tomalka-Kochanowska, J.; Baranowska, B.; Wolinska-Witort, E.; Uchman, D.; Litwiniuk, A.; Martynska, L.; Kalisz, M.; Bik, W.; Kochanowski, J. Plasma chemerin levels in patients with multiple sclerosis. *Neuro Endocrinol. Lett.* **2014**, *35*, 218–223. [[PubMed](#)]
99. Piccio, L.; Stark, J.L.; Cross, A.H. Chronic calorie restriction attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Leukoc. Biol.* **2008**, *84*, 940–948. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
100. Choi, I.Y.; Piccio, L.; Childress, P.; Bollman, B.; Ghosh, A.; Brandhorst, S.; Suarez, J.; Michalsen, A.; Cross, A.H.; Morgan, T.E.; et al. A diet mimicking fasting promotes regeneration and reduces autoimmunity and multiple sclerosis symptoms. *Cell Rep.* **2016**, *15*, 2136–2146. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
101. Strong, A.L.; Bowles, A.C.; Wise, R.M.; Morand, J.P.; Dutreil, M.F.; Gimble, J.M.; Bunnell, B.A. Human adipose stromal/stem cells from obese donors show reduced efficacy in halting disease progression in the experimental autoimmune encephalomyelitis model of multiple sclerosis. *Stem Cells* **2016**, *34*, 614–626. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
102. Solomon, D.H.; Love, T.J.; Canning, C.; Schneeweiss, S. Risk of diabetes among patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and psoriasis. *Ann. Rheum. Dis.* **2010**, *69*, 2114–2117. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
103. Stelzner, K.; Herbert, D.; Popkova, Y.; Lorz, A.; Schiller, J.; Gericke, M.; Kloting, N.; Bluher, M.; Franz, S.; Simon, J.C.; et al. Free fatty acids sensitize dendritic cells to amplify Th1/Th17 cell-immune responses. *Eur. J. Immunol.* **2016**, *46*, 2043–2053. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
104. Kanemaru, K.; Matsuyuki, A.; Nakamura, Y.; Fukami, K. Obesity exacerbates imiquimod-induced psoriasis-like epidermal hyperplasia and interleukin-17 and interleukin-22 production in mice. *Exp. Dermatol.* **2015**, *24*, 436–442. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
105. Hau, C.S.; Kanda, N.; Tada, Y.; Shibata, S.; Uozaki, H.; Fukusato, T.; Sato, S.; Watanabe, S. Lipocalin-2 exacerbates psoriasiform skin inflammation by augmenting T-helper 17 response. *J. Dermatol.* **2016**, *43*, 785–794. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
106. Vainio, H.; Kaaks, R.; Bianchini, F. Weight control and physical activity in cancer prevention: International evaluation of the evidence. *Eur. J. Cancer Prev.* **2002**, *11*, S94–S100. [[PubMed](#)]
107. Vansaun, M.N. Molecular pathways: Adiponectin and leptin signaling in cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **2013**, *19*, 1926–1932. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
108. Ishikawa, M.; Kitayama, J.; Nagawa, H. Enhanced expression of leptin and leptin receptor (ob-r) in human breast cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **2004**, *10*, 4325–4331. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
109. Khandekar, M.J.; Cohen, P.; Spiegelman, B.M. Molecular mechanisms of cancer development in obesity. *Nat. Rev. Cancer* **2011**, *11*, 886–895. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
110. Delort, L.; Lequeux, C.; Dubois, V.; Dubouloz, A.; Billard, H.; Mojallal, A.; Damour, O.; Vasson, M.P.; Caldefie-Chezet, F. Reciprocal interactions between breast tumor and its adipose microenvironment based on a 3d adipose equivalent model. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e66284. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
111. Dirat, B.; Bochet, L.; Dabek, M.; Daviaud, D.; Dauvillier, S.; Majed, B.; Wang, Y.Y.; Meulle, A.; Salles, B.; Le Gonidec, S.; et al. Cancer-associated adipocytes exhibit an activated phenotype and contribute to breast cancer invasion. *Cancer Res.* **2011**, *71*, 2455–2465. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
112. Ponte, A.L.; Marais, E.; Gallay, N.; Langonne, A.; Delorme, B.; Herault, O.; Charbord, P.; Domenech, J. The in vitro migration capacity of human bone marrow mesenchymal stem cells: Comparison of chemokine and growth factor chemotactic activities. *Stem Cells* **2007**, *25*, 1737–1745. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
113. Zhang, Y.; Bellows, C.F.; Kolonin, M.G. Adipose tissue-derived progenitor cells and cancer. *World J. Stem Cells* **2010**, *2*, 103–113. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
114. Kryczek, I.; Wei, S.; Zou, L.; Altuwajri, S.; Szeliga, W.; Kolls, J.; Chang, A.; Zou, W. Cutting edge: Th17 cells and regulatory T cell dynamics and the regulation by IL-2 in the tumor microenvironment. *J. Immunol.* **2007**, *178*, 6730–6733. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
115. Langowski, J.L.; Zhang, X.; Wu, L.; Mattson, J.D.; Chen, T.; Smith, K.; Basham, B.; McClanahan, T.; Kastelein, R.A.; Oft, M. IL-23 promotes tumour incidence and growth. *Nature* **2006**, *442*, 461–465. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
116. Miyahara, Y.; Odunsi, K.; Chen, W.; Peng, G.; Matsuzaki, J.; Wang, R.F. Generation and regulation of human CD4⁺ IL-17-producing T cells in ovarian cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 15505–15510. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

117. Numasaki, M.; Fukushi, J.; Ono, M.; Narula, S.K.; Zavodny, P.J.; Kudo, T.; Robbins, P.D.; Tahara, H.; Lotze, M.T. Interleukin-17 promotes angiogenesis and tumor growth. *Blood* **2003**, *101*, 2620–2627. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
118. Sfanos, K.S.; Bruno, T.C.; Maris, C.H.; Xu, L.; Thoburn, C.J.; DeMarzo, A.M.; Meeker, A.K.; Isaacs, W.B.; Drake, C.G. Phenotypic analysis of prostate-infiltrating lymphocytes reveals Th17 cell and treg skewing. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **2008**, *14*, 3254–3261. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
119. Zhang, B.; Rong, G.; Wei, H.; Zhang, M.; Bi, J.; Ma, L.; Xue, X.; Wei, G.; Liu, X.; Fang, G. The prevalence of Th17 cells in patients with gastric cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2008**, *374*, 533–537. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
120. Benchetrit, F.; Ciree, A.; Vives, V.; Warnier, G.; Gey, A.; Sautes-Fridman, C.; Fossiez, F.; Haicheur, N.; Fridman, W.H.; Tartour, E. Interleukin-17 inhibits tumor cell growth by means of a T-cell-dependent mechanism. *Blood* **2002**, *99*, 2114–2121. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
121. Hu, X.; Liu, X.; Moisan, J.; Wang, Y.; Lesch, C.A.; Spooner, C.; Morgan, R.W.; Zawadzka, E.M.; Mertz, D.; Bousley, D.; et al. Synthetic rorgamma agonists regulate multiple pathways to enhance antitumor immunity. *Oncoimmunology* **2016**, *5*, e1254854. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
122. Daillere, R.; Vetzizou, M.; Waldschmitt, N.; Yamazaki, T.; Isnard, C.; Poirier-Colame, V.; Duong, C.P.; Flament, C.; Lepage, P.; Roberti, M.P.; et al. *Enterococcus hirae* and *Barnesiella intestinihominis* facilitate cyclophosphamide-induced therapeutic immunomodulatory effects. *Immunity* **2016**, *45*, 931–943. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
123. Martin-Orozco, N.; Muranski, P.; Chung, Y.; Yang, X.O.; Yamazaki, T.; Lu, S.; Hwu, P.; Restifo, N.P.; Overwijk, W.W.; Dong, C. T helper 17 cells promote cytotoxic T cell activation in tumor immunity. *Immunity* **2009**, *31*, 787–798. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
124. Muranski, P.; Boni, A.; Antony, P.A.; Cassard, L.; Irvine, K.R.; Kaiser, A.; Paulos, C.M.; Palmer, D.C.; Touloukian, C.E.; Ptak, K.; et al. Tumor-specific Th17 cell-polarized cells eradicate large established melanoma. *Blood* **2008**, *112*, 362–373. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
125. Cheng, M.; Qian, L.; Shen, G.; Bian, G.; Xu, T.; Xu, W.; Shen, G.; Hu, S. Microbiota modulate tumoral immune surveillance in lung through a $\gamma\delta$ T17 immune cell-dependent mechanism. *Cancer Res.* **2014**, *74*, 4030–4041. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
126. Gomes, A.L.; Teijeiro, A.; Buren, S.; Tummala, K.S.; Yilmaz, M.; Waisman, A.; Theurillat, J.P.; Perna, C.; Djouder, N. Metabolic inflammation-associated IL-17A causes non-alcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* **2016**, *30*, 161–175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
127. Liu, J.; Duan, Y.; Cheng, X.; Chen, X.; Xie, W.; Long, H.; Lin, Z.; Zhu, B. IL-17 is associated with poor prognosis and promotes angiogenesis via stimulating VEGF production of cancer cells in colorectal carcinoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2011**, *407*, 348–354. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
128. Dunne, M.R.; Ryan, C.; Nolan, B.; Tosetto, M.; Geraghty, R.; Winter, D.C.; O’Connell, P.R.; Hyland, J.M.; Doherty, G.A.; Sheahan, K.; et al. Enrichment of inflammatory IL-17 and TNF- α secreting CD4⁺ T cells within colorectal tumors despite the presence of elevated CD39⁺ T regulatory cells and increased expression of the immune checkpoint molecule, PD-1. *Front. Oncol.* **2016**, *6*, 50. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
129. Zhang, Q.; Liu, S.; Ge, D.; Cunningham, D.M.; Huang, F.; Ma, L.; Burris, T.P.; You, Z. Targeting Th17 cell-IL-17 pathway in prevention of micro-invasive prostate cancer in a mouse model. *Prostate* **2017**, *77*, 888–899. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
130. Ma, S.; Cheng, Q.; Cai, Y.; Gong, H.; Wu, Y.; Yu, X.; Shi, L.; Wu, D.; Dong, C.; Liu, H. IL-17A produced by $\gamma\delta$ T cells promotes tumor growth in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res.* **2014**, *74*, 1969–1982. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
131. Wu, J.; Du, J.; Liu, L.; Li, Q.; Rong, W.; Wang, L.; Wang, Y.; Zang, M.; Wu, Z.; Zhang, Y.; et al. Elevated pretherapy serum IL17 in primary hepatocellular carcinoma patients correlate to increased risk of early recurrence after curative hepatectomy. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e50035. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
132. Wang, X.; Yang, L.; Huang, F.; Zhang, Q.; Liu, S.; Ma, L.; You, Z. Inflammatory cytokines IL-17 and TNF- α up-regulate PD-L1 expression in human prostate and colon cancer cells. *Immunol. Lett.* **2017**, *184*, 7–14. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
133. Straus, D.S. TNF α and IL-17 cooperatively stimulate glucose metabolism and growth factor production in human colorectal cancer cells. *Mol. Cancer* **2013**, *12*, 78. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

134. Wu, P.; Wu, D.; Ni, C.; Ye, J.; Chen, W.; Hu, G.; Wang, Z.; Wang, C.; Zhang, Z.; Xia, W.; et al. $\gamma\delta$ T17 cells promote the accumulation and expansion of myeloid-derived suppressor cells in human colorectal cancer. *Immunity* **2014**, *40*, 785–800. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
135. Kryczek, I.; Banerjee, M.; Cheng, P.; Vatan, L.; Szeliga, W.; Wei, S.; Huang, E.; Finlayson, E.; Simeone, D.; Welling, T.H.; et al. Phenotype, distribution, generation, and functional and clinical relevance of Th17 cells in the human tumor environments. *Blood* **2009**, *114*, 1141–1149. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
136. Zou, W.; Restifo, N.P. T(h)17 cells in tumour immunity and immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* **2010**, *10*, 248–256. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
137. Viaud, S.; Saccheri, F.; Mignot, G.; Yamazaki, T.; Daillere, R.; Hannani, D.; Enot, D.P.; Pfirschke, C.; Engblom, C.; Pittet, M.J.; et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* **2013**, *342*, 971–976. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
138. Wang, L.; Yi, T.; Kortylewski, M.; Pardoll, D.M.; Zeng, D.; Yu, H. IL-17 can promote tumor growth through an IL-6-STAT3 signaling pathway. *J. Exp. Med.* **2009**, *206*, 1457–1464. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
139. Patel, S.A.; Dave, M.A.; Bliss, S.A.; Giec-Ujda, A.B.; Bryan, M.; Pliner, L.F.; Rameshwar, P. Treg/Th17 cell polarization by distinct subsets of breast cancer cells is dictated by the interaction with mesenchymal stem cells. *J. Cancer. Stem. Cell. Res.* **2014**, *2014*, e1003. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
140. Hong, C.P.; Park, A.; Yang, B.G.; Yun, C.H.; Kwak, M.J.; Lee, G.W.; Kim, J.H.; Jang, M.S.; Lee, E.J.; Jeun, E.J.; et al. Gut-specific delivery of T-helper 17 cells reduces obesity and insulin resistance in mice. *Gastroenterology* **2017**, *152*, 1998–2010. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2017 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Objectifs de la thèse

L'impact de l'infiltration des cellules inflammatoires du système immunitaire sur l'inflammation et le dysfonctionnement du tissu adipeux a bien été établi. De plus, un grand nombre d'étude a montré le rôle de l'interaction des adipocytes issus de tissu adipeux obèse avec les cellules immunitaires l'infiltrant, sur l'inflammation du tissu adipeux chez l'obèse. **En revanche, l'ampleur du phénomène inflammatoire découlant de l'interaction des cellules souches adipocytaires (CSA), cellules progénitrices des adipocytes, et des cellules immunitaires (CMN) n'a pas été étudié.** Par ailleurs, les données récentes de la littérature ont montré une amplification de la fréquence des Th17 aussi bien dans le tissu adipeux de sujets obèses et obèses diabétiques que dans le sang circulant. Il a d'ailleurs été montré que l'IL-17 sécrétée par les Th17 contribue à l'inhibition de l'adipogenèse et à l'insulino-résistance des adipocytes. D'autre part, le rôle de cellules comme les macrophages ou les cellules dendritiques dans l'activation des Th17 a été démontré. **Néanmoins, aucune hypothèse n'a été émise sur le rôle possible des CSA, dont la fonction est altérée par l'obésité, dans cette activation.**

La fonction inflammatoire des cellules souches mésenchymateuses a été établie dans un modèle de pathologie semblable à l'obésité, la polyarthrite rhumatoïde (PR). En effet, l'obésité tout comme la PR sont des maladies inflammatoires chroniques impliquant une infiltration de cellules immunitaires inflammatoires dans les tissus concernés, à savoir le tissu adipeux pour l'obésité et le tissu synovial (articulation) pour la PR. Les Th17 font partie des cellules inflammatoires recrutés dans ces tissus et dont le rôle est de propager l'inflammation via la sécrétion de cytokines et chémokines inflammatoires, permettant entre autres le recrutement de cellules effectrices comme les neutrophiles. Il est donc primordial de comprendre comment ces cellules sont recrutés et activés au niveau des sites de l'inflammation afin de pouvoir proposer des cibles thérapeutiques. Le Dr El Jaafari a précédemment mis en évidence l'implication des cellules souches mésenchymateuses résidentes dans le tissu synovial dans l'activation et la prolifération des Th17, rendant compte de l'inflammation chronique de l'articulation (Eljaafari et al. 2012a).

Article 1

Au vu des données actuelles de la littérature et de ce qui a été montré par le Dr El Jaafari dans la PR, nous avons émis l'hypothèse que les CSA du sujet obèse, à l'inverse de celles du sujet mince, sont capables de promouvoir l'inflammation via l'activation et la prolifération des Th17. Nos objectifs ont donc été les suivants :

- évaluer le rôle inflammatoire des CSA obèses dans l'interaction avec les CMN saines; dans ce contexte, les CMN issues de sujets obèses sont-elles aussi capables de médier l'inflammation lorsqu'elles sont en contact avec des CSA de sujets minces ?

- approfondir les mécanismes mises en jeu : rôle des différentes cytokines (IL-1 β et IL-6), rôle de l'inflammasome, de la PI3K, de STAT3 et ICAM-1 dans la sécrétion de l'IL-17A par les Th17 ;

- évaluer les conséquences d'une telle activation sur la fonction physiologique du tissu adipeux à savoir l'adipogenèse et la réponse métabolique à l'insuline ;

Les résultats obtenus nous ont permis de publier un premier papier paru dans Diabetes en 2015, dont je suis en deuxième auteure.

Article 2

Après avoir montré que les CSA obèses sont inducteurs d'inflammation et notamment via l'activation des Th17 et des monocytes inflammatoires, nous avons cherché à comprendre si ces mêmes CSA, après adipogenèse, sont toujours capables d'induire l'inflammation.

Les résultats de ce projet 2 ont fait l'objet d'un second article paru dans Adipocytes en 2016, dont je suis en première auteure.

Article 3

Bien que l'ALA constitue l'AG ω -3 le plus abondant du tissu adipeux (Heskey et al. 2016; E. J. Baker et al. 2016), très peu d'études ont été rapportés sur l'effet de l'ALA au niveau de l'inflammation du TA. C'est pourquoi, dans cette dernière étude, nous avons cherché à comprendre le rôle de l'ALA dans la prévention de l'inflammation médiée par les CSA obèses.

Nos objectifs ont été de :

- évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'ALA sur l'activation des Th17 et sur l'inflammation globale médiée par les CSA obèses ;

- et approfondir les mécanismes mises en jeu dans la fonction anti-inflammatoire des ω -3.

Les résultats de ce projet 3 sont en cours de rédaction pour publication.

DESCRIPTION DU MODELE DE CO-CULTURE

Ainsi expliqué dans l'introduction, le tissu adipeux est composé d'adipocytes et de la fraction vasculaire stromale (SVF) contenant l'ensemble des autres cellules non adipeuses. Parmi les cellules du SVF, les cellules mésenchymateuses du tissu adipeux aussi appelées cellules souches adipocytaires (CSA) sont d'un intérêt majeur au vu de leur potentiel effet immunomodulateur. De plus, le tissu adipeux, selon le degré d'obésité, est infiltré par des cellules mononucléées du sang périphérique (CMN ou PBMC) aux phénotypes plus ou moins inflammatoires. Nous pensons que l'interaction des CSA avec les CMN infiltrant le tissu adipeux au cours de l'obésité a un rôle dans l'activation de l'inflammation. La faible proportion des CMN récupérées à partir des biopsies du tissu adipeux ne suffisent pas à établir une réaction de co-culture. En revanche le sang périphérique est une source majeure de CMN humain.

Isolement des cellules souches du tissu adipeux

Les biopsies de tissus adipeux (mince ou obèse) sont récupérées avec le consentement des patients subissant une chirurgie bariatrique ou une chirurgie viscérale en ambulatoire. Un traitement des biopsies à la collagénase est nécessaire afin d'isoler les adipocytes du SVF.

Le SVF peut servir aux expériences ex-vivo. Dans ce cas-là, et après la lyse des globules rouges, 100 000 cellules (toutes cellules confondues) sont ensemencées par puit d'une plaque 96 puits. Les cellules sont dans 200 μ L de RPMI/10% FVS (sérum de veau foetal). Les CMN, contenues dans le SVF, sont activées ou non par 5 μ g/mL de phytohémagglutinine (PHA), un agent mitogène. 48 heures après l'activation des cellules à la PHA, les plaques sont centrifugées (1800 rpm / 10 min / 4°C), le surnageant récupéré et congelé à -20°C jusqu'à analyse.

En plus de l'analyse de la réponse physiologique des cellules en ex-vivo, l'évaluation de la réponse propre des cellules souches adipocytaires est un élément clé pour répondre à l'hypothèse formulée. Pour cela, le SVF est mis en culture avec du milieu DMEM -Ham's F-12 / 10 % FVS / 1 % glutamine / 1 % antibiotique. Les cellules souches sont des cellules adhérentes à l'inverse des CMN aussi retrouvées dans le SVF. 24 heures après, les cellules en suspension sont retirées. Après 2 ou 3 passages, les cellules sont utilisées pour les réactions de co-culture. A chaque passage, une partie des CSA est congelée.

Isolement des CMN du sang périphérique

Nous avons une convention avec l'Etablissement Français du Sang qui nous permet de récupérer des poches de sang issues de donneurs sains non-obèses. Le sang est déposé en gradient de densité dans un tube à centrifuger, au-dessus d'une couche de Ficoll® de densité 1,077. Puis on centrifuge ce gradient pendant 20 min à 700 g à température ambiante. Du haut vers le bas, nous avons le plasma (d= 1,006) contenant majoritairement les plaquettes, un anneau contenant les CMN (lymphocytes et monocytes) et enfin une couche de ficoll contenant les granulocytes et les globules rouges. Les plaquettes sont éliminées, et les CMN récupérées. Plusieurs étapes de lavage et de centrifugation sont nécessaires à la purification des CMN. Ces cellules sont cryoconservées jusqu'à la réaction de co-culture.

Réaction de co-culture

La veille de l'expérience, les CSA sontensemencées dans des plaques 96 puits à une densité de 20 000 cellules par puit, dans un volume final de 100 µL. De plus, les CMN sont décongelées et mis en culture dans des plaques « low adherence » afin de limiter l'adhérence des monocytes. La mise au repos des CMN pendant une nuit leurs permettent de répondre plus efficacement à la stimulation par le contact des CSA et par la PHA.

Le jour de l'expérience, soit entre 18 à 24 heures après l'adhésion des CSA, 100 000 CMN y sont rajoutées et activées par la PHA. Chaque condition est réalisée en triplicate indépendants. Le ratio CSA : CMN utilisé est de 1 : 5 et permet l'obtention d'une réponse inflammatoire optimale. 48 heures après l'activation, la plaque est centrifugée et les surnageants récupérés et congelés jusqu'à analyse par ELISA.

Résultats

Article 1

Les cellules souches adipocytaires issues du tissu adipeux de sujets obèses contribuent à l'inflammation et l'insulino-résistance du tissu adipeux via une régulation différentielle de la balance Th1/Th17 et une activation des monocytes inflammatoires.

Diabetes, 2015

Adipose Tissue–Derived Stem Cells From Obese Subjects Contribute to Inflammation and Reduced Insulin Response in Adipocytes Through Differential Regulation of the Th1/Th17 Balance and Monocyte Activation

Assia Eljaafari, Maud Robert, Marwa Chehimi*, Stephanie Chanon, Christine Durand, Guillaume Vial, Nadia Bendridi, Anne-Marie Madec, Emmanuel Disse, Martine Laville, Jennifer Rieusset, Etienne Lefai, Hubert Vidal, and Luciano Pirola*

* These authors contributed equally to the work

Résumé:

Dans cet article, nous avons cherché à comprendre le rôle des CSA du sujet obèse (obCSA) dans l'initiation de l'inflammation, en réponse à un contact avec les CMN. Les mécanismes impliqués dans l'activation des Th17 ainsi que les conséquences d'une telle activation sur l'homéostasie du tissu adipeux ont été étudiés dans cet article.

Nous avons développé un modèle mimant l'infiltration des CMN dans le tissu adipeux, en co-cultivant des obCSA avec des CMN issus de donneurs sains, activées par la phytohématagglutinine (PHA), un agent mitogène. Différents ratios obCSA :CMN ont été testés. Le milieu conditionné issu de la co-culture a été récolté 48h plus tard et analysé par ELISA. Les cellules issues de la co-culture ont été analysées par cytométrie de flux afin de déterminer la population de lymphocytes T amplifiée.

1. Les obCSA régulent la balance Th1/Th17 en faveur des Th17 inflammatoires et activent les monocytes. L'activation des CMN par la PHA induit la sécrétion significative du $\text{TNF}\alpha$ et d' $\text{IFN}\gamma$, deux cytokines caractéristiques des Th1, et induit très peu l'IL-17A/F. En revanche, l'ajout de obCSA à la co-culture inhibent significativement et de façon dose-dépendante (réponse optimale à un ratio obCSA :CMN de 1 :5) la production de $\text{TNF}\alpha$ et d' $\text{IFN}\gamma$ par les Th1, et induit significativement et selon une concentration croissante de CSA, la sécrétion d'IL-17A/F, témoin de l'activation des Th17. La polarisation des Th17 est accompagnée d'une production d'IL-6 et d'IL-1 β . La caractérisation des cellules de la co-culture par cytométrie de flux a validé que les obASC inhibent la population de Th1 sécrétrice d' $\text{IFN}\gamma$, et amplifient significativement la population $\text{CCR6}^+ \text{IL-17A}^+$, caractéristique des Th17. Nous avons été surpris de déceler outre une population de lymphocytes T sécrétant l'IL-17 ($\text{IL-17}^+ \text{Th17}$), une population doublement positive sécrétrice d'IL-17A et d' $\text{IFN}\gamma$ ($\text{IL-17A}^+ \text{IFN}\gamma^+ \text{Th17}$).

2. L'activation des Th17 dans ce modèle est spécifique des CSA issues de sujets obèses. Le SVF (fraction stromale vasculaire), contient l'ensemble des cellules non-adipocytaires, y compris les CMN et les CSA. Le traitement du SVF issu du tissu adipeux viscéral de sujets minces ou obèses par la PHA a montré que seul le SVF provenant du tissu adipeux obèse induit la sécrétion significative d'IL-17 et inhibe celle du $\text{TNF}\alpha$. Par la suite, nous avons voulu savoir si l'activation des Th17 était spécifique des CSA issues de sujets obèses, pour cela nous avons récupéré des CSA et des CMN issues de donneurs sains ou obèses, et des croisements entre ces cellules ont permis de

montrer que ni les CSA minces ni les CMN obèses ne peuvent induire l'inflammation similaire à celle induite par les CSA issues de sujets obèses sur des CMN minces ou obèses.

3. L'activation des Th17 par les CSA issues de sujets obèses n'est pas liée à une réponse allogénique. Les CSA expriment la molécule de CMH-I et très peu celle de CMH-II. Pour valider que l'activation des Th17 ne soit pas liée à une réponse contre « le non-soi », des CSA issues de sujets obèses ont été cultivées avec des CMN issues des mêmes donneurs (réaction autologue, ex. obCSA1 + CMN1 +PHA) ou issues de donneurs différents (réaction allogénique, ex. obCSA1+CMN2+PHA). Nous avons montré que la sécrétion d'IL-17A est indépendante de l'origine des CSA utilisés, et qu'elle peut même se faire en autologue.

4. L'activation des Th17 est médiée par la stimulation du TCR des lymphocytes T ; alors que l'IL-1 β est exclusivement induit par les monocytes et l'IL-6 par les CSA issues de sujets obèses. La PHA est un mitogène qui active différentes cellules mononucléées dont les monocytes et les lymphocytes T. La question était de savoir si la stimulation du TCR est suffisante à l'activation des Th17 par les CSA issues de sujets obèses. Pour cela les co-cultures ont été traitées soit par la PHA soit par des anticorps ciblant CD3 et CD28, mimant la stimulation physiologique du TCR. Nous avons observé une sécrétion d'IL-17A similaire entre les cellules activées par la PHA ou par la combinaison α /CD3 + α /CD28.

Ensuite, nous avons voulu comprendre le rôle des monocytes dans l'activation des Th17. Pour cela, les CMN ont été déplétées ou non des cellules CD14⁺ (marqueurs des monocytes) et co-cultivées avec les CSA issues de sujets obèses. Nous avons montré que l'IL-1 β amplifie la sécrétion d'IL-17A mais n'est pas indispensable. En revanche, la déplétion des CD14⁺ inhibe fortement la sécrétion d'IL-1 β de la co-culture, montrant que l'IL-1 β est exclusivement produite par les monocytes inflammatoires. En revanche, nous avons montré que l'IL-6 provient essentiellement des CSA issues de sujets obèses, et non des monocytes.

5. La polarisation des Th17 médiée par les CSA issues de sujets obèses dépend majoritairement du contact cellulaire. Nous avons voulu savoir si les CSA issues de sujets obèses activent les Th17 par le biais du contact cellulaire ou par le biais de la sécrétion de facteurs solubles. Pour répondre à cette question, des CSA issues de sujets obèses ont été séparées des CMN par des filtres (*Transwell*) empêchant ainsi le contact cellulaire mais permettant la circulation de

facteurs solubles entre les deux cellules. L'abolition du contact cellulaire a inhibé fortement la sécrétion d'IL-17A. En parallèle, un milieu conditionné provenant de CSA issues de sujets obèses cultivées pendant 48h a été ajouté à la culture CMN+PHA et a permis de montrer que la sécrétion de facteurs solubles par les CSA issues de sujets obèses participe à l'activation des Th17. Néanmoins, la réponse optimale n'est obtenue qu'en présence d'un contact cellulaire. Nous avons ensuite montré que l'interaction CMN-CSA est médiée par ICAM-1 puisque l'utilisation d'un anticorps monoclonal neutralisant ICAM-1 a réduit de 40 % la sécrétion d'IL-17A.

6. L'inflammasome et l'IL-1 β , mais pas l'IL-6, sont requis pour l'activation des Th17 et la sécrétion d'IL-17A. Nous avons cherché à savoir si l'IL-1 β et l'IL-6, amplifiés dans la co-culture des obCSA :CMN, régulent positivement la sécrétion de l'IL-17A. C'est pourquoi, les co-cultures ont été traitées ou non avec des anticorps monoclonaux neutralisants l'IL-1 β ou l'IL-6. Les résultats montrent que l'inhibition de l'IL-1 β inhibe partiellement la sécrétion d'IL-17A, mais que l'IL-6 ne joue aucun rôle dans la sécrétion de l'IL-17A. Parce que la sécrétion d'IL-1 β nécessite l'activation de la voie de l'inflammasome et de la caspase-1, nous avons utilisé un inhibiteur spécifique de la caspase-1 et nous avons observé une inhibition importante de la sécrétion d'IL-17A. Ceci montre que la voie de l'inflammasome est indispensable à l'activation des Th17. D'ailleurs nous avons montré qu'en condition obCSA+CMN+PHA, l'activité de la caspase-1 est amplifiée.

7. Les voies de la PI3K et de STAT3 sont nécessaires à l'induction de l'IL-17A. La PI3K et STAT3 sont des régulateurs positifs de la différenciation des Th17. Nous avons cherché à savoir si l'activation des Th17 et la sécrétion de l'IL-17A étaient médiées par ces deux voies de régulation. C'est pourquoi, les co-cultures ont été traitées soit avec de la Wortmannine (un agent inhibiteur de l'activation PI3K) soit avec STAT3-VI (inhibiteur de la phosphorylation de STAT3). Les résultats montrent que la sécrétion de l'IL-17A nécessite l'activation de la PI3K et la phosphorylation de STAT3. Afin de définir si l'activation de ces 2 voies est inter-dépendante, nous avons mesuré la phosphorylation de l'Akt ou de STAT3 après traitement par la Wortmannine ou STAT3-VI, et nous avons observé que l'inhibition de P-STAT3 n'empêche pas la phosphorylation de l'Akt, mais que l'inhibition de la PI3K prévient la phosphorylation de STAT3. Ces résultats montrent que la PI3K agit en amont de STAT3 pour induire l'IL-17A.

8. Les CSA issues de sujets obèses régulent différenciellement l'interaction de STAT3 et STAT5 au niveau du locus du gène de l'IL-17A/F. La transcription de l'IL-17A dans les

lymphocytes T dépend de la balance STAT3/STAT5. En effet, STAT3 est un régulateur positif de l'expression de l'IL-17A alors que STAT5 la régule négativement, par compétition, en se fixant au niveau du locus de l'IL-17A/F. Nous avons montré, via un CHIP, que les CSA issues de sujets obèses régulent positivement STAT3 (STAT3/STAT5= 1,75) et permettent sa fixation au niveau du locus de l'IL-17A/F en comparaison à la condition sans CSA issues de sujets obèses (STAT3/STAT5= 1,06).

9. Le milieu conditionné (MC) issu de la condition obCSA+CMN+PHA, inductrice des Th17, inhibe l'adipogenèse et affecte la sensibilité des adipocytes à l'insuline.

Pour comprendre l'impact de l'induction des Th17 par les CSA issues de sujets obèses dans le TA, nous avons différencié des CSA issues de sujets obèses en adipocytes pendant 8 jours, en prenant le soin de traiter les adipocytes avec du MC inflammatoire, les 3 derniers jours de différenciation (5j + 3j). Le MC inflammatoire issu de la co-culture inhibe l'expression des gènes de l'adipogenèse (FABP4, PPAR γ , Leptine, Adiponectine) et la réponse des adipocytes à l'insuline, à savoir :

- la phosphorylation de l'AKT, témoin d'une activation de la PI3K,
- et l'inhibition de la lipolyse.

Pour conclure, cette étude montre clairement et pour la première fois que les CSA issues du tissu adipeux obèse sont capables de propager l'inflammation et d'induire les Th17 inflammatoires infiltrant ce tissu, ce qui a pour conséquence d'inhiber l'adipogenèse et la sensibilité à l'insuline.

Assia Eljaafari,^{1,2} Maud Robert,^{1,3} Marwa Chehimi,¹ Stephanie Chanon,¹ Christine Durand,¹ Guillaume Vial,¹ Nadia Bendridi,¹ Anne-Marie Madec,¹ Emmanuel Disse,^{1,2} Martine Laville,^{1,2} Jennifer Rieusset,¹ Etienne Lefai,¹ Hubert Vidal,¹ and Luciano Pirola¹



Adipose Tissue–Derived Stem Cells From Obese Subjects Contribute to Inflammation and Reduced Insulin Response in Adipocytes Through Differential Regulation of the Th1/Th17 Balance and Monocyte Activation

Diabetes 2015;64:2477–2488 | DOI: 10.2337/db15-0162

Obesity, through low-grade inflammation, can drive insulin resistance and type 2 diabetes. While infiltration of adipose tissue (AT) with mononuclear cells (MNCs) is well established in obesity, the functional consequences of these interactions are less understood. Herein, we cocultured human adipose-derived stem cells (ASCs) from obese individuals with MNCs and analyzed their reciprocal behavior. Presence of ASCs 1) enhanced interleukin (IL)-17A secretion by Th17 cells, 2) inhibited γ -interferon and tumor necrosis factor α secretion by Th1 cells, and 3) increased monocyte-mediated IL-1 β secretion. IL-17A secretion also occurred in stromal vascular fractions issued from obese but not lean individuals. Th17 polarization mostly depended on physical contacts between ASCs and MNCs—with a contribution of intracellular adhesion molecule-1—and occurred through activation of the inflammasome and phosphatidylinositol 3-kinase pathways. ASCs favored STAT3 over STAT5 transcription factor binding on STAT binding sites within the *IL-17A/F* gene locus. Finally, conditioned media from activated ASC-MNC cocultures inhibited adipocyte differentiation mRNA markers and impaired insulin-mediated Akt phosphorylation and lipolysis inhibition. In conclusion, we report that obese- but not lean-derived ASCs induce Th17 promotion and monocyte activation. This proinflammatory

environment, in turn, inhibits adipogenesis and adipocyte insulin response. The demonstration of an ASC-Th17-monocyte cell axis reveals a novel proinflammatory process taking place in AT during obesity and defines novel putative therapeutic targets.

Obesity is defined as an excessive accumulation of adipose tissue (AT), and its incidence is increasing worldwide, reaching epidemic proportions. The correlation between obesity, type 2 diabetes, and their complications has been clearly established (1). Obesity is associated with low-grade chronic inflammation of AT, due to the infiltration of multiple immune cells, including monocytes, macrophages, natural killer cells, and lymphocytes, resulting in secretion of adipokines and proinflammatory cytokines by both adipocytes and the population of infiltrating immune cells (2,3). Strikingly, in obesity, immune cells are the most represented cell types within AT, with macrophages accounting for up to 50% of the total cells in the AT of obese rodents and humans (4). While monocytes and macrophages have been clearly shown to contribute to the induction of a proinflammatory profile (5), recent research has also implicated the Th17 cells in obesity-dependent inflammation (6,7) and Th17 cell enrichment

¹CarMeN Laboratory, INSERM U1060, Lyon-1 University, INRA U1397, INSA-Lyon, Lyon, France

²Clinical Research Department, Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon-Sud, Pierre-Bénite, France

³Gastroenterology and Surgery Department, Edouard Herriot Hospital, Lyon, France

Corresponding authors: Assia Eljaafari, assia.eljaafari@univ-lyon1.fr, and Luciano Pirola, luciano.pirola@univ-lyon1.fr.

Received 6 February 2015 and accepted 4 March 2015.

This article contains Supplementary Data online at <http://diabetes.diabetesjournals.org/lookup/suppl/doi:10.2337/db15-0162/-/DC1>.

M.R. and M.C. contributed equally to this work.

© 2015 by the American Diabetes Association. Readers may use this article as long as the work is properly cited, the use is educational and not for profit, and the work is not altered.

See accompanying article, p. 2341.

has been observed in AT of obese subjects and obese type 2 diabetic patients (8,9). Similarly, peripheral Th17 cells were significantly increased in a cohort of obese women (10). Interleukin (IL)-17A and IL-17F are cytokines playing a preponderant role in the propagation of inflammation, due to the ubiquitous expression of its receptors IL-17RA/RC (11). IL-17A also increases the secretion of other proinflammatory cytokines—including IL-1 β and IL-6—and chemokines by multiple cell types including macrophages, monocytes, stromal cells, adipocytes, and stem cells. IL-17A may also directly inhibit adipogenesis (12), thus impairing the lipid storage capacities of AT and therefore contributing to the establishment of an insulin-resistant state. In spite of these advances, the mechanisms by which Th17 cells infiltrate and reside within AT remain largely unexplored. Previously, we demonstrated that bone marrow and synovium-derived mesenchymal stem cells (MSCs) amplify IL-17A production by increasing the frequency of Th17 cells, resulting in a vicious circle of proinflammatory cytokine secretion that worsens joint chronic inflammation, such as in rheumatoid arthritis (13). For this study, we postulated that similar mechanisms could occur in human AT, in which adipose stem cells (ASCs) would favor Th17 cell expansion. Indeed, ASCs resemble MSCs in their capacity to 1) differentiate into multiple tissue lineages, 2) secrete multiple cytokines, and 3) display self-renewing capacities (14). To address this question, we cocultured ASCs with blood mononuclear cells (MNCs). We observed that ASCs induced a strong activation of both Th17 cells and monocytes, with inhibition of Th1 cytokines, through pathways involving phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), STAT3, and the inflammasome. Moreover, ASCs differentially modulated STAT3 and STAT5 binding on the *IL-17A/F* gene locus. ASC-MNC cocultures generated proinflammatory conditioned media (CM) that impaired mRNA differentiation markers of adipocytes and adipocyte responsiveness to insulin. In addition, IL-17A secretion also occurred in stromal vascular fractions (SVFs) issued from obese, but not lean, individuals. These data suggest that ASCs may contribute to the development of chronic low-grade inflammation in obese patients, through polarization of infiltrating T cells toward the Th17 lineage, and facilitation of a proinflammatory environment by monocytes, which may in turn prevent adipogenesis and decrease the insulin response of adipose cells.

RESEARCH DESIGN AND METHODS

ASC Isolation and Differentiation

Visceral and subcutaneous AT was obtained from residues of bariatric surgery, with the approval of the Person Protection Committee of Hospices Civils de Lyon or from lean patients undergoing surgery with their informed consent. ASCs were isolated from SVF, following a modified described protocol (15), in which collagenase type-Ia (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France) replaced Liberase. ASCs were selectively expanded in DMEM/Ham F12

cell culture medium (50/50 vol/vol) (Invitrogen) containing 10% FCS, 4 ng/mL human β -FGF (eBioscience), 2 mmol/L L-glutamine, and 100 units/mL penicillin-streptomycin. ASC were differentiated using DMEM/Ham F12 containing 10% FCS, 2 mmol/L L-glutamine, 100 units/mL penicillin-streptomycin, 1.8 μ mol/L insulin, 0.5 mmol/L isobutylmethylxanthine, 500 nmol/L dexamethasone, 1 μ mol/L rosiglitazone, 2 nmol/L triiodothyronine, and 10 μ g/mL transferrin (all from Sigma-Aldrich). During differentiation, half of the culture medium was changed every 2–3 days. ASC differentiation lasted 8–15 days. Differentiation was validated by oil red O visualization of lipid droplets (Supplementary Fig. 1A and C). ASCs were identified by immunophenotypic criteria based on expression of CD73, CD90, CD105; absence of expression of CD45 and HLA-DR; and validation of their capacity to also differentiate into osteoblasts when cultured in osteoblast-differentiating medium (StemPro Osteogenesis Differentiation kit; Life technologies). Calcified bone matrix from osteoblasts was visualized by alizarin-red staining (Supplementary Fig. 1D).

MNC Isolation

MNC were prepared by Ficoll-Hypaque (1.077 g/mL) density gradient centrifugation as previously described (13). Blood samples were obtained through the Lyon Blood-Bank Center (France), following institutionally approved guidelines. ASCs and MNCs were stored in liquid nitrogen prior to use.

Coculture Assays

Cocultures were initiated by seeding ASCs in 96-well plates. MNCs were coseeded 18–24 h later, for 24–48 h, in the presence or absence of phytohemagglutinin (PHA) (5 μ g/mL, Sigma-Aldrich), or anti-CD3/CD28 monoclonal antibodies (5 μ g/mL; ImmunoTools, Friesoythe, Germany). Neutralizing anti-IL-6-receptor antibodies (Tocilizumab, Chugai Pharma France, Paris, France); anti-IL-1 β monoclonal antibodies (R&D Systems, Minneapolis, MN); caspase inhibitor Z-YVAD-fluoromethylketone (Z-YVAD-fmk; MBL-International, Nanterre, France); PI3K inhibitor Wortmannin (Sigma-Aldrich); STAT3 Inhibitor-VI, S3I-201 (sc-204304; Santa Cruz Biotechnology); or anti-intracellular adhesion molecule (ICAM)-1 monoclonals (Beckman Coulter, Villepinte, France) were added to cocultures as indicated in the figure legends. Caspase-1 activity was measured using a caspase-1 colorimetric assay kit (BioVision, Milpitas, CA) following the manufacturer's instructions.

Flow Cytometry Procedures

MNC and ASC-MNC cocultures were treated for the last 4 h of incubation with 3.6 μ mol/L brefeldin-A (GolgiPlug; Becton-Dickinson, Le-Pont-de-Claix, France) and fixed/permeabilized with a Cytofix/Cytoperm kit (Becton-Dickinson) prior to incubation with fluorescein isothiocyanate-conjugated anti-IL-17A (eBioscience), phycoerythrin-conjugated anti- γ -interferon (IFN γ), and APC-conjugated anti-CCR6 (Becton-Dickinson). Thirty minutes of incubation with fluorescently labeled antibodies were followed

by several washes in PBS/2% FCS. Cells were analyzed on a *LSRII* flow cytometer (Becton-Dickinson); image acquisition and data treatment were performed using the Becton-Dickinson FACSDiva Software.

ELISAs

IL-17A, IL-1 β , IL-6, IFN γ , and tumor necrosis factor (TNF) α concentrations were evaluated with ELISA using the corresponding antibodies (eBioscience, Paris, France).

RNA Preparation, Quantitative PCR, and Chromatin Immunoprecipitation

RNA was isolated with Tri-Isolation-Reagent (Roche Diagnostics, Meylan, France). cDNA synthesis was performed using the Primescript-RT kit (Takara, Dalian, Japan). Quantitative PCR (qPCR) was performed on a Rotor-Gene Real-Time-PCR System, using ABsolute QPCR SYBRGreen Mix (ABgene, Illkirch, France). Primer sequences are reported in Supplementary Table 1.

Chromatin immunoprecipitation (ChIP) was performed on ~5 million MNC or MNC-ASC cocultures as previously described (16), with minor modifications. Cells were cross-linked with 1% (w/v) formaldehyde in PBS for 10 min at room temperature and quenched with 0.125 mol/L glycine in PBS. Formaldehyde-fixed cells were harvested, homogenized in 1% SDS cell lysis buffer, and sonicated for 15 min at maximal power on a Diagenode Bioruptor bath sonicator (Liege, Ougrée, Belgium). Prior to immunoprecipitation, DNA shearing was monitored by agarose gel. Chromatin was immunoprecipitated with the indicated antibodies or processed as input sample. Immune complexes were recovered by incubation with protein A-conjugated (for rabbit antibodies) or protein G-conjugated (for mouse antibodies) magnetic beads (Millipore Temecula, Billerica, MA). DNA was recovered from immune complexes and DNA quantified by RT-qPCR. Primer sequences for ChIP amplification on the *IL-17A/F* genomic locus were designed to match STAT binding regions previously identified in mice (17) (Supplementary Table 1). ChIP experiments were performed three times. ChIP recoveries are expressed as percent of input samples. Immunoprecipitations with negative control antibodies consistently yielded negligible amplifications. The following antibodies were used: anti-STAT3, anti-STAT5 (rabbit monoclonal antibodies; Cell Signaling Technology, Beverly, MA). Polyclonal rabbit anti-mouse immunoglobulins (DakoCytomation, Glostrup, Denmark) were used as negative control.

Western Blotting Procedures

Proteins were separated by SDS-PAGE and transferred to polyvinylidene fluoride membranes. Primary antibodies were detected with peroxidase-conjugated secondary antibodies and enhanced chemiluminescence. The following antibodies were used: anti-phospho-STAT3-Ser⁷²⁷ (antibody no. 9134), anti-STAT3 (no. 9139), anti-phospho-Akt-Ser⁴⁷³ (no. 9271), and anti-pan-Akt (no. 4691) (all from CST).

Animal Models

Four-week-old male C57BL/6J0laHsd and *ob/ob* mice were from Harlan. Mice were housed at 22°C on a 12-h

light/dark cycle. Procedures were conducted in accordance with institutional guidelines for the care of laboratory animals. After acclimatization, C57BL/6J0laHsd mice were divided into two groups: one fed a standard chow diet (Harlan) and the other fed a high-fat, high-sucrose diet (TD99249; Harlan) for 16 weeks. The *ob/ob* mice were fed a standard chow diet for 8–10 weeks prior to sacrifice. Animals' body weights and epididymal fat weights are presented in Supplementary Table 2.

Statistical Analyses

For pairwise comparisons, we applied the Student *t* test statistics. For multiple comparisons, we used one-way ANOVA followed by post hoc multiple comparison tests as indicated in the figure legends. Differences were considered statistically significant when $P < 0.05$.

RESULTS

ASCs From Obese Donors Polarize T Cells Toward the Th17 Inflammatory Subset, Negatively Modulate Th1 Cell Responses, and Enhance IL-1 β and IL-6 Secretion by MNCs

In previous reports, we showed that stromal stem cells inhibit the Th1 response (18,19) while simultaneously promoting Th17 cells (13). We therefore analyzed the behavior of MNCs entering into contact with human ASCs derived from visceral fat of obese donors in a coculture model. Graded concentrations of ASCs were cocultured with MNCs. When MNCs were activated with PHA for 48 h, an ASC concentration-dependent increase of IL-17A secretion was observed, reaching significant statistical differences, starting from the lowest ASC:MNC ratio (1:100) compared with PHA-activated MNCs (Fig. 1A). IL-1 β secretion was also increased in the presence of ASCs, with the lowest ASC:MNC ratio eliciting a submaximal response. IL-6 secretion was enhanced in the cocultures but independently from T-cell activation. ASC induced a dose-dependent decrease of PHA-mediated TNF α , and IFN γ production showed a dual response, with high levels in the presence of the lowest concentrations of ASC, but with an ASC dose-dependent decrease (Fig. 1A). Because this dual response was presumptive of the presence of two subpopulations of IFN γ -secreting cells, we next analyzed in more detail the phenotype of the ASC-cocultured T cells. As shown in Fig. 1B, a 10-fold increase in Th17 cells expressing CCR6 was observed by flow cytometry in the presence of PHA and ASC at an ASC:MNC ratio of 1:5. CCR6 was expressed by most Th17 cells, as previously reported (20). When IFN γ was analyzed, two different T-cell subsets were observed, including an IFN γ -producing Th1 population, which secreted IFN γ in response to PHA treatment (Fig. 1C, panel II), which was gradually repressed in the presence of ASCs. The second population secreted both IL-17A and IFN γ , with an ASC dose-dependent response curve (Fig. 1C, panels III–V). These results suggest that ASCs from obese individuals negatively modulate IFN γ secretion by Th1 cells, while increasing IL-17A and IFN γ secretion by Th17 cells.

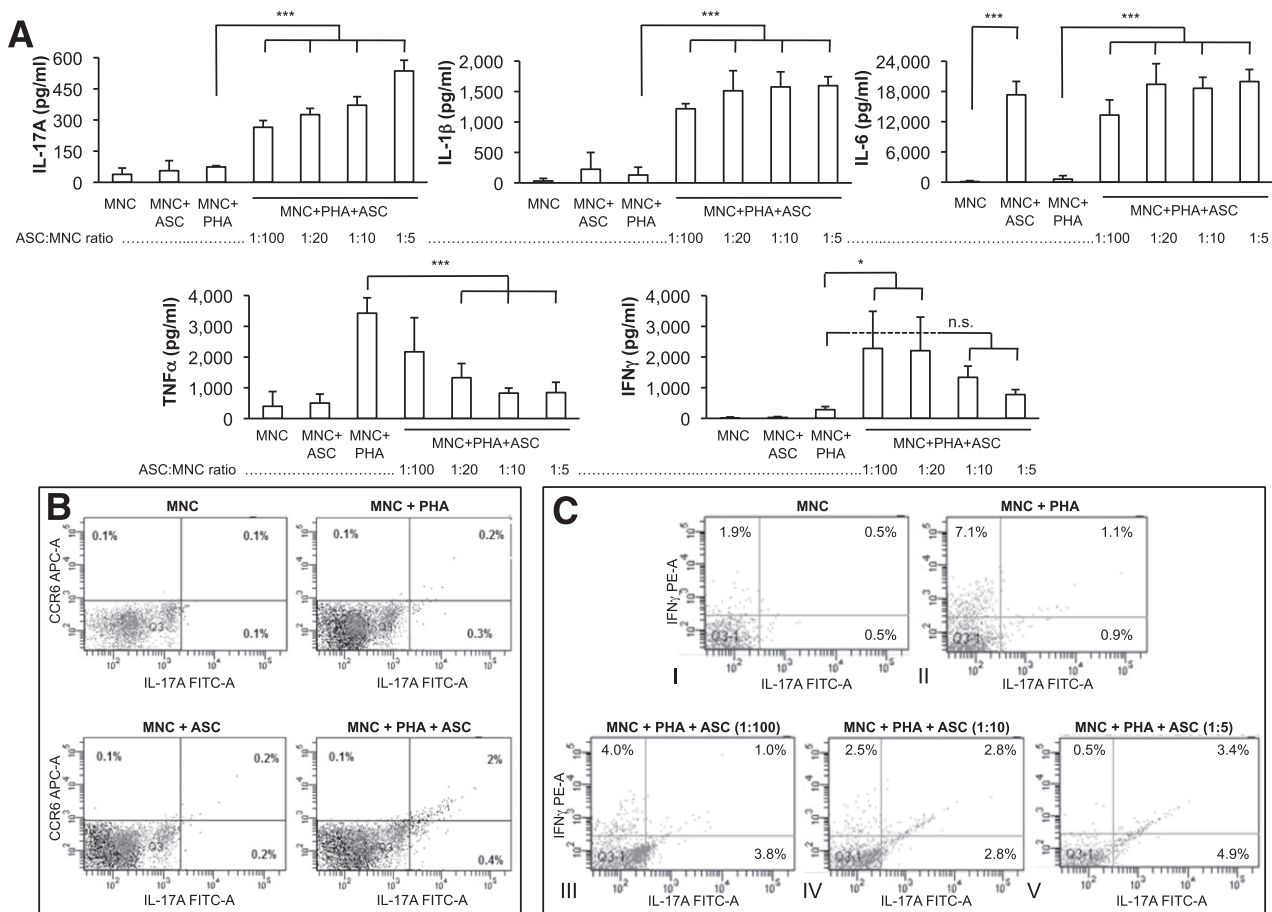


Figure 1—Human ASCs from obese subjects polarize T cells toward the Th17 inflammatory subset, negatively modulate Th1 cell responses, and enhance IL-1β and IL-6 secretion by MNCs. **A:** Cell culture supernatants from MNCs cocultured or not with graded concentrations of ASCs, and activated by PHA or not, were analyzed by ELISA for the secretion of IL-17A, IL-1β, IL-6, TNFα, and IFNγ. ASC-MNC cocultures in the absence of PHA are in a 1:5 ratio. Error bars represent SDs from $n \geq 3$ independent experiments. $^*P < 0.05$, $^{***}P < 0.001$ by one-way ANOVA followed by a Bonferroni multiple comparison test for pairwise comparisons. n.s., not significant. **B:** Representative flow cytometry plots of MNCs stained for CCR6⁺ (y-axis) and intracellular IL-17A⁺ (x-axis). ASC:MNC ratio is 1:5. The percentage of CCR6⁺/IL-17A⁺ double-positive cells is indicated in the top-right quadrant. **C:** Representative flow cytometry plots of MNCs stained for intracellular IFNγ⁺ (y-axis) and IL-17A⁺ (x-axis) under the same experimental conditions as in **B** but with varying ASC:MNC ratios (1:100 to 1:5) as indicated in panels III–V. The percentage of double-positive cells is indicated in the top-right quadrant. The percentage of IFNγ⁺/IL-17A⁻ cells is indicated in the top-left quadrant.

SVFs From Obese- but Not Lean-Derived AT Secrete IL-17A

To investigate whether IL-17A secretion also occurs in a more physiologically relevant setting, we evaluated the effects of PHA treatment on SVF from visceral AT derived from obese versus lean donors. We observed increased IL-17A secretion in PHA-activated SVF from obese but not lean AT (Fig. 2A). Similarly, PHA-induced IL-17A secretion was observed in SVF derived from *ob/ob* mice but not wild-type mice and in AT explants from high-fat high-sucrose fed, but not chow-fed, mice (Supplementary Fig. 2). To define which, from MNC or ASC lineages, plays a role in inducing IL-17A secretion, lean- versus obese-derived ASCs were cocultured with MNCs from lean donors (Fig. 2B). Reciprocally, lean- versus obese-derived MNCs were cocultured with ASCs from lean donors (Fig. 2C). IL-17A secretion was induced by MNCs from lean subjects

interacting with ASCs from obese but not lean individuals (Fig. 2B). However, IL-17A secretion was not induced when MNCs from obese donors were cocultured with lean-derived ASCs (Fig. 2C). Thus, MNC polarization toward the Th17 subset is specifically induced by ASCs from obese donors.

Autologous or Allogeneic ASCs Mediate IL-17A Production by Th17 Cells With Similar Efficiency

Cultured ASCs are known to be negative for HLA class II molecule expression (21) but positive for HLA class I. To investigate the possibility that an alloreactive response against HLA class I molecules could amplify ASC-mediated Th17 promotion, we cocultured three independent MNC preparations with autologous or allogeneic ASCs and measured PHA-mediated IL-17A secretion. IL-17A secretion was independent from the origin of ASCs, indicating

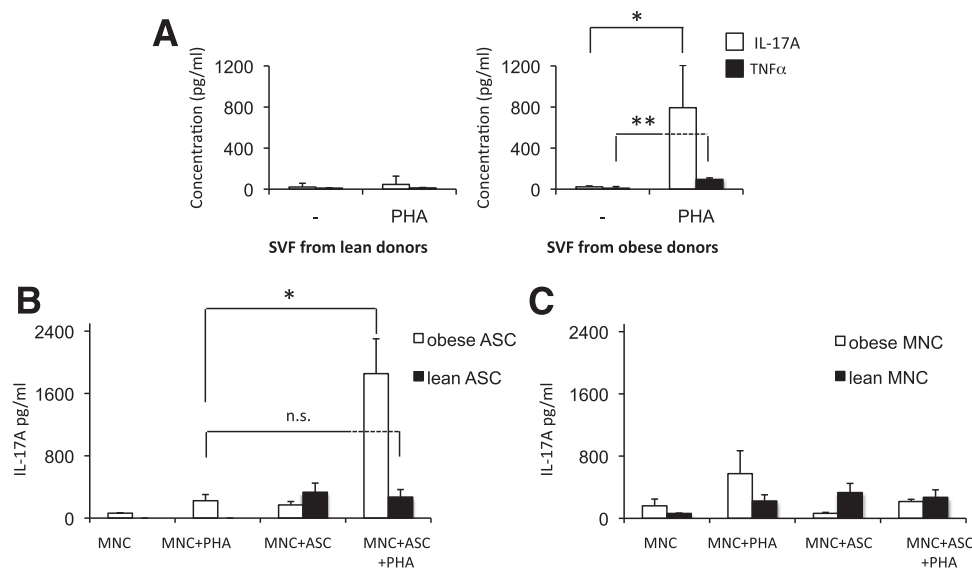


Figure 2—Only SVFs and ASCs derived from obese donors mediate PHA-induced IL-17A secretion. **A:** SVFs were derived from explanted visceral AT from lean or obese subjects. SVFs were left untreated or stimulated with PHA (5 μ g/mL, 48 h). Supernatants were analyzed by ELISA for the secretion of IL-17A (white bars) and TNF α (black bars). Values represent the mean from three independent experiments using SVFs from three independent donors. Error bars represent SD. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, as tested by unpaired Student *t* test. **B:** MNCs derived from lean donors were cocultured in the presence of ASCs derived from obese subjects (white bars) or lean subjects (black bars). **C:** MNCs derived from obese (white bars) or lean (black bars) donors were cocultured in the presence of ASCs derived from lean subjects. Cocultures were stimulated or not with PHA as indicated, and coculture supernatants at 48 h were analyzed by ELISA for the secretion of IL-17A. **B** and **C:** Error bars represent the SEM of three or more independent experiments. n.s., not significant. * $P < 0.05$, as tested by Student *t* test.

that ASCs induce Th17 promotion irrespective of HLA class I expression (Fig. 3A).

IL-17A Production Is Triggered by the T-Cell Receptor, While IL-1 β and IL-6 Secretion Depends on Monocytes and ASCs, Respectively

Because PHA is a nonspecific mitogen, activating T cells and other mononuclear cells, we next investigated whether specific stimulation of T-cell receptor (TCR) would be sufficient to induce Th17 polarization in the presence of ASCs. Incubation with CD3/CD28 activating antibodies was used to mimic antigen-mediated TCR activation and resulted in IL-17A secretion to an extent similar to that with PHA in the presence of ASCs (Fig. 3B). To evaluate the role of monocytes in this model, we depleted them from MNC preparations prior to coculture assays. We observed that, although not absolutely required, monocytes amplified IL-17A production (Fig. 3C). In contrast, IL-1 β production almost completely depended on the presence of monocytes (Fig. 3D). This was not the case for IL-6 secretion, which mostly depended on ASCs (Fig. 3E).

ASC-Mediated IL-17A Production Is Mostly Cell Contact-Dependent

ASCs have been shown to inhibit Th1 cytokine production through secretion of soluble factors but also through cell contact-dependent mechanisms (22). To investigate this issue, we cocultured PHA-activated MNCs with ASCs on a transwell culture system, not allowing for cell-cell contacts between MNC and ASC. In parallel, conditioned media collected from 48-h ASC cultures were added to

PHA-activated MNC. ASC-MNC physical interaction played an important role in IL-17A production, since physical separation of ASCs and MNCs strongly inhibited IL-17A production (Fig. 4A). However, soluble factors secreted by ASCs are also involved, albeit to a lesser extent, because even in transwells, a small but significant increase in IL-17A secretion was observed (Fig. 4A). Coincubation with CM collected from ASC cultures induced a significant increase in IL-17A secretion by PHA-activated MNCs (Fig. 4B), albeit at a much lower level than in ASC-MNC cocultures, indicating the need for physical interaction between MNCs and ASCs for a full response. Accordingly, ICAM-1, an adhesion molecule, might mediate the communication between mononuclear and stromal cells, as the presence of inhibitory anti-CD54 (ICAM-1) monoclonal antibodies in coculture assays reduced by 40% IL-17A secretion (Fig. 4C).

The Inflammasome and IL-1 β , but Not IL-6, Secretion Are Involved in ASC-Mediated IL-17A Production

To investigate the molecular mechanisms leading to IL-17A induction by ASCs, we then tested whether IL-1 β and IL-6, which were increased in ASC-MNC cocultures (Fig. 1A), could contribute to this positive regulation. With this aim, cocultures of PHA-activated MNCs with ASCs were performed in the presence of neutralizing antibodies directed against IL-1 β or IL-6 receptor (IL-6R). Results showed that anti-IL-1 β neutralizing antibodies significantly, albeit not completely, inhibited IL-17A production, while anti-IL-6R had no significant effect (Fig. 5A and B,

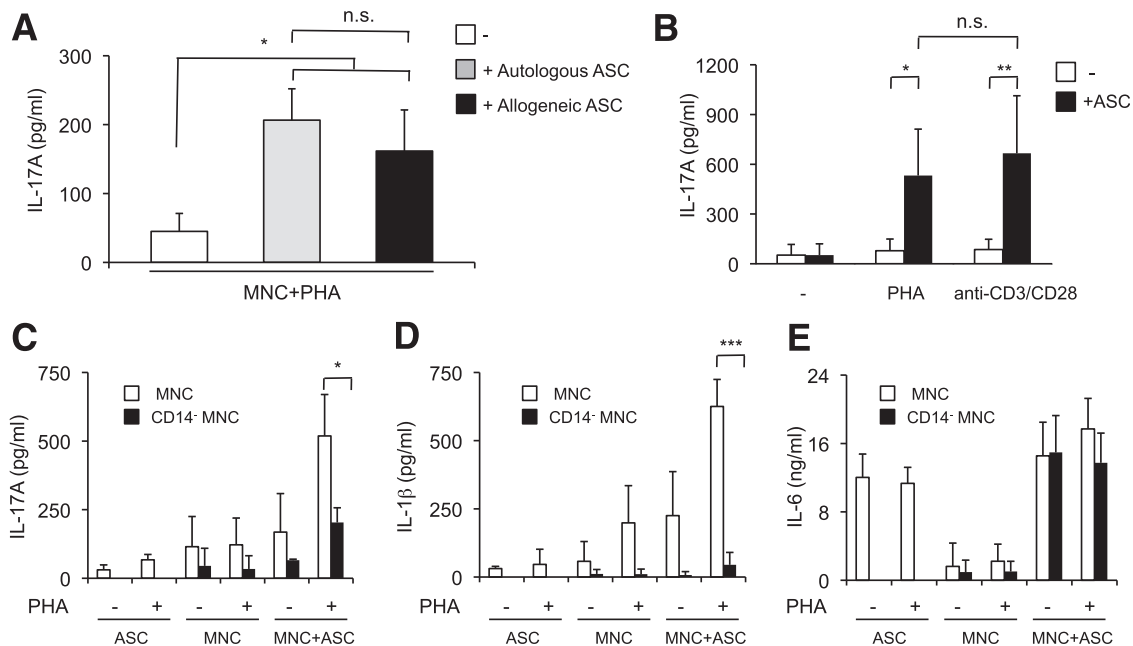


Figure 3—IL-17A production is equally enhanced by autologous or allogeneic ASCs, PHA, or CD3/CD28 costimulation and is potentiated by monocyte-secreted IL-1 β . **A:** PHA-activated MNCs were cocultured with autologous (gray bar) or allogeneic (black bar) ASCs, and IL-17A secretion was measured. **B:** MNCs (white bars) and MNCs cocultured with ASCs (black bars) were left untreated (-), activated with PHA, or activated by incubation with anti-CD3 and anti-CD28 antibodies. **C–E:** IL-17A (**C**), IL-1 β (**D**), and IL-6 (**E**) secretion were measured on MNCs (white bars) or CD14⁻ MNCs (i.e., MNCs devoid of the monocyte fraction) cocultured or not with ASCs and/or PHA as indicated. IL-17A, IL-1 β , and IL-6 levels were determined by ELISA on cell culture supernatants. $n \geq 3$; error bars represent SD. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, as tested by one-way ANOVA followed by Tukey multiple comparison test. n.s., not significant.

respectively). Because IL-1 β secretion requires activation of the cysteine protease caspase-1, a component of the inflammasome (23), we then evaluated the effects of the caspase-1 peptide inhibitor Z-YVAD-fmk and found a drastic inhibition of IL-17A production (Fig. 5C), demonstrating the implication of the inflammasome in ASC-mediated Th17 cell promotion. In support of these results, caspase-1 enzymatic activity was found to be significantly increased in PHA-activated ASC-MNC cocultures compared with unstimulated ASC-MNC cocultures or PHA-activated MNCs (Fig. 5D).

PI3K Signaling and STAT3 Are Involved in ASC-Mediated IL-17A Production

PI3Ks are central regulators of Th17 cell differentiation. Inhibition of PI3K δ and/or PI3K γ —the two isoforms specifically found in immune cells—has been shown to alleviate inflammatory and autoimmune diseases (24). Thus, we evaluated whether PI3K could contribute to ASC-mediated IL-17A secretion. The PI3K inhibitor Wortmannin prevented IL-17A production and Akt Ser⁴⁷³ phosphorylation in PHA-activated ASC-MNC cocultures (Fig. 6A and B). As IL-17 gene transcription is dependent on STAT3 (25), IL-17A secretion was measured after incubation with the STAT3 inhibitor, STAT3-VI, which induced a dose-dependent inhibition of IL-17A secretion from PHA-activated ASC-MNC cocultures (Fig. 6C). To define whether PI3K and STAT3 signaling events are related, we measured Akt and STAT3 phosphorylation after incubation

with either Wortmannin or STAT3-VI. STAT3 inhibition by STAT3-VI did not affect Akt phosphorylation, but Wortmannin decreased STAT3 phosphorylation, indicating that PI3K acts upstream of STAT3 to promote IL-17A secretion (Fig. 6D).

ASCs Differentially Modulate STAT3 and STAT5 Binding on the IL-17A/F Gene Locus

The transcriptional control of IL-17A in T cells is modulated by the reciprocal binding of STAT3 and STAT5 on multiple common binding sites of the IL-17 gene locus (17). According to this model, STAT3 promotes IL-17A transcription, while STAT5 acts as a negative modulator by competing on the same transcription factor binding sites as STAT3. We thus performed ChIP experiments with antibodies directed to STAT3 and STAT5 and analyzed three different *IL-17A/F* gene loci (p1, p3, and p4) (Fig. 7A) known to be involved in transcription factor binding. Figure 7B shows that STAT3 binding to *IL-17A/F* p1 and p4 regions increased in PHA-stimulated cells, regardless of ASC presence. However, STAT5 binding to the same *IL-17A/F* loci did not increase in the presence of ASCs (Fig. 7B), leading thus to an enhancement of the STAT3/STAT5 IL-17A gene binding ratio from 1.06 in PHA-activated MNC to 1.75 in PHA-activated ASC-MNC cocultures (Fig. 7C). Thus, the presence of ASCs appeared to favor the STAT3/STAT5 *IL-17A/F* binding balance toward STAT3 and to subsequently activate *IL-17A* gene transcription.

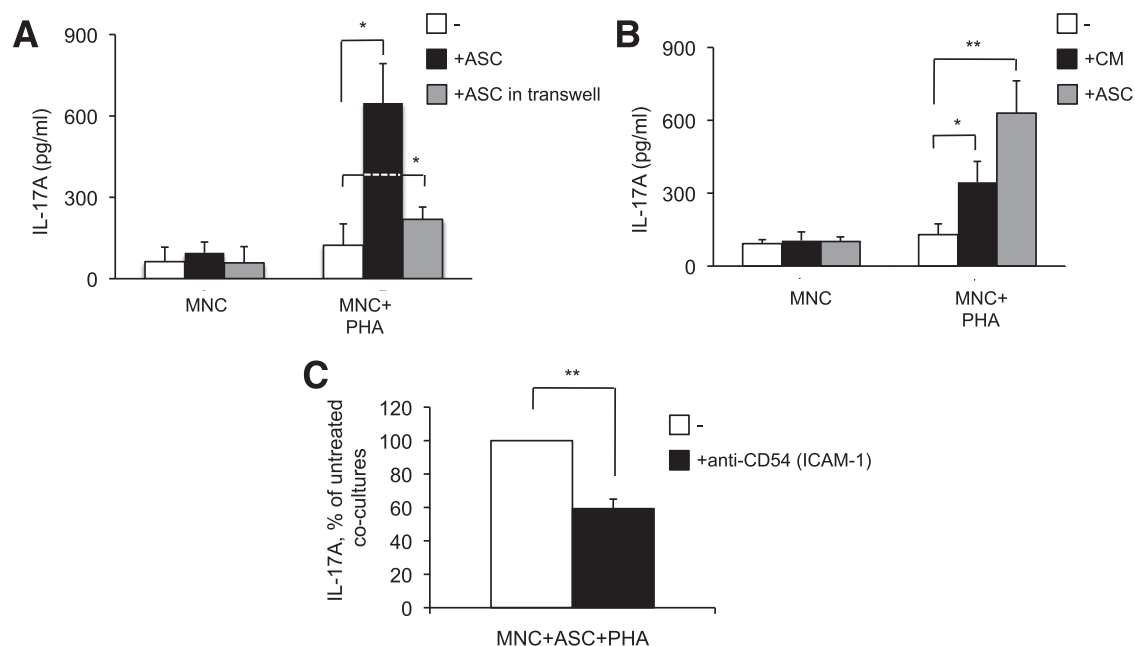


Figure 4—ASC-mediated IL-17A production is mostly cell contact-dependent and partly requires ICAM-1. **A:** MNCs were activated or not with PHA as indicated and left untreated (white bars), cocultured with ASCs (black bars), or cocultured with ASCs in transwells to keep the two cell types separated (gray bars). IL-17A levels were determined by ELISA on cell culture supernatants. **B:** MNCs activated or not with PHA as indicated were cocultured with CM obtained from independently incubated ASCs (black bars) or cocultured with ASCs (gray bars). **C:** ASC-MNC cocultures were left untreated or cocultured with a CD54 (ICAM-1) neutralizing antibody (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$). $n = 3$; error bars represent SD. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, as tested by paired Student t test.

Conditioned Media From PHA-Activated ASC-MNC Cocultures Inhibit Both Adipogenesis and Adipocyte Insulin Responses

Because IL-17A inhibits adipogenesis (12,26), we analyzed the impact of ASC-MNC coculture CM on ASC differentiation into adipocytes. We differentiated ASCs from subcutaneous AT for 5 or 12 days and cultured them for the last 72 h in differentiation medium containing or not a 50% volume of CM collected from resting or PHA-activated ASC-MNC cocultures or MNC cultures. Differentiation was monitored by gene expression profiling of the adipocyte-specific genes FABP4, PPAR γ , adiponectin (AdipoQ), and leptin. Figure 8A shows a strong increase of these genes upon differentiation compared with undifferentiated ASCs. However, differentiating ASCs incubated with CM from PHA-activated MNC, although appearing morphologically similar to control adipocytes (Supplementary Fig. 1), displayed significant downregulation of FABP4, PPAR γ , and adiponectin mRNAs at both 8 (Fig. 8A) and 15 days of differentiation (data not shown). In contrast, expression of leptin mRNA did not significantly decrease compared with adipocytes not exposed to CM. Interestingly, only CM collected from PHA-activated ASC-MNC cocultures inhibited the insulin response of differentiating ASCs, as assessed by reduction of phosphorylated Akt on Ser⁴⁷³ (Akt-Ser⁴⁷³) in insulin-treated cells (Fig. 8B and C). To investigate the effect of CM from PHA-activated ASC-MNC cocultures on an insulin-dependent metabolic response, we studied the inhibitory effect

of insulin on isoproterenol-induced lipolysis (Fig. 8D). We observed that, whereas isoproterenol-induced lipolysis was inhibited by insulin in differentiated ASCs (Fig. 8D, left), such inhibition was lost in differentiating ASCs treated with CM from PHA-activated ASC-MNC cocultures (Fig. 8D, right), indicating that PHA-activated ASC-MNC CM affect both insulin signaling and insulin-dependent metabolic responses.

DISCUSSION

Far from being a mere repository of fat mass, the AT is perhaps the most plastic organ of the body, capable of meeting the evolutionarily conserved need of storing energy/nutrients during periods of plenty but also of acting as a thermogenic organ (27). Such plasticity, associated with lifestyle changes in nutrition and physical activity in the population worldwide, has led to the current epidemics of obesity (28). Although differentiated adipocytes constitute the major part of the AT mass, precursor ASCs represent five cells for each differentiated adipocyte (29). Infiltrating immune cells are also present within AT and contribute to the inflammatory state observed in obesity (3). Infiltrating macrophages were initially identified as major immune effectors within hypertrophic AT (4), but a role for T cells in AT inflammation has also been described (2,3,30). However, the extent of inflammatory phenomena arising from the interaction between MNCs—which collectively include monocytes and T cells—and ASCs has not been investigated.

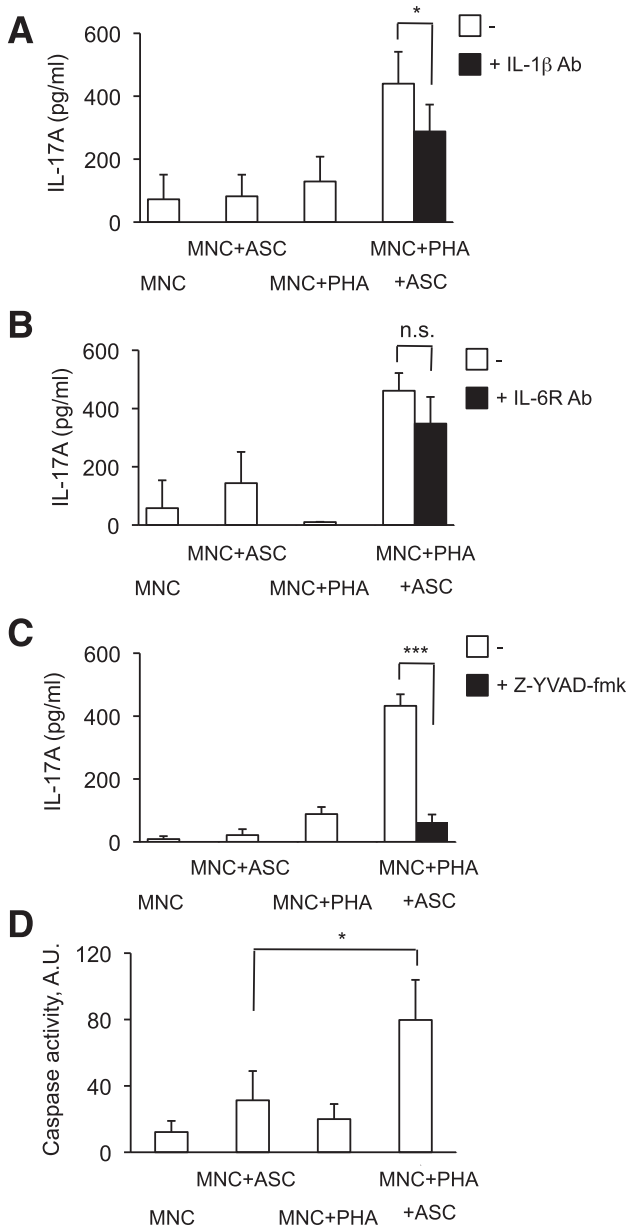


Figure 5—The inflammasome and IL-1 β , but not IL-6, secretion are involved in ASC-mediated IL-17A production. MNCs were coincubated with ASCs or PHA or with both ASCs and PHA as indicated. PHA-activated MNC-ASC cocultures were left untreated (white bars) or incubated (black bars) with neutralizing antibodies directed to IL-1 β (IL-1 β Ab) (A), neutralizing antibodies directed to the IL-6 receptor (IL-6R Ab) (B), and the caspase-1 inhibitor Z-YVAD-fmk (10 μ mol/L) (C). IL-17A levels were determined by ELISA on cell culture supernatants. D: Measurement of caspase-1 activity in ASC-MNC cocultures left untreated or stimulated with PHA. A.U., arbitrary units; n.s., not significant. $n \geq 3$; error bars represent SD. * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, as tested by unpaired Student t test.

Based on our previous work on MSC-mediated inflammation in rheumatoid arthritis (13), we postulated that interactions between ASCs and MNCs contribute to AT inflammation. Here, using ASC-MNC cocultures, we observed that obese- but not lean-derived ASCs polarize

PHA-activated MNCs toward a Th17 phenotype, resulting in increased secretion of IL-17A, with a parallel decrease in TNF α and IFN γ Th1 cytokine secretion. Supporting these results on a more physiological level, we observed that AT-derived SVF from obese, but not lean, donors also secreted TNF α upon activation with PHA but at much lower levels than IL-17A (Fig. 2A).

IL-17A secretion was triggered by TCR activation, as treatment of MNC with anti-CD3/CD28-activating antibodies induced levels of IL-17A secretion similar to those of PHA (Fig. 3B). Furthermore, because IL-17A secretion was promoted by both autologous and allogeneic ASCs, this suggests that ASCs might present an antigen to MNCs, independently of HLA expression. This is in accordance with reports showing that 1) human ASCs are devoid of HLA class II expression (21) and 2) AT antigens are preferentially presented to T cells in obese versus lean experimental models (31), with lipid antigens being potential candidates (32). Supporting that ASCs might present an antigen to T cells, we demonstrated that obese, but not lean-derived, ASCs are able to induce IL-17A secretion by MNCs from either lean or obese subjects, whereas obese-derived MNCs did not secrete IL-17A when interacting with ASCs from lean subjects (Fig. 2B). Moreover, ICAM-1 partly mediated MNC-ASC interaction, as assessed by the inhibitory effect of anti-CD54 antibodies. We observed that proinflammatory IL-1 β increased in the presence of ASCs and that the monocyte fraction of MNCs was likely responsible for IL-1 β secretion. In contrast, IL-6 secretion depended on ASCs. Taken together, these data suggest that AT inflammation might be governed by the cellular interplay of three cell lineages: ASCs, T cells, and monocytes.

To decipher the molecular events leading to ASC-mediated IL-17A secretion, we added anti-IL-1 β and anti-IL-6R neutralizing antibodies to ASC-MNC cocultures. We observed that IL-1 β , but not IL-6, blockade decreased ASC-mediated IL-17A secretion. Because caspase-1, an enzyme activated by the inflammasome, controls IL-1 β secretion through pro-IL-1 β cleavage (33,34), we evaluated the requirement for caspase-1 activation in the induction of ASC-mediated IL-17A secretion by blocking the inflammasome with Z-YVAD-fmk, or IL-1 β secretion with neutralizing antibodies, and by measuring caspase-1 catalytic activity, which we found increased in PHA-activated ASC-MNC cocultures (Fig. 5D). Z-YVAD-fmk treatment resulted in a more potent inhibition of IL-17A production than IL-1 β -neutralizing antibody, suggesting the involvement of other inflammasome-generated proinflammatory cytokines (35).

To better understand the mechanisms by which ASC favor Th17 polarization, we examined PI3K and STAT3 activation, which both contribute to the signaling pathways leading to Th17 cell differentiation (36,37). Wortmannin inhibited both Akt phosphorylation and IL-17A secretion in PHA-activated ASC-MNC cocultures. In addition, as IL-17A secretion was blocked by STAT3

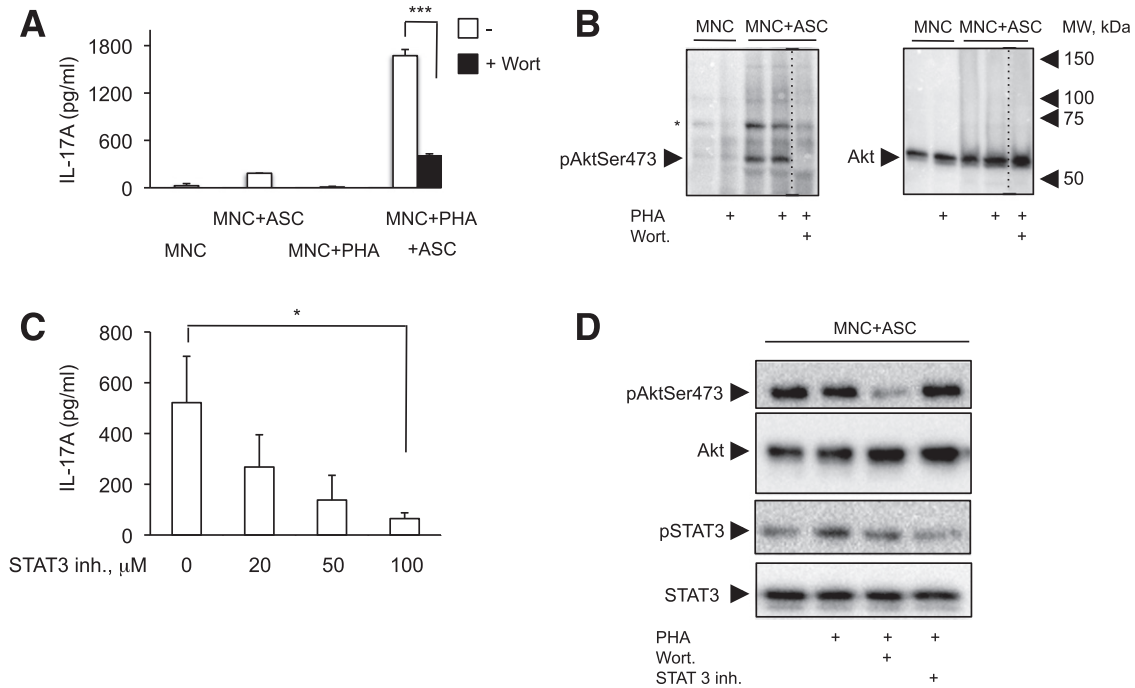


Figure 6—The PI3K transduction pathway and STAT3 are involved in ASC-mediated IL-17A production. **A**: MNC were cocultured with ASCs or PHA or with both ASCs and PHA as indicated. PHA-activated MNC-ASC cocultures were left untreated (white bars) or incubated with 100 nmol/L Wortmannin during the coculture (black bars). IL-17A levels were determined by ELISA on 48-h cell culture supernatants. $n = 3$, error bars represent SD. $***P < 0.001$ as tested by unpaired Student t test. **B**: Western blot analysis of pAkt-Ser⁴⁷³ (left blot) and total Akt (right blot) on equally loaded independent gels. *Unidentified band. Molecular weight (MW) markers are indicated on the right. The dotted line represents separation between lanes on the same immunoblotting membrane. **C**: PHA-treated MNC-ASC cocultures were incubated with increasing concentrations of the STAT3 inhibitor STAT3-VI. IL-17A secretion was measured by ELISA on cell culture supernatants. $n = 3$; error bars represent SD. $*P < 0.05$ as tested by unpaired Student t test. **D**: Western blot analysis of pAkt-Ser⁴⁷³ and total Akt (upper panels) and pSTAT3 and total STAT3 (lower panels) on ASC-MNC cocultured treated with PHA and the inhibitors Wortmannin (Wort.) (100 nmol/L) or STAT3-VI (STAT3 inh.) (100 μmol/L) as indicated.

inhibition, and Wortmannin partly inhibited STAT3 phosphorylation (Fig. 6C and D), we suggest that PI3K acts upstream of STAT3 on a signaling pathway leading to IL-17A secretion. We then demonstrated that the STAT3/STAT5 binding ratio on the *IL-17A/F* gene locus increased in the presence of ASCs. Because Yang et al. (17) reported

that IL-2 inhibits IL-17A secretion by increasing STAT5 binding to the *IL-17A/F* gene locus over STAT3 binding, we measured IL-2 secretion and observed its inhibition in the presence of ASCs, as expected for a Th1 cytokine (Supplementary Fig. 3). We therefore suggest that ASCs promote IL-17A secretion by decreasing IL-2 mediated

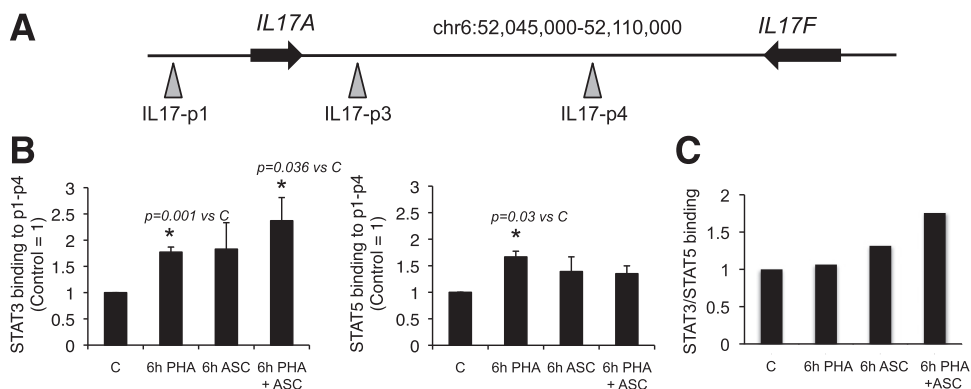


Figure 7—ASCs modulate STAT3 and STAT5 binding on the *IL-17A-IL-17F* gene locus. **A**: Schematic diagram of the *IL-17A-IL-17F* gene locus, indicating the three STAT-binding sites p1, p3, and p4 studied by ChIP. **B**: Evaluation of STAT3 (left graph) and STAT5 (right graph) binding on the p1–p4 sites. Results are represented as relative binding to the control condition on the three different (p1–p4) sites. $*P < 0.05$ vs. control condition (C) by paired t test. $n = 3$, error bars represent SEM. **C**: STAT3/STAT5 binding ratio on the genomic loci p1–p4.

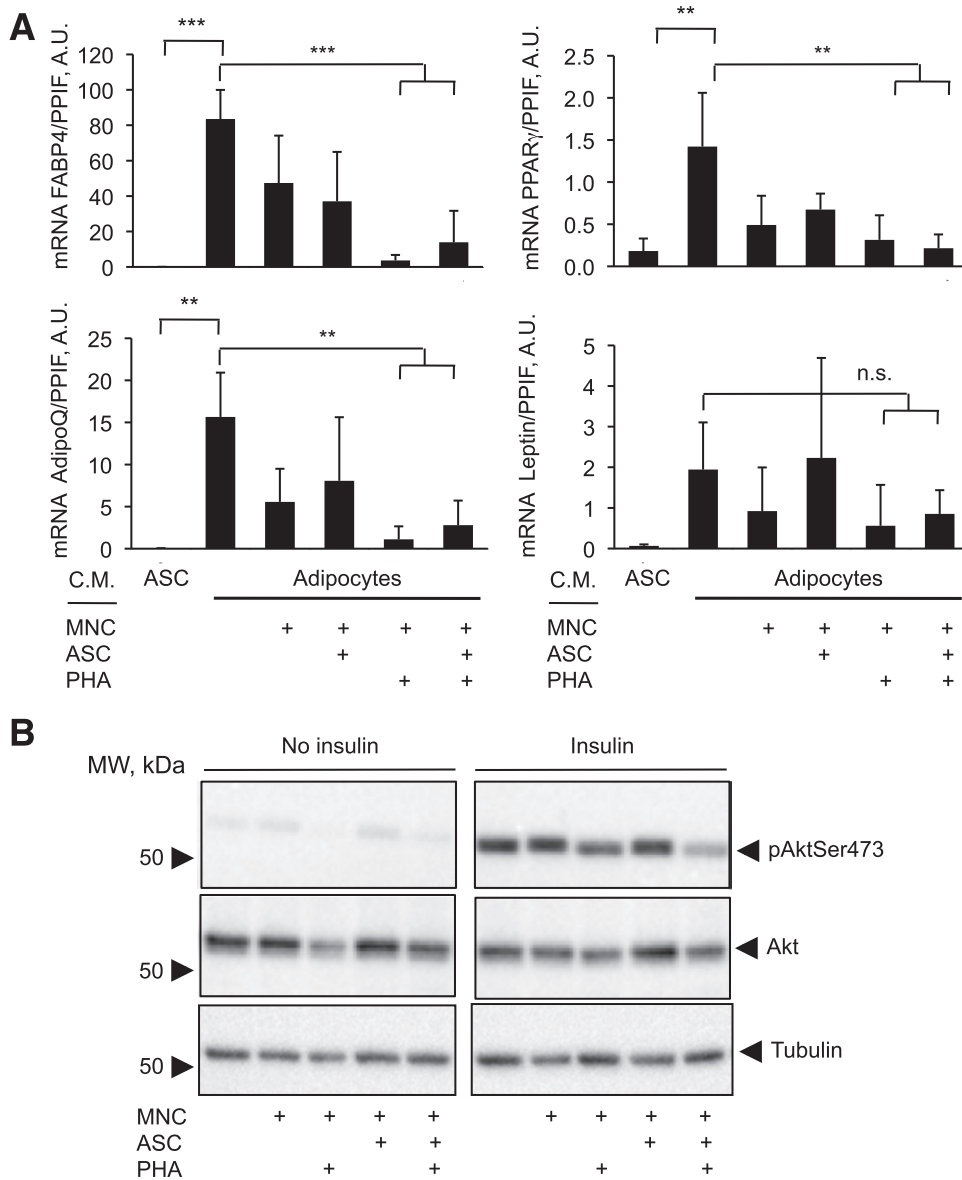


Figure 8—Conditioned media from PHA-activated MNCs inhibit ASC terminal differentiation. ASC differentiation was initiated at cell confluence by switching the cells to differentiation medium. At day 5 (A–C) or 12 (D) from the start of differentiation, cells were treated for 3 days with CM obtained from MNCs cocultured or not with ASCs and/or PHA as indicated. At the end of the differentiation period, cells were subjected to RNA extraction for qPCR quantifications (A), starved overnight, and subsequently stimulated with 100 nmol/L insulin for 15 min (B and C) or starved overnight and subjected to a glycerol release assay (D). A: qPCR of adipogenic genes FABP4, PPAR γ , AdipoQ, and leptin. Gene expression was normalized to the peptidylprolyl isomerase F (PPIF) housekeeping gene. $n \geq 3$; error bars represent SD. $**P < 0.01$, $***P < 0.001$, as tested by one-way ANOVA followed by a Tukey multiple comparison test. n.s., not significant. B: Western blot analysis of pAkt-Ser⁴⁷³, total Akt, and tubulin on equally loaded independent gels. Molecular weight (MW) markers are indicated on the left. C: Quantification of pAkt-Ser⁴⁷³ normalized on total Akt levels. $*P < 0.05$ vs. control condition by *t* test. $n = 3$; error bars represent SD. D: Differentiating adipocytes at day 12 were treated for 72 h with conditioned media from PHA-activated ASC-MNC cocultures (black bars) or left untreated (white bars). Glycerol release was measured after incubation with 100 nmol/L isoproterenol (IPT) for 2 h. Insulin-dependent inhibition of glycerol release was measured by cocultivation with the indicated concentrations of insulin. A representative experiment of three is shown. Error bars indicate the SD from two independent measurements.

STAT5 binding on the *IL-17A/F* gene. To determine the impact of ASC-MNC interactions on the adipocyte biology, we next investigated the impact of cytokine secretion arising from ASC-MNC cocultures on adipocyte differentiation. We observed impairment of adipogenesis mRNA markers in the presence of CM obtained from

PHA-activated MNC or ASC-MNC cocultures. This suggests that Th1 and Th17 cytokines are involved in this inhibitory effect, in agreement with reports showing that both TNF α and IL-17A inhibit adipogenesis (12,38). Interestingly, while adipocyte differentiation markers FABP4, PPAR γ , and AdipoQ were inhibited, leptin mRNA

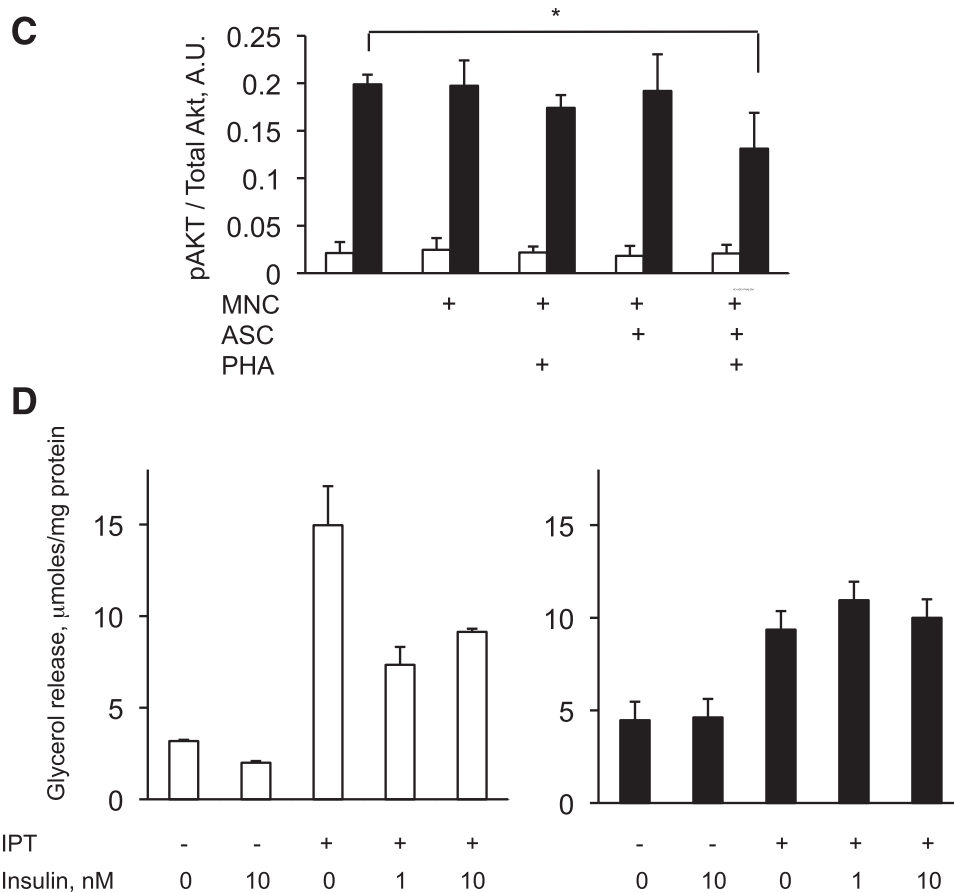


Figure 8—Continued.

expression was not impaired, in agreement with the fact that AT inflammation is associated with increased levels of leptin but reduced levels of adiponectin (39) and the demonstration of a positive effect of IL-17A on leptin secretion (40). Moreover, only CM from PHA-activated ASC-MNC cocultures significantly reduced the insulin response in differentiating adipocytes (Fig. 8B and C), which was supported by absence of insulin-mediated lipolysis inhibition (Fig. 8D). Seventy-two hour incubation of differentiating ASC with ASC-MNC CM did not significantly affect adipocyte morphology and lipid droplet accumulation (Supplementary Fig. 1). However, we cannot rule out that longer lasting treatments with ASC-MNC CM would affect adipocyte morphology. Based on our results, and on previous reports showing an impairment of the insulin response in IL-17A-treated 3T3-preadipocytes or human hepatocytes (9,26), we suggest that immune cells infiltrating AT may send a signal to ASC, which then prevents further adipocyte differentiation through promotion of Th17 cells. Because IL-17A has also been shown to increase in peripheral blood and tissues of obese patients (9,10), and to exacerbate inflammation (41), our results suggest that ASCs could contribute to obesity-mediated inflammation through deviation of the Th1 response toward the Th-17 pathway

in AT and subsequent propagation of inflammation in the periphery. Our study reinforces the concept that obese-derived ASCs induce peripheral inflammation through Th17 cell promotion (13,42–44).

In conclusion, we demonstrate that besides their well-known immune-regulatory effect on Th1 cells (45), ASCs derived from obese subjects contribute to AT inflammation by promoting Th17 and monocyte activation. Further deciphering this novel cell interplay might allow defining new therapeutic targets to alleviate the inflammatory status of AT in obesity.

Funding. This work was supported in part by INSERM and research grants from Fondation de l'Avenir and Fondation Groupe Chèque Déjeuner.

Duality of Interest. No potential conflicts of interest relevant to this article were reported.

Author Contributions. A.E. conceived the project, directed the project, performed experiments, and wrote the manuscript. M.R., G.V., A.-M.M., E.D., and J.R. provided biopsies and biological material. M.C., S.C., C.D., and N.B. performed experiments. M.L., E.L., and H.V. directed the project. L.P. directed the project, performed experiments, and wrote the manuscript. All authors reviewed and commented on the manuscript and approved the final version of the manuscript. A.E. and L.P. are the guarantors of this work and, as such, had full access to all the data in the study and take responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Prior Presentation. Parts of this study were presented in abstract form at the Annual Congress of the Francophone Society of Diabetes, Paris, France, 11–14 March 2014, and at the 50th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Vienna, Austria, 15–19 September 2014.

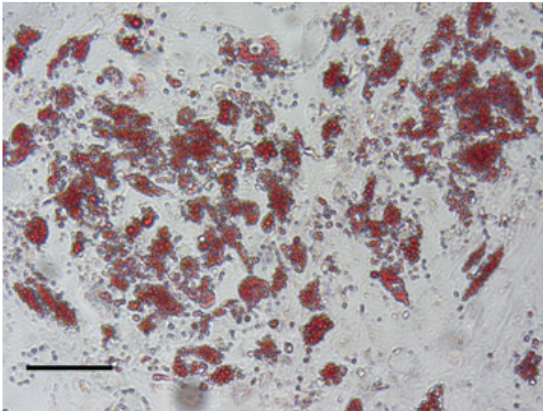
References

- Xu XJ, Pories WJ, Dohm LG, Ruderman NB. What distinguishes adipose tissue of severely obese humans who are insulin sensitive and resistant? *Curr Opin Lipidol* 2013;24:49–56
- Kammoun HL, Kraakman MJ, Febbraio MA. Adipose tissue inflammation in glucose metabolism. *Rev Endocr Metab Disord* 2014;15:31–44
- Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol* 2011;11:98–107
- Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112:1796–1808
- Xu H, Barnes GT, Yang Q, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 2003;112:1821–1830
- Ahmed M, Gaffen SL. IL-17 in obesity and adipogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010;21:449–453
- Winer S, Paltser G, Chan Y, et al. Obesity predisposes to Th17 bias. *Eur J Immunol* 2009;39:2629–2635
- Dalmas E, Venteclef N, Caer C, et al. T cell-derived IL-22 amplifies IL-1 β -driven inflammation in human adipose tissue: relevance to obesity and type 2 diabetes. *Diabetes* 2014;63:1966–1977
- Fabbrini E, Cella M, McCartney SA, et al. Association between specific adipose tissue CD4+ T-cell populations and insulin resistance in obese individuals. *Gastroenterology* 2013;145:366–374.e361–363
- Sumarac-Dumanovic M, Stevanovic D, Ljubic A, et al. Increased activity of interleukin-23/interleukin-17 proinflammatory axis in obese women. *Int J Obes (Lond)* 2009;33:151–156
- Gaffen SL. Recent advances in the IL-17 cytokine family. *Curr Opin Immunol* 2011;23:613–619
- Ahmed M, Gaffen SL. IL-17 inhibits adipogenesis in part via C/EBP α , PPAR γ and Krüppel-like factors. *Cytokine* 2013;61:898–905
- Eljaafari A, Tartelin ML, Aissaoui H, et al. Bone marrow-derived and synovium-derived mesenchymal cells promote Th17 cell expansion and activation through caspase 1 activation: contribution to the chronicity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2012;64:2147–2157
- Hass R, Kasper C, Böhm S, Jacobs R. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun Signal* 2011;9:12
- Demozay D, Rocchi S, Mas JC, et al. Fatty aldehyde dehydrogenase: potential role in oxidative stress protection and regulation of its gene expression by insulin. *J Biol Chem* 2004;279:6261–6270
- Zerzaihi O, Chriett S, Vidal H, Pirola L. Insulin-dependent transcriptional control in L6 rat myotubes is associated with modulation of histone acetylation and accumulation of the histone variant H2A.Z in the proximity of the transcriptional start site. *Biochem Cell Biol* 2014;92:61–67
- Yang XP, Ghoreschi K, Steward-Tharp SM, et al. Opposing regulation of the locus encoding IL-17 through direct, reciprocal actions of STAT3 and STAT5. *Nat Immunol* 2011;12:247–254
- Li YP, Paczesny S, Lauret E, et al. Human mesenchymal stem cells license adult CD34+ hemopoietic progenitor cells to differentiate into regulatory dendritic cells through activation of the Notch pathway. *J Immunol* 2008;180:1598–1608
- Madec AM, Mallone R, Afonso G, et al. Mesenchymal stem cells protect NOD mice from diabetes by inducing regulatory T cells. *Diabetologia* 2009;52:1391–1399
- Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V, et al. Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J Exp Med* 2007;204:1849–1861
- Schäffler A, Büchler C. Concise review: adipose tissue-derived stromal cells—basic and clinical implications for novel cell-based therapies. *Stem Cells* 2007;25:818–827
- Bassi EJ, Moraes-Vieira PM, Moreira-Sá CS, et al. Immune regulatory properties of allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells in the treatment of experimental autoimmune diabetes. *Diabetes* 2012;61:2534–2545
- Mariathasan S, Monack DM. Inflammasome adaptors and sensors: intracellular regulators of infection and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2007;7:31–40
- Roller A, Perino A, Dapavo P, et al. Blockade of phosphatidylinositol 3-kinase PI3K δ or PI3K γ reduces IL-17 and ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis. *J Immunol* 2012;189:4612–4620
- Wei L, Laurence A, Elias KM, O'Shea JJ. IL-21 is produced by Th17 cells and drives IL-17 production in a STAT3-dependent manner. *J Biol Chem* 2007;282:34605–34610
- Zúñiga LA, Shen WJ, Joyce-Shaikh B, et al. IL-17 regulates adipogenesis, glucose homeostasis, and obesity. *J Immunol* 2010;185:6947–6959
- Giordano A, Smorlesi A, Frontini A, Barbatelli G, Cinti S. White, brown and pink adipocytes: the extraordinary plasticity of the adipose organ. *Eur J Endocrinol* 2014;170:R159–R171
- Malik VS, Willett WC, Hu FB. Global obesity: trends, risk factors and policy implications. *Nat Rev Endocrinol* 2013;9:13–27
- Ahrends R, Ota A, Kovary KM, Kudo T, Park BO, Teruel MN. Controlling low rates of cell differentiation through noise and ultrahigh feedback. *Science* 2014;344:1384–1389
- Johnson AR, Milner JJ, Makowski L. The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunol Rev* 2012;249:218–238
- Winer S, Chan Y, Paltser G, et al. Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat Med* 2009;15:921–929
- Lepore M, de Lalla C, Gundimeda SR, et al. A novel self-lipid antigen targets human T cells against CD1c(+) leukemias. *J Exp Med* 2014;211:1363–1377
- Stienstra R, Tack CJ, Kanneganti TD, Joosten LA, Netea MG. The inflammasome puts obesity in the danger zone. *Cell Metab* 2012;15:10–18
- Martinson F, Gaide O, Pétrilli V, Mayor A, Tschopp J. NALP inflammasomes: a central role in innate immunity. *Semin Immunopathol* 2007;29:213–229
- Esposito K, Pontillo A, Ciotola M, et al. Weight loss reduces interleukin-18 levels in obese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:3864–3866
- Bergamini G, Bell K, Shimamura S, et al. A selective inhibitor reveals PI3K γ dependence of T(H)17 cell differentiation. *Nat Chem Biol* 2012;8:576–582
- Yang XO, Panopoulos AD, Nurieva R, et al. STAT3 regulates cytokine-mediated generation of inflammatory helper T cells. *J Biol Chem* 2007;282:9358–9363
- Jin D, Sun J, Huang J, et al. TNF- α reduces g0s2 expression and stimulates lipolysis through PPAR- γ inhibition in 3T3-L1 adipocytes. *Cytokine* 2014;69:196–205
- Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 2011;11:85–97
- Noh M. Interleukin-17A increases leptin production in human bone marrow mesenchymal stem cells. *Biochem Pharmacol* 2012;83:661–670
- Grieco FA, Moore F, Vigneron F, et al. IL-17A increases the expression of proinflammatory chemokines in human pancreatic islets. *Diabetologia* 2014;57:502–511
- Guo Z, Zheng C, Chen Z, et al. Fetal BM-derived mesenchymal stem cells promote the expansion of human Th17 cells, but inhibit the production of Th1 cells. *Eur J Immunol* 2009;39:2840–2849
- van Hamburg JP, Asmawidjaja PS, Davelaar N, et al. Th17 cells, but not Th1 cells, from patients with early rheumatoid arthritis are potent inducers of matrix metalloproteinases and proinflammatory cytokines upon synovial fibroblast interaction, including autocrine interleukin-17A production. *Arthritis Rheum* 2011;63:73–83
- Wu L, Ong S, Talor MV, et al. Cardiac fibroblasts mediate IL-17A-driven inflammatory dilated cardiomyopathy. *J Exp Med* 2014;211:1449–1464
- Hoogduijn MJ, Crop MJ, Peeters AM, et al. Human heart, spleen, and perirenal fat-derived mesenchymal stem cells have immunomodulatory capacities. *Stem Cells Dev* 2007;16:597–604

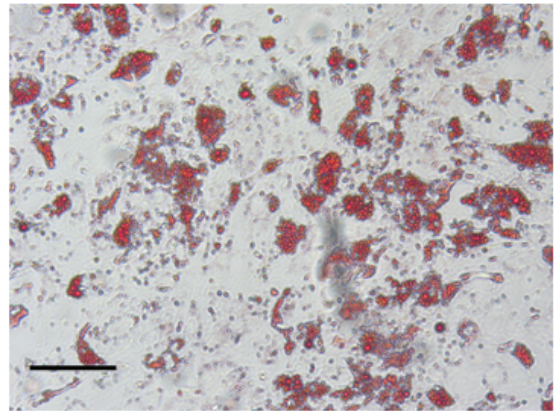
SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary Figure 1. Generation of adipocytes and osteoblasts from adipose tissue-derived ASC. (A,B,C), Oil Red O staining of ASC differentiated to adipocytes by incubation in differentiation medium for 15 days. From day 12, differentiating ASC were exposed for 72 h to normal differentiation medium (A) or differentiation medium containing a 50% volume of conditioned media collected from resting (B) or PHA-activated (C) ASC-MNC co-cultures. No obvious morphological differences are observed. Quantification of lipid content by Oil Red O staining using spectrophotometric analysis of isopropanol-extracted lipids at 510 nm is shown for each experimental condition. (D) ASC were differentiated to osteoblast by incubation in osteoblast differentiation medium for 8 days and stained by alizarin red. The black bars represent 100 μ m.

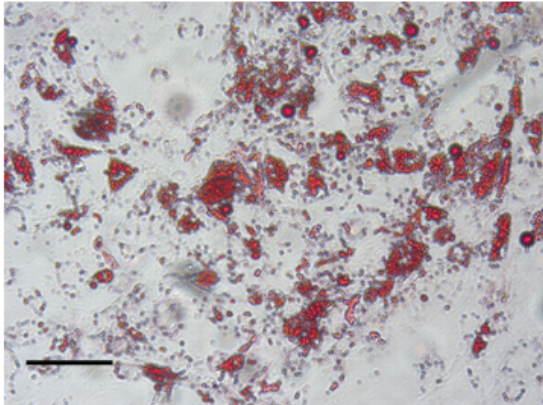
A No supernatant. A_{510} nm=1,203



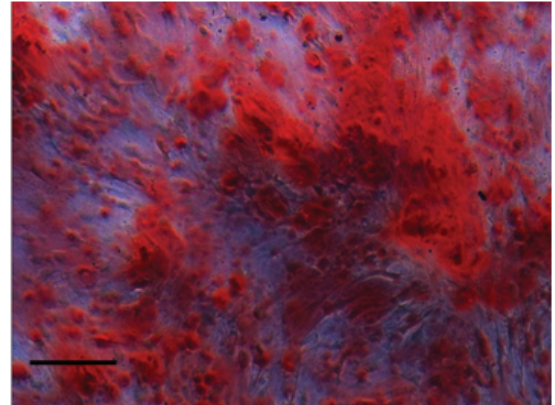
B Supernatant: CMN+PHA. A_{510} nm=1,317



C Supernatant: CMN+ASC+PHA. A_{510} nm=1,401

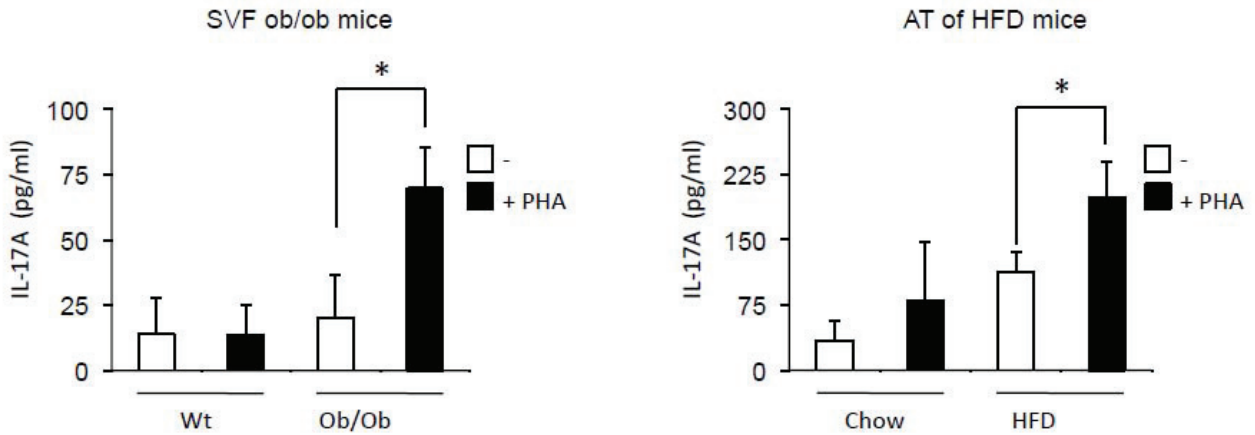


D Alizarin red staining



SUPPLEMENTARY DATA

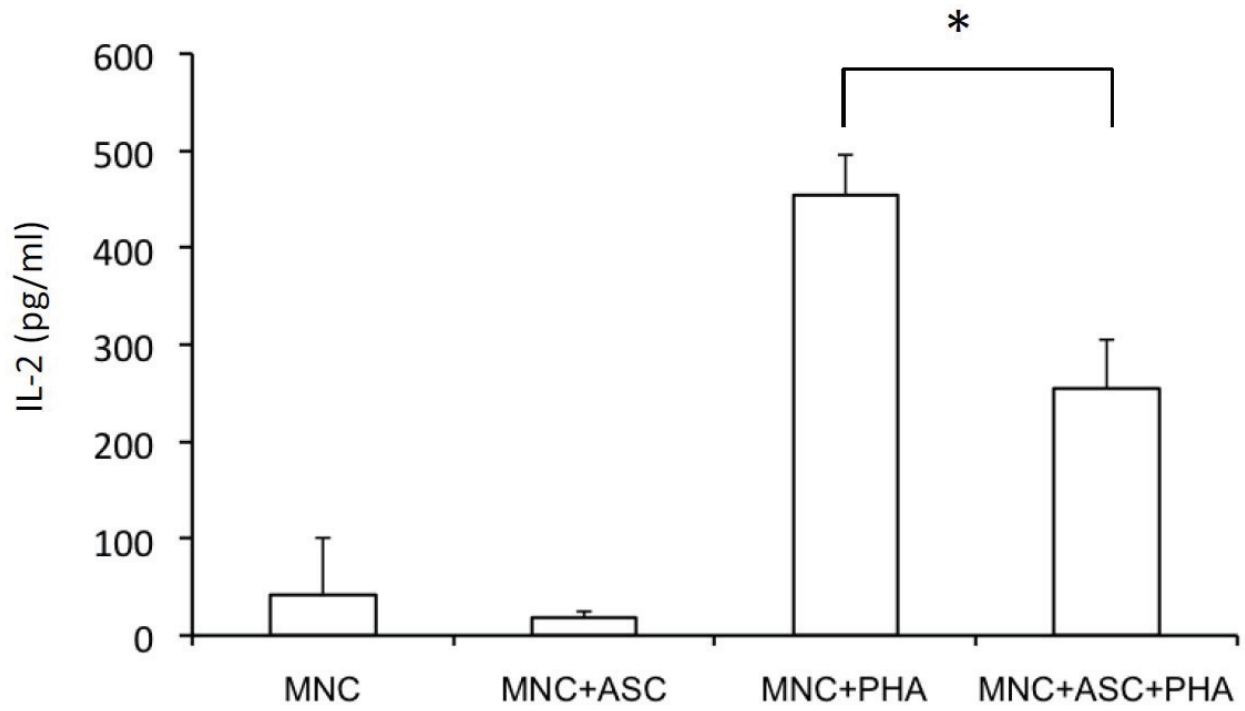
Supplementary Figure 2. IL-17A secretion from PHA-treated adipose tissue derived stromal vascular fractions. SVF from visceral fat of *Ob/Ob* mice and control wild type mice (**Left graph**), and explanted adipose tissue from high fat diet (16 weeks, HFD) and chow fed mice (**Right graph**) were left untreated or stimulated with PHA (PHA, 5 μ g/ml, 24h). Supernatants were analyzed by ELISA for the secretion of IL-17A. n=3, error bars represent SD. * p<0.05, as tested by student *t* test.



SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary Figure 3. ASC inhibit IL-2 secretion by PHA-activated MNC

IL-2 levels from MNC co-cultured or not with ASC, and activated or not by PHA, were determined by ELISA on cell culture supernatants. n=3, error bars represent SD. * p<0.05, as tested by student *t* test.



SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary Table 1. primers used in this study

Primers for ChIP

Amplified gene locus	5'-3' sequence	Amplicon size, bp
IL17-p1	F: TAAGGCTAGAAAGGAAGTTGTACG R: CAATAATGATTCTCAAAGCATGG	131, approx 2 kbp upstream of the <i>IL17A</i> TSS
IL17-p3	F: ACATTTACTGAAGACACCCGTGAC R: ATTCCATAATTACCCAGGAAGCG	146, approx 20 kbp downstream of the <i>IL17A</i> gene
IL17-p4	F: CTCTTCATTGTCTCCCACACAGG R: CCATGTGGTGGATTCTGAAAGC	84, approx 35 kbp downstream of the <i>IL17A</i> gene

Primers for real-time qPCR

Gene name	5'-3' sequence	Amplicon size, bp
PPIF	F: GGCTACAAAGGCTCCACCTTC R: GAAAGCGGCTCCGTAGATG	112
FABP4	F: CTGGTACATGTGCAGAAATGG R: GAACTTCAGTCCAGGTCAACG	156
PPAR γ	F: TCTCTCCGTAATGGAAGACC R: GCATTATGAGACATCCCCAC	474
AdipoQ	F: AGGCCGTGATGGCAGAGATG R: CTTCTCCAGGTTCTCCTTTCTGTC	161

SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary Table 2. body weight and epididymal fat pads weight of the mouse models used in this study

		Wild type	<i>Ob/Ob</i>	Chow diet	High fat, high sucrose
Body weight	Mean (g)	25.31	46.11	30.5	48.4
	SEM (n=14)	0.65	0.5	0.9	0.6
Epididymal Adipose tissue weight	Mean (g)	0.31	3.1	0.6	1.81
	SEM (n=14)	0.01	0.1	0.06	0.11

ARTICLE 2

Les adipocytes, aussi bien que leurs progéniteurs, contribuent à l'inflammation du tissu adipeux via la polarisation des Th17 et l'activation des monocytes inflammatoires, chez les sujets obèses.

ADIPOCYTE, 2016

Adipocytes, like their progenitors, contribute to inflammation of adipose tissues through promotion of Th17 cells and activation of monocytes, in obese subjects

Marwa Chehimi, Maud Robert, Michel El Bechwaty, Guillaume Vial, Jennifer Rieusset, Hubert Vidal, Luciano Pirola and Assia Eljaafari**

* These authors contributed equally to the work

Résumé:

Dans le papier précédent, nous avons montré que les CSA issues de sujets obèses sont capables de promouvoir l'inflammation du tissu adipeux en polarisant les lymphocytes T vers la voie Th17 et en activant les monocytes inflammatoires. Cependant, le rôle des adipocytes issus du sujet obèse dans l'induction des Th17 n'a pas été étudié. C'est pourquoi, dans cet article, nous avons voulu savoir si ces mêmes cellules souches, après différenciation en adipocytes, préservent leur capacité à promouvoir l'inflammation, et si le stade de différenciation impacte l'activation des Th17.

Pour répondre à cette question, nous avons dans un premier temps, différencié les CSA issues du TAsc de sujets obèses ou minces, en adipocytes jeunes (pendant 8 jours) ou en adipocytes matures (pendant 14 jours). Les adipocytes différenciés ont été ensuite co-cultivés avec des CMN issues de donneurs sains et activées par la PHA, pendant 48h. L'analyse des cytokines produites par la co-culture a été faite par ELISA.

1. Les adipocytes jeunes ou matures induisent la sécrétion d'IL-17A, à un niveau comparable à leurs progéniteurs. L'analyse de l'expression des gènes de l'adipogenèse (PPAR γ), et des gènes d'adipocytes matures (FABP4, Adiponectine) ainsi que la coloration des gouttelettes lipidiques (Oil Red'O) nous a permis de valider la différenciation des CSA en adipocytes. Nous avons montré, que les adipocytes jeunes ou matures induisent les CMN activées par la PHA, à sécréter l'IL-17A, à des niveaux comparables aux ASC obèses non différenciées. De plus, nous n'avons pas trouvé de différence statistiquement significative dans la capacité des adipocytes jeunes ou matures à promouvoir l'inflammation. En revanche, et de façon similaire aux ASC, les adipocytes inhibent la population de Th1 en inhibant la sécrétion de TNF α .

De même que pour l'IL-17A, l'IL-1 β et l'IL-6 sont induites par les adipocytes quel que soit le stade de différenciation, et de façon identique aux CSA issues de sujets obèses non différenciées.

2. Les adipocytes issus de CSA minces induisent aussi la sécrétion d'IL-17A *in vitro*. Comme contrôle, de la spécificité des adipocytes obèses dans la promotion de l'inflammation, nous avons co-cultivé des adipocytes issus de CSA minces ou obèses avec des CMN activés par la PHA, et nous avons constaté que les adipocytes différenciés *in vitro* induisent la sécrétion d'IL-17A, quelle que soit leur origine (mince ou obèse). Nous avons donc émis deux hypothèses pour tenter

d'expliquer ces résultats : i) les adipocytes quelle que soit leurs origine sont pro-inflammatoires ; ii) les conditions *in vitro* de différenciation modifient le comportement des adipocytes différenciés.

3. Seuls les adipocytes issus du TA obèse sont capables d'activer les Th17. Pour vérifier si, physiologiquement, les adipocytes sont capables d'activer la sécrétion d'IL-17A, nous avons extrait des adipocytes du TAsc de souris minces ou obèses, et nous les avons co-cultivés avec des CMN activées par la PHA. Nous avons montré que seul les adipocytes issus de souris obèses sont capables d'induire la sécrétion d'IL-17A et donc de promouvoir l'inflammation.

Pour conclure, ce travail a permis de montrer que les adipocytes sont capables d'activer les Th17 parmi les CMN infiltrant le tissu adipeux obèse.

Adipocytes, like their progenitors, contribute to inflammation of adipose tissues through promotion of Th-17 cells and activation of monocytes, in obese subjects

Marwa Chehimi^a, Maud Robert^b, Michel El Bechwaty^b, Guillaume Vial^a, Jennifer Rieusset^a, Hubert Vidal^a, Luciano Pirola^{a,†}, and Assia Eljaafari^{a,c,†}

^aCarMeN Laboratory, INSERM U1060, Lyon-1 University, INRA U1397, INSA-Lyon, Lyon, France; ^bClinical Research Department, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France; ^cClinical Research Department, Hospices Civils de Lyon, Center Hospitalier Lyon Sud, France

ABSTRACT

Recently, we have reported that adipose tissue-derived stem cells (ASC) harvested from obese donors induce a pro-inflammatory environment when co-cultured with peripheral blood mononuclear cells (MNC), with a polarization of T cells toward the Th17 cell lineage, increased secretion of IL-1 β and IL-6 pro-inflammatory cytokines, and down-regulation of Th1 cytokines, such as IFN γ and TNF α . However, whether differentiated adipocytes, like the aforementioned ASC, are pro-inflammatory in obese subject AT remained to be investigated. Herein, we isolated ASC from AT of obese donors and differentiated them into adipocytes, for either 8 or 14 d. We analyzed their capacity to activate blood MNC after stimulation with phytohemagglutinin A (PHA), or not, in co-culture assays. Our results showed that co-cultures of MNC with adipocytes, like with ASC, increased IL-17A, IL-1 β , and IL-6 pro-inflammatory cytokine secretion. Moreover, like ASC, adipocytes down-regulated TNF α secretion by Th1 cells. As adipocytes differentiated from ASC of lean donors also promoted IL-17A secretion by MNC, an experimental model of high-fat versus chow diet mice was used and supported that adipocytes from obese, but not lean AT, are able to mediate IL-17A secretion by PHA-activated MNCs. In conclusion, our results suggest that, as ASC, adipocytes in obese AT might contribute to the establishment of a low-grade chronic inflammation state.

ARTICLE HISTORY

Received 2 July 2015
Revised 8 December 2015
Accepted 15 December 2015

KEYWORDS

adipose-tissue derived stem cells; ASC; blood mononuclear cells; IL-17A; subcutaneous adipose tissue; Th17

Introduction

Increased incidence of obesity and its subsequent complications are a worldwide public health problem. During the development of obesity, visceral and subcutaneous adipose tissue (AT) depots are subjected to extensive tissue remodeling and hypertrophy,¹ with expansion of the abdominal AT compartments being a strong predictor of the development of insulin resistance.² AT inflammation is considered as the causal event leading to insulin resistance, type 2 diabetes and its associated cardiovascular and metabolic complications.³ In the obese condition, hypertrophied AT becomes heavily infiltrated by a variety of immune cells.⁴ Macrophage infiltration within AT mainly occurs at an advanced stage of obesity, and is a major driver of inflammation.^{5,6} In contrast, T cells appear to play a role in the regulation of obesity-induced inflammation,⁷ since lean AT is infiltrated by anti-inflammatory CD4⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells (T_{regs}) and Th2 cells, which both secrete IL-10,

a cytokine known to improve adipocyte insulin sensitivity.⁸ In contrast, CD8⁺ T cell accumulation in AT from obese subjects has been shown to precede macrophage infiltration, and to contribute to macrophage recruitment and AT inflammation.⁹ Besides their function as fat repositories, adipocytes can also be considered as endocrine cells that secrete numerous adipokines involved in the regulation of metabolic homeostasis, with IL-6 and leptin being pro-inflammatory while adiponectin is anti-inflammatory.¹⁰ Therefore, a crosstalk between adipocytes and the immune cell populations infiltrating AT may govern homeostasis under physiological conditions, but contribute to the establishment of a chronic sub-clinical inflammation, a prerequisite for insulin resistance, during obesity.

A recently discovered T-cell lineage playing a central role in obese AT inflammation corresponds to the T-helper 17 (Th17) cell subset,¹¹ which mainly secretes IL-17A and IL-17F pro-inflammatory cytokines.¹² IL-17A/F

CONTACT Assia Eljaafari  assia.eljaafari@univ-lyon1.fr  Unité Inserm 1060-Carmen, Faculté de Médecine Lyon Sud 165 ch. du Grand Revoyet; 69310 Pierre Bénite France

Color versions of one or more of the figures in this article can be found online at www.tandfonline.com/kadi.

[†] These authors contributed equally to this work.

© 2016 Marwa Chehimi, Maud Robert, Michel El Bechwaty, Guillaume Vial, Jennifer Rieusset, Hubert Vidal, Luciano Pirola, and Assia Eljaafari. Published with license by Taylor & Francis. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. The moral rights of the named author(s) have been asserted.

play a crucial role against extracellular bacterial or fungi infections but are also able to induce secretion of other pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β , IL-6, chemokines (e.g. CXCL8) by a variety of immune and non-immune cells, including monocytes, stromal cells, adipocytes and stem cells, which all express IL-17A/F receptors.¹³ While Th17 cells and IL-17A/F have been implicated in the pathogenesis of various autoimmune diseases, such as psoriasis, multiple sclerosis and/or rheumatoid arthritis¹⁴; their role in obesity and type 2 diabetes is still being elucidated. IL-17A concentrations in obese subjects were demonstrated to be increased not only in plasma,¹⁵ but also within the AT of obese subjects, and more particularly among mucosal-associated invariant T cells.¹⁶⁻¹⁸ IL-17A has also been suggested to favor the development of insulin resistance, through downregulation of multiple pro-adipogenic transcription factor expression, such as PPAR γ , C/EBP α , and/or dysregulation of several members of the Krüppel-like family transcription factors, leading to inhibition of adipogenesis.¹⁹ In spite of these advances, the mechanisms by which Th17 cells are increased in AT of obese subjects remain unknown. Recently, we have reported that adipose stem cells (ASC) from obese, but not lean donors, contribute to Th-17 promotion through contact-dependent interactions and soluble factor secretion.²⁰ ASC-mediated IL-17A secretion was associated with increased secretion of IL-1 β by monocytes and IL-6 by ASC, but decreased TNF α and IFN γ secretion by Th1 cells. Interestingly, increased IL-17A secretion was also found in the stromal vascular fractions (SVF) of obese, but not lean subjects. However, the implication of adipocytes into Th17 cell subset activation was not addressed in our previous study. With this aim, we investigated herein whether, once differentiated into adipocytes, ASC would maintain their pro-inflammatory properties. To answer this question, we harvested ASC from subcutaneous AT depots of obese subjects and differentiated them for 2 independent time points: 8 d to obtain differentiating adipocytes, and 14 d to obtain more mature adipocytes. Differentiated adipocytes were co-cultured with blood MNC, and induction of a pro-inflammatory environment was determined through quantification of multiple secreted cytokines, including IL-17A, IL-1 β , IL-6 and TNF α . Our results showed that both day 8 and day 14 ASC-derived adipocytes were able to induce IL-17 A secretion by PHA-activated MNC, which was confirmed in a physiological model, where IL-17A secretion was induced by adipocytes harvested from obese, but not lean mice. Our results suggested thus that like ASC, adipocytes might contribute to the establishment of a low-grade chronic inflammation state in AT of obese subjects.

Results

Both ASC and ASC-derived adipocytes from obese subject AT polarize T cells toward the Th 17 cell subset while inhibiting Th1 cells

To analyze the role of differentiated adipocytes in the activation of infiltrating blood mononuclear cells (MNC), we first differentiated ASC isolated from subcutaneous adipose depots of obese and lean subjects into adipocytes for 8 d. Differentiation was morphologically assessed by Oil Red O staining of lipid droplets, which were clearly visible in adipocytes (Fig. 1B and D), but absent in undifferentiated ASC (Fig. 1A and C). The occurrence of adipocyte differentiation was also monitored by evaluation of gene expression of the adipogenic genes FABP4 and AdipoQ/adiponectin, which were both highly upregulated, as soon as day 8 of differentiation (Fig. 1E).

Next, to investigate whether differentiated adipocytes were able to promote inflammation, we co-cultured them with MNC activated in the presence or absence of PHA for 48 hours, and measured cytokine secretion by ELISA. As shown in Figure 2A, IL-17A secretion by PHA-activated MNC was upregulated at comparable levels, and without any statistically significant differences, in the presence of undifferentiated ASCs, or adipocytes differentiated for either 8- or 14-days. In contrast, PHA-mediated TNF α secretion, a marker of Th1 cell activation, was significantly inhibited in the presence of either adipocytes, or ASC (Fig. 2B). Thus, our results demonstrate that adipocytes, like ASC, may contribute to the regulation of T cell activation, through polarization toward the Th17 cell lineage but inhibition of the Th1 cell population.

Both ASC and ASC-derived adipocytes from obese donors amplify IL-1 β and IL-6 secretion

A substantial fraction of MNC is constituted by monocytes. As shown in Figure 3A, monocytes were also activated by co-culture with ASC or adipocytes derived thereof, as assessed by the higher levels of IL-1 β that were observed when either ASC, or adipocytes differentiated for 8- or 14-days were added to PHA-activated MNC cultures. Here again, IL-1 β secretion levels were comparable to those induced by ASC. Interestingly, the levels of IL-1 β secretion increased in the absence of PHA, but at a lesser extent than with PHA, probably as a result of innate immunity. Finally, IL-6 secretion was also up-regulated in these co-culture assays containing differentiated adipocytes (Fig. 3B). Taken together, our data suggest that interaction of MNC with ASC, and/or adipocytes derived thereof may contribute to the

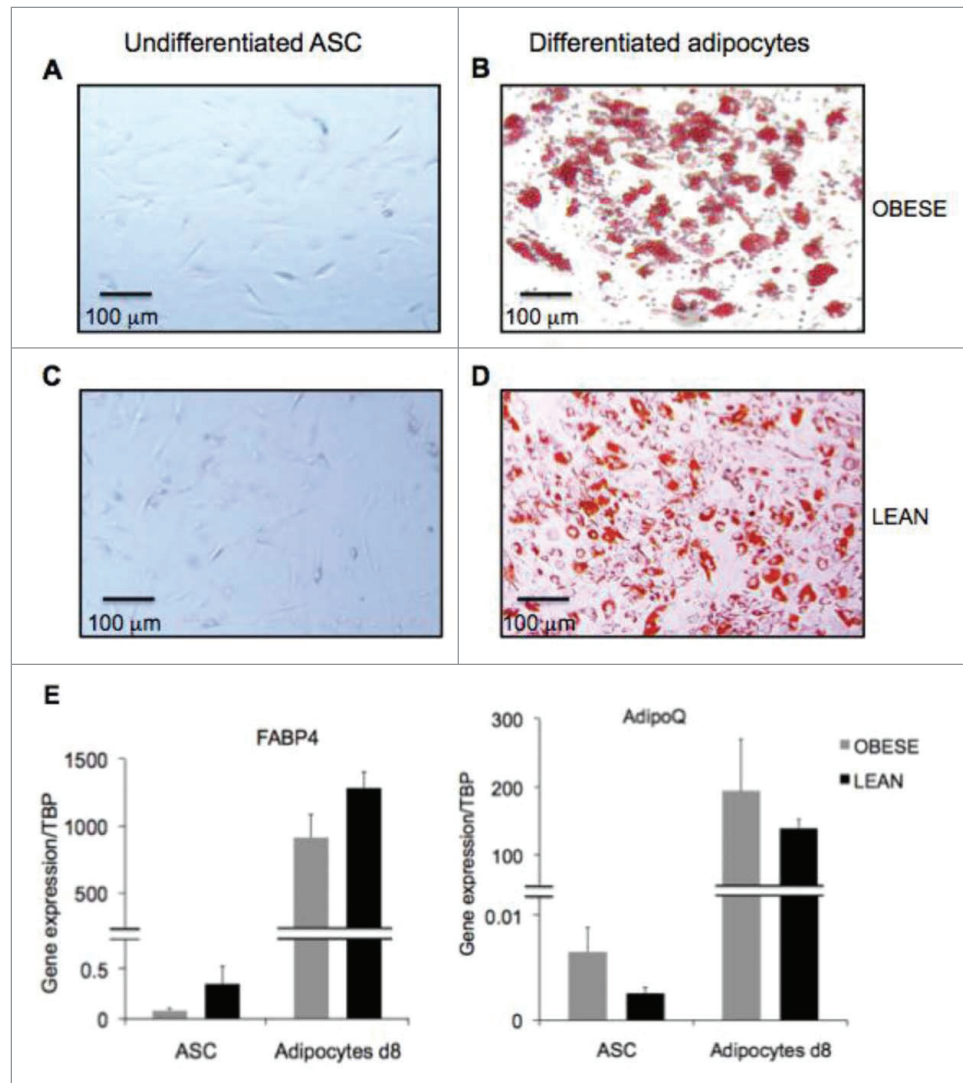


Figure 1. Generation of differentiated adipocytes from ASC derived from subcutaneous AT of obese donors. Oil Red O staining of undifferentiated ASC (A,C) and differentiated adipocytes (B,D) respectively at day 8 and 14 of differentiation. Scale bars represent 100 μm . (E) Gene expression quantification of adipogenic genes FABP4 (left graph) and AdipoQ (right graph) in ASC and ASC-derived adipocytes at 8d of differentiation derived from obese (gray bars) and lean (black bars) donors. Error bars represent standard deviations from $n \geq 3$ independent experiments.

inflammatory environment which is observed in AT from obese subjects.

ASC-derived adipocytes from lean AT can also mediate IL-17A secretion by PHA-activated MNC

As control, adipocytes were differentiated for 8 d from ASC of lean donors. Then, lean MNC were activated with PHA or not, in the presence of adipocytes of different origins. The differentiation capacities of obese vs. lean adipocytes were comparable as assessed morphologically and by quantification of adipocyte-specific genes FABP4 and AdipoQ (Fig. 1). Moreover, induction of IL-

17A secretion by MNC was comparable as well (Fig. 4). These results suggested either i) that adipocytes were pro-inflammatory, whatever their origin, or ii) that *in vitro* differentiation could have modified the behavior of ASC-derived adipocytes.

Adipocytes harvested from adipose tissue of obese, but not lean animals, are able to mediate IL-17A secretion, in a murine model

To analyze whether adipocytes may activate IL-17A secretion physiologically, we used an animal model in which mice were rendered obese or not, with high fat or chow diets, respectively. We then cultured the adipocyte

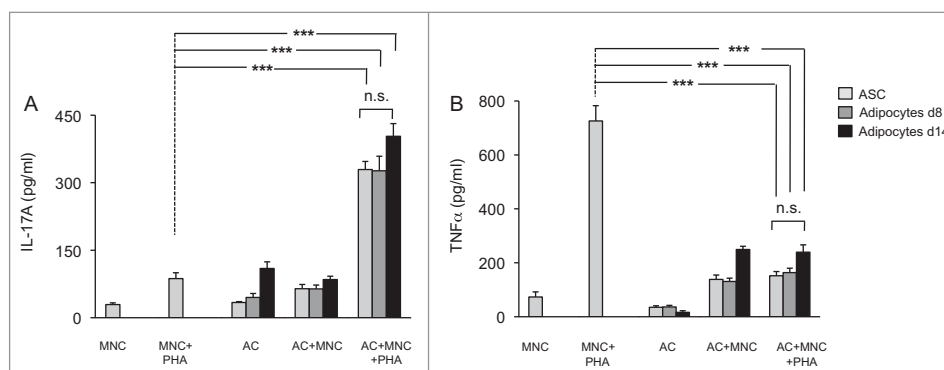


Figure 2. Both undifferentiated ASC and ASC-derived adipocytes (adipose cells, AC) polarize T cells toward the Th17 lineage and down-regulate Th1 cytokines. ASC differentiation was carried out for 8 d or 14 d as indicated. Cell culture supernatants of MNC co-cultured or not with undifferentiated ASC (light gray bars), differentiated adipocytes at day 8 (gray bars) or at day 14 (black bars), and activated by PHA or not, were analyzed by ELISA for the secretion of IL-17A (A) and TNF α (B). Co-cultures were in a 1:5 ratio (20,000 ASC/adipocytes for 100,000 MNC). Error bars represent standard deviations from $n \geq 3$ independent experiments. *** $p < 0.001$ as tested by one-way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparison test. n.s. not statistically significant for each combinatorial comparisons within the 3 bars.

fraction of adipose tissues harvested either from obese versus lean mice with spleen mononuclear cells from lean mice and activated them with PHA or not. Results showed that adipocytes from obese, but not lean mice were able to promote IL-17A secretion by MNC after 48 hour co-culture (Fig. 5). Therefore, these results suggest that obese but not lean adipocytes may contribute to AT inflammation.

Discussion

White adipose tissue is a site of chronic inflammation in obesity, due to secretion of inflammatory cytokines and adipokines by infiltrating immune cells and adipocytes.²¹ The major consequence of obesity-associated chronic inflammation is the development of insulin resistance,

and type 2-diabetes, together with impairment of AT homeostasis.⁶ AT is mainly composed of adipocytes, which stock fatty acids and release energy. In addition, the dynamic extracellular matrix of the adipose tissue plays an important role in the regulation of AT expansion and vascularisation, with adipose tissue from obese subjects displaying fewer capillaries and more large vessels, as compared to lean subjects.²² Inside the AT, the stromal vascular fraction (SVF) - an heterogeneous cell population mainly composed of ASC and immune cells²³ - is also a key actor during the transition from lean to obese AT, as obesity substantially modifies SVF composition and function. In a previous study, we have shown that SVF derived from obese, but not lean donors, were able to promote Th17 cells following activation with a mitogen, such as PHA. In addition, we have

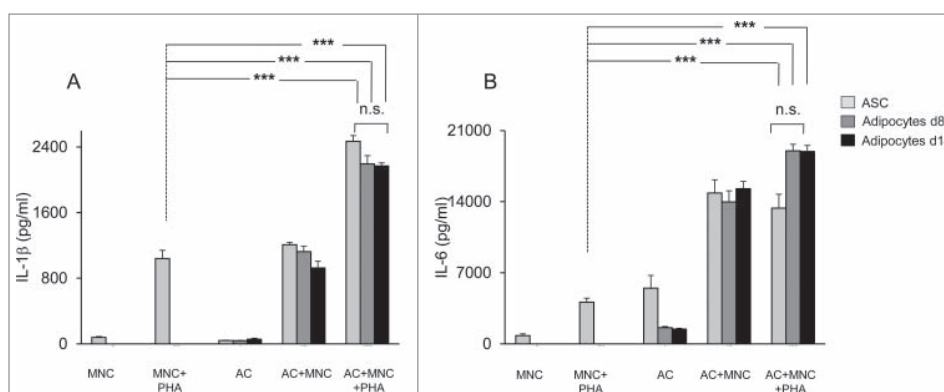


Figure 3. Both undifferentiated ASC and ASC-derived adipocytes (adipose cells, AC) enhance IL-1 β secretion by monocytes and IL-6 secretion by ASC or adipocytes. Cell culture supernatants of MNC co-cultured or not with undifferentiated ASC (light gray bars), differentiated adipocytes at day 8, and activated by PHA or not, were analyzed by ELISA for the secretion of IL-1 β (A) and IL-6 (B). Error bars represent standard deviations from $n \geq 3$ independent experiments. *** $p < 0.01$ as tested by one-way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparison test. n.s. not statistically significant for each combinatorial comparison within the 3 bars.

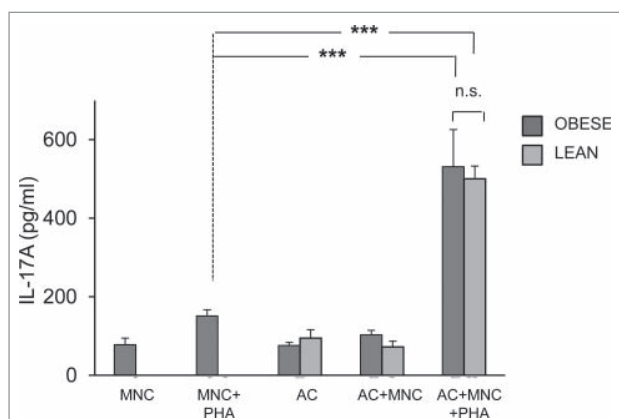


Figure 4. ASC-derived adipocytes from lean donors induce IL-17A secretion in MNC-adipocytes co-cultures. ASC from obese (dark gray bars) or lean (light gray bars) donors were differentiated for 8 d. Cell culture supernatants of MNC co-cultured or not with differentiated adipocytes were activated by PHA or not, and analyzed by ELISA for the secretion of IL-17A. Co-cultures were in a 1:5 ratio (20,000 ASC/adipocytes for 100,000 MNC). Error bars represent standard deviations from $n \geq 3$ independent experiments. *** $p < 0.001$; as tested by one-way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparison test. n.s. not statistically significant.

demonstrated the critical role of ASC in inducing polarization of T cells toward Th17 pro-inflammatory cells, and activation of IL-1 β secretion by monocytes.²⁰ This was associated with up-regulation of IL-6 secretion by ASC, which might be mediated, at least in part by IL-17A. Indeed, ASC are known to express receptors for IL-17A/F¹³, which themselves have been shown to activate IL-1 β , IL-6, and IL-8 secretion by mesenchymal stem cells, following ligation with IL-17A/F²⁴. Because IL-6 in turn is known to participate to IL-17A signaling pathway through Stat3 phosphorylation,²⁵ our previous study strongly suggests that ASC may mediate a vicious circle of pro-inflammatory cytokine secretion contributing to the chronic low grade inflammation known to occur in AT of obese subjects.

However, one could argue that the paucity of ASC in AT- even though ASC are known to proliferate during obesity²⁶ cannot account for such a degree and/or persistence of inflammation. Therefore, to answer this question, we investigated in the present study whether ASC would maintain their pro-inflammatory status, once differentiated into adipocytes. With this aim, ASC, or adipocytes harvested at two different steps of differentiation (8 and 14 days), were co-cultured with PHA-activated MNC for 48 hours. The patterns of cytokine secretion induced by adipocytes were quite similar to that of their progenitors, with increased secretion of IL-17A, IL-1 β , and IL-6 (Figs. 2 and 3). Interestingly, like ASC, adipocytes were also able to negatively regulate Th1 cells, as

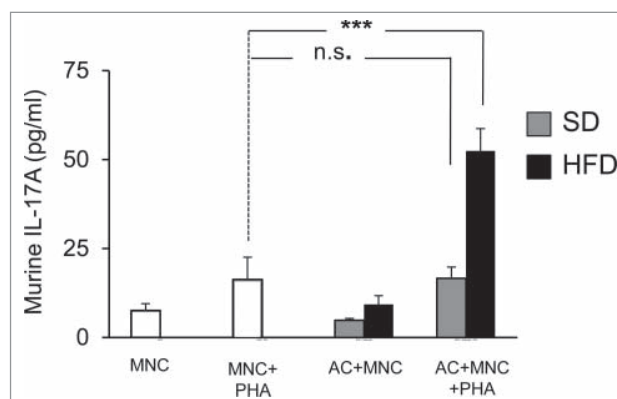


Figure 5. Murine adipocytes from obese, but not lean mice, induce IL-17A secretion in MNC-adipocytes co-cultures. Adipocytes from subcutaneous adipose tissue of mice fed a standard diet (SD, gray bars) or a high-fat diet (HFD, black bars) were co-cultured with spleen-derived MNC and stimulated or not with PHA. Cell culture supernatants were analyzed by ELISA for the secretion of murine IL-17A. Error bars represent standard deviations from $n \geq 5$ independent experiments. *** $p < 0.001$; as tested by one-way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparison test. n.s. not statistically significant.

assessed by decreased secretion of TNF α (Fig. 2B). This is reminiscent with a previous study, in which we have demonstrated that, like their progenitors, i.e. mesenchymal stem cells, fibroblast-like synoviocytes promote Th17 cells, but inhibit Th1 cells.²⁴ Thus, our results suggested that both ASC and adipocytes derived-off may initiate inflammation in AT of obese subjects. To validate these results, ASC from lean AT were differentiated into adipocytes for 8 days, but unexpectedly demonstrated pro-inflammatory properties as well (Fig. 4). Thus, this either could signify that adipocytes are pro-inflammatory whatever subject weight, or that in vitro differentiation of ASC was able to modify adipocyte behavior and activate them toward a pro-inflammatory state. Therefore, to approximate physiological conditions, we used an experimental model in which mice were rendered obese or not, with high fat or chow diets, respectively. We then cultured the adipocyte fraction of adipose tissues harvested either from obese or lean mice with spleen mononuclear cells from lean mice. This led us to demonstrate that adipocytes from obese, but not lean mice, were able to promote IL-17A secretion by MNC after 48 hour activation. Therefore, these results strongly suggested that obese but not lean adipocytes might exert pro-inflammatory functions. The relative contribution of ASC or adipocytes in inducing MNC activation remains now to be determined, with adipocytes possibly playing a quantitatively more important as compared to ASC, due to their numerical preponderance. However, at the qualitative

level, ASC might play a key role due to their ability to proliferate and differentiate into adipocytes in obese AT. Accordingly, a recent study has demonstrated that delivery of ASC from lean mice, into white AT of obese mice, attenuated WAT inflammation, and insulin sensitivity.²⁷ Taken together, our present data demonstrate that interaction of MNC with ASC, and/or adipocytes may contribute to the inflammatory environment, which is observed in obese AT. Because we have demonstrated that cell to cell contact between ASC and mononuclear cells is critical for inducing inflammation,²⁰ the identification of the cell-surface molecules involved in these interactions should allow the design of novel targets in the treatment of obesity, and/or insulin resistance. Whether ASC and adipocytes interact with infiltrating immune cells through the same cell-surface molecules require further investigation.

Materials and methods

Isolation and expansion of adipose stem cells (ASC)

Subcutaneous AT was isolated from residues of bariatric surgery, with the approval of the Person Protection Committee of the “Hospices Civils de Lyon,” or from patients undergoing surgery, with their informed consent. AT (50–100 mg) was fragmented and incubated in 2g/L of collagenase type Ia solution (Sigma Aldrich, C2674) dissolved in DMEM:F12 medium (50/50 vol/vol) (Invitrogen) for 40 min at 37°C by mixing. Collagenase action was quenched by addition of 10 ml DMEM:F-12 medium, 1:1 vol/vol supplemented with 10% heat inactivated fetal calf serum (FCS). The released stromal vascular fraction (SVF) was recovered by centrifugation (800 g for 7 min at 25°C), residual red blood cells were lysed by hypotonic shock and the ASC component of the SVF was selectively expanded in culture medium composed of DMEM:F-12 supplemented with 10% FCS, 4 ng/mL Fibroblast Growth Factor basic (e-Biosciences, 14-8986-80), 2 mmol/L L-glutamine and 100 U/mL penicillin-streptomycin. Half of the culture medium was changed every 2 or 3 d. ASC were amplified by several passages in culture (4 to 5) and directly used for experiments or stored in liquid nitrogen.

Isolation of blood mononuclear cells (MNC)

Blood samples were obtained through the blood bank center of Lyon (France), following institutionally approved guidelines. MNC were extracted from healthy human peripheral blood by density gradient centrifugation (Ficoll-Paque, Miltenyl Biotec). MNC were stored in liquid nitrogen prior to use.

Differentiation of obese subcutaneous ASC into adipocytes

ASC from subcutaneous AT of obese donors were seeded at a density of 1×10^5 cells per well in a 12-well plate (3.8 cm²/well) containing basal culture medium (DMEM:F-12 medium, 1:1 vol/vol supplemented with 10% FCS) for 2 d. Cells were stimulated to differentiate using an adipogenic culture medium composed of basal culture medium supplemented with 1.8 μ M insulin, 0.5 mM isobutylmethylxanthine (IBMX), 500 nM dexamethasone, 1 μ M rosiglitazone, 2 nM triiodothyronine and 10 μ g/ml transferrin (all from Sigma-Aldrich). During differentiation, the culture medium was replaced every 2 to 3 d. Differentiated adipocytes were obtained after 8–14 d. Differentiation was validated by light microscopy, Oil Red O visualization of lipid droplets.

Gene expression measurements

Total RNA were extracted from adipocytes at day 8 of differentiation and control ASC cultivated 8 d in basal culture medium using Tri Isolation ReagentTM (Roche, Meylan, France). RNAs were stored at –80°C until analysis. cDNA was synthesized from 250 ng of total RNA using the PrimescriptTM RT reverse transcription kit (Takara, Dalian, Japan) according to the manufacturer’s instructions. Quantitative PCR was performed in duplicate on a Rotor-gene Real-time PCR System, using the AbsoluteTM QPCR SYBR Green Mix (ABgene, Illkirch, France). Quantitative data were defined by threshold cycle (Ct) normalized for the housekeeping gene TATA Box Binding Protein (TBP). FABP4 and Adiponectin (AdipoQ) were used as adipogenic markers.

Oil Red O staining

Oil Red O staining, an indicator of intracellular lipid accumulation, was used to assess adipocyte differentiation. At day 8, adipogenic culture medium was removed; cells were washed twice with phosphate buffered saline (PBS) and fixed using 10% formaldehyde (in PBS) for 1 hour at room temperature. The fixative was removed and replaced with 60 % isopropanol to totally dry cells. ASC or adipocytes were stained for 10 minutes at room temperature with a 0.2 % Oil Red O solution (Oil Red O powder, Sigma O-0625). Cells were then washed 3 to 4 times with PBS to remove excess stain. Photos were taken using ZEN Microscope version 2012 (Carl Zeiss Microscopy GmbH).

Co-culture assays

Adipocytes (differentiated for 8 or 14 days) or undifferentiated ASC were harvested and seeded in 96-well plates (20,000 cells/well) for 18–24 h in 200 μ l of basal culture medium (DMEM:F-12 medium, 1:1 vol/vol supplemented with 10% FCS). 100,000 MNC were co-seeded for 48h in the presence or absence of phytohemagglutinin (PHA, 5 μ g/ml, Sigma-Aldrich). Ratios 1:5 were used for ASC:MNC co-cultures. Cells were incubated in 200 μ L of RPMI supplemented with 10 % FCS. Supernatant was harvested and frozen.

Adipose-tissue derived adipocytes and co-cultures

Four weeks old male C57BL/6JOLA^{Hsd} mice were purchased from Harlan. Mice were housed at 22°C with a 12-h light/dark cycle. Experimental procedures were conducted in accordance with the institutional guidelines for the care of laboratory animals and were approved by the local ethic committee. After 1 week of acclimatization, 5–6 week old C57BL/6JOLA^{Hsd} mice were divided into 2 groups: one group with free access to a standard chow diet (SD; A04, Safe, France), the other with free access to the standard diet supplemented with 20% of palm oil (w/w) (HFD, Safe, France) for 16 weeks. Adipocytes were harvested from the same weight of subcutaneous pads. After digestion with collagenase, adipocytes were separated by centrifugation (to exclude the stromal vascular fraction), and co-cultured with MNC from spleen of lean mice in a final volume of 2 ml of RPMI supplemented with 10% FCS, with or without PHA.

Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA)

Human IL-17A (#88-7176-88), IL-1 β (#88-7261-88), IL-6 (#88-7066-88) and TNF α (#88-7346-88) and murine IL-17A (#88-7371-22) secretion were evaluated by ELISA using the corresponding antibodies (all from e-Biosciences).

Statistical analysis

Comparisons between multiple groups were performed by ANOVA followed by a post-hoc Bonferroni's multiple Comparison test. Differences were considered statistically significant when $p < 0.05$.

Abbreviations

ASC	adipose-tissue derived mesenchymal stem cells
AT	adipose tissue
AC	adipose cells

SVF	stromal vascular fraction
IL-17A	interleukin-17A
MNC	mononuclear cells

Disclosure of potential conflicts of interest

No potential conflicts of interest were disclosed.

Acknowledgment

We thank Dr. A. Mey for providing part of the ASC used in this study.

Funding

This work was supported by the INSERM institute, Hospices Civils de Lyon and research grants from "Fondation de l'Avenir" and "Fondation Chèque Déjeuner" to Assia. Eljaafari. MC was supported by a PhD scholarship from the Rhone-Alpes region.

References

- [1] Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006; 444:860-7; PMID:17167474; <http://dx.doi.org/10.1038/nature05485>
- [2] Despres JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature* 2006; 444:881-7; PMID:17167477; <http://dx.doi.org/10.1038/nature05488>
- [3] Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol* 2011; 11:98-107; PMID:21233852; <http://dx.doi.org/10.1038/nri2925>
- [4] Osborn O, Olefsky JM. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat Med* 2012; 18:363-74; PMID:22395709; <http://dx.doi.org/10.1038/nm.2627>
- [5] Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW, Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112:1796-808; PMID:14679176; <http://dx.doi.org/10.1172/JCI200319246>
- [6] Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 2003; 112:1821-30; PMID:14679177; <http://dx.doi.org/10.1172/JCI200319451>
- [7] Lumeng CN, Maillard I, Saltiel AR. T-ing up inflammation in fat. *Nat Med* 2009; 15:846-7; PMID:19661987; <http://dx.doi.org/10.1038/nm0809-846>
- [8] Feuerer M, Herrero L, Cipolletta D, Naaz A, Wong J, Nayer A, Lee J, Goldfine AB, Benoist C, Shoelson S, et al. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nat Med* 2009; 15:930-9; PMID:19633656; <http://dx.doi.org/10.1038/nm.2002>
- [9] Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M, Otsu M, Hara K, Ueki K, Sugiura S, et al. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat*

- Med 2009; 15:914-20; PMID:19633658; <http://dx.doi.org/10.1038/nm.1964>
- [10] Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh K. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol* 2003; 14:561-6; PMID:14624132; <http://dx.doi.org/10.1097/00041433-200312000-00003>
- [11] Fouser LA, Wright JF, Dunussi-Joannopoulos K, Collins M. Th17 cytokines and their emerging roles in inflammation and autoimmunity. *Immunol Rev* 2008; 226:87-102; PMID:19161418; <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00712.x>
- [12] Ahmed M, Gaffen SL. IL-17 in obesity and adipogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21:449-53; PMID:21084215; <http://dx.doi.org/10.1016/j.cytogfr.2010.10.005>
- [13] Gaffen SL. Recent advances in the IL-17 cytokine family. *Curr Opin Immunol* 2011; 23:613-9; PMID:21852080; <http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2011.07.006>
- [14] Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity* 2008; 28:454-67; PMID:18400188; <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2008.03.004>
- [15] Sumarac-Dumanovic M, Stevanovic D, Ljubic A, Jorga J, Simic M, Stamenkovic-Pejkovic D, Starcevic V, Trajkovic V, Micic D. Increased activity of interleukin-23/interleukin-17 proinflammatory axis in obese women. *Int J Obes (Lond)* 2009; 33:151-6; PMID:18982006; <http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2008.216>
- [16] Magalhaes I, Pingris K, Poitou C, Bessoles S, Venticlef N, Kiaf B, Beaudoin L, Da Silva J, Allatif O, Rossjohn J, et al. Mucosal-associated invariant T cell alterations in obese and type 2 diabetic patients. *J Clin Invest* 2015; 125:1752-62; PMID:25751065; <http://dx.doi.org/10.1172/JCI78941>
- [17] Dalmas E, Venticlef N, Caer C, Poitou C, Cremer I, Aron-Wisniewsky J, Lacroix-Desmazes S, Bayry J, Kaveri SV, Clément K, et al. T cell-derived IL-22 Alifies IL-1beta-driven inflammation in human adipose tissue: relevance to obesity and type 2 diabetes. *Diabetes* 2014; 63:1966-77; PMID:24520123; <http://dx.doi.org/10.2337/db13-1511>
- [18] Fabbri E, Cella M, McCartney SA, Fuchs A, Abumrad NA, Pietka TA, Chen Z, Finck BN, Han DH, Magkos F, et al. Association between specific adipose tissue CD4+ T-cell populations and insulin resistance in obese individuals. *Gastroenterology* 2013; 145:366-74 e1-3; PMID:23597726; <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2013.04.010>
- [19] Ahmed M, Gaffen SL. IL-17 inhibits adipogenesis in part via C/EBPalpha, PPARgamma and Kruppel-like factors. *Cytokine* 2013; 61:898-905; PMID:23332504; <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2012.12.007>
- [20] Eljaafari A, Robert M, Chehimi M, Chanon S, Durand C, Vial G, Bendridi N, Madec AM, Disse E, Laville M, et al. Adipose tissue-derived stem cells from obese subjects contribute to inflammation and reduced insulin response in adipocytes through differential regulation of the Th1/Th17 balance and monocyte activation. *Diabetes* 2015; 64:2477-88
- [21] Talukdar S, Oh da Y, Bandyopadhyay G, Li D, Xu J, McNelis J, Lu M, Li P, Yan Q, Zhu Y, et al. Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet through secreted elastase. *Nat Med* 2012; 18:1407-12; PMID:22863787; <http://dx.doi.org/10.1038/nm.2885>
- [22] Spencer M, Unal R, Zhu B, Rasouli N, McGehee RE, Jr., Peterson CA, Kern PA. Adipose tissue extracellular matrix and vascular abnormalities in obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96:E1990-8; PMID:21994960; <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2011-1567>
- [23] De Francesco F, Ricci G, D'Andrea F, Nicoletti GF, Ferraro GA. Human Adipose Stem Cells (hASCs): from bench to bed-side. *Tissue Eng Part B Review*; 2015; 21(6):572-84; *in press*
- [24] Eljaafari A, Tartelin ML, Aissaoui H, Chevrel G, Osta B, Lavocat F, Miossec P. Bone marrow-derived and synovium-derived mesenchymal cells promote Th17 cell expansion and activation through caspase 1 activation: contribution to the chronicity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2012; 64:2147-57; PMID:22275154; <http://dx.doi.org/10.1002/art.34391>
- [25] Wei L, Laurence A, Elias KM, O'Shea JJ. IL-21 is produced by Th17 cells and drives IL-17 production in a STAT3-dependent manner. *J Biol Chem* 2007; 282:34605-10; PMID:17884812; <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M705100200>
- [26] Ahrends R, Ota A, Kovary KM, Kudo T, Park BO, Teruel MN. Controlling low rates of cell differentiation through noise and ultrahigh feedback. *Science* 2014; 344:1384-9; PMID:24948735; <http://dx.doi.org/10.1126/science.1252079>
- [27] Shang Q, Bai Y, Wang G, Song Q, Guo C, Zhang L, Wang Q. Delivery of Adipose-derived Stem Cells Attenuates Adipose Tissue Inflammation and Insulin Resistance in Obese Mice through Remodeling Macrophage Phenotypes. *Stem Cells Dev* 2015; 24: 2052-64; PMID:25923535; <http://dx.doi.org/10.1089/scd.2014.0557>

Article 3 en préparation

L'activation des Th17 par les cellules souches adipocytaires de sujets obèses est prévenue par l'acide alpha-linolénique, via un mécanisme dépendant de STAT3 et ICAM-1

“Alpha linolenic acid prevents adipose stem cells-mediated Th17 cell polarization through a STAT3 and ICAM-1 dependant mechanism. “

Marwa Chehimi, Robert Ward, Marion Michaud, Sandra Pesenti, Nadia Bendridi, Hubert Vidal, Assia Eljaafari

Méthodes expérimentales

Les co-cultures (ratio CSA :CMN de 1 :5) ont été initiées par l'ensemencement de CSA issues de sujets obèses dans une plaque 96 puits. Les CMN issues de sujet sain ont été ajoutés 18 à 24h plus tard et pendant 48h, en présence ou pas de PHA (agent mitogène activateur), d'ALA (1, 50, 100 μ M), d'EPA ou DHA (125 μ M) ou d'un peptide inhibiteur de TLR4 (VIPER, 50 μ M). L'ensemble des acides gras rajoutés à la co-culture sont dilués dans un milieu RPMI/ 2% BSA dépourvu d'acides gras. La co-culture est réalisée dans un milieu RPMI/2% BSA dépourvu d'acides gras / 1% acides aminés/ 1% antibiotiques /1% bicarbonates. Le milieu conditionné a été récolté et analysé par ELISA ; l'IL-17A, l'IL-1 β et l'IL-6 ont été dosés. L'analyse de l'expression des gènes inflammatoires ont été réalisés par qRT-PCR, 24h après l'activation des cellules. Enfin, 1h après l'activation cellules de la co-culture, les cellules ont été lysées et un western-blot quantifiant P-STAT3 et STAT3 a été réalisé.

Résultats

1. Le traitement des co-cultures avec l'ALA inhibe significativement la sécrétion d'IL-17A à 100 μ M.

Le premier objectif de ce travail a consisté à déterminer, *in vitro*, l'effet d'un environnement enrichi en ALA sur l'activation des Th17 et la sécrétion de l'IL-17A. C'est pourquoi, les co-cultures ont été traitées avec des doses croissantes d'ALA (1, 50 et 100 μ M). Ainsi démontré dans le premier papier (Eljaafari et al. 2015), l'ajout de CSA issues de sujets obèses à la culture de CMN activées par la PHA, provoque une amplification importante de la sécrétion d'IL-17A, témoin de l'activation des Th17 présents dans les CMN. Le traitement des co-cultures avec l'ALA montre une inhibition dose-dépendante de la sécrétion de l'IL-17A. Seule la dose de 100 μ M permet l'inhibition significative de la sécrétion d'IL-17A par la co-culture ($p < 0.05$).

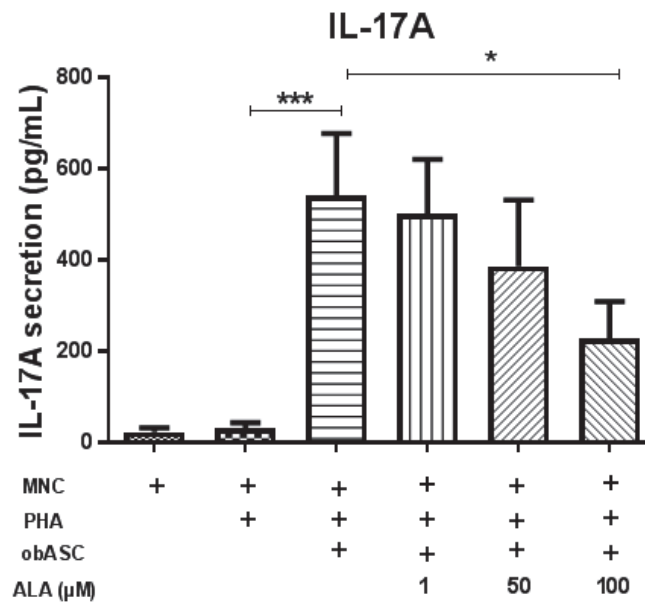


Figure A. ALA inhibe significativement la sécrétion d'IL-17A à une dose de 100 μM. Les CMN (ou MNC) ont été activées (+) ou non par la PHA, co-cultivées ou non avec des CSA issues de tissu adipeux de sujets obèses (obASC). Les co-cultures MNC+obASC+PHA ont été traitées avec différentes concentration d'ALA (1 ; 50 ; 100 μM). 48 heures après, les différents surnageants ont été récoltés et analysés par ELISA pour la sécrétion d'IL-17A. * $p < 0.05$ et *** $p < 0.001$ analyse de variance ANOVA suivie d'un test *post-hoc* «Dunnett's multiple comparison test» par rapport à la condition MNC+PHA+obASC. $n = 5$ expériences réalisées en triplicate indépendants.

Dans l'objectif de vérifier si les dérivés de l'ALA, l'EPA et le DHA, peuvent aussi inhiber l'activation des Th17 par les CSA issues de sujets obèses, les co-cultures ont été traitées avec 100 μM d'ALA, EPA ou DHA pendant 48h. L'EPA et la DHA inhibent la sécrétion d'IL-17A de façon comparable à celle de l'ALA.

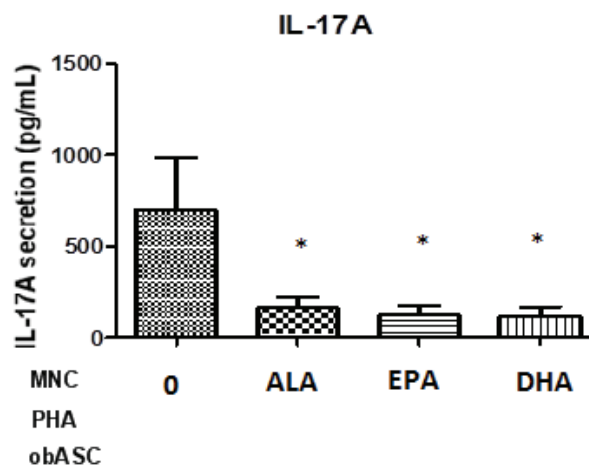


Figure B. EPA et DHA inhibent la sécrétion d'IL-17A autant que l'ALA. Les co-cultures, activées par la PHA, ont été traitées ou non (0) avec 100 μM de d'ALA, 125 μM d'EPA ou de DHA. 48h plus tard, les différents surnageants ont été récoltés et analysés par ELISA pour la

sécrétion d'IL-17A. * $p < 0.05$ analyse de variance ANOVA suivie d'un test *post-hoc* « Dunnett's multiple comparison test » par rapport à la condition 0. $n = 3$ expériences réalisées en triplicate indépendants.

2. L'ALA n'inhibe pas la sécrétion d'IL-1 β et d'IL-6

Comme démontré précédemment (Eljaafari et al. 2015), l'activation des Th17 est associée à une amplification de la sécrétion d'IL-1 β par les monocytes et d'IL-6 par les CSA issues de sujets obèses. Naturellement, nous avons cherché à savoir si l'ALA inhibe aussi la sécrétion de l'IL-1 β et d'IL-6 en parallèle à celle de l'IL-17A. La figure C, montre clairement que quelle que soit la concentration d'ALA utilisée, ni l'IL-1 β ni l'IL-6 ne sont inhibées. Ainsi, il semble que l'ALA inhibe plus particulièrement la sécrétion d'IL-17A par les Th17 inflammatoires.

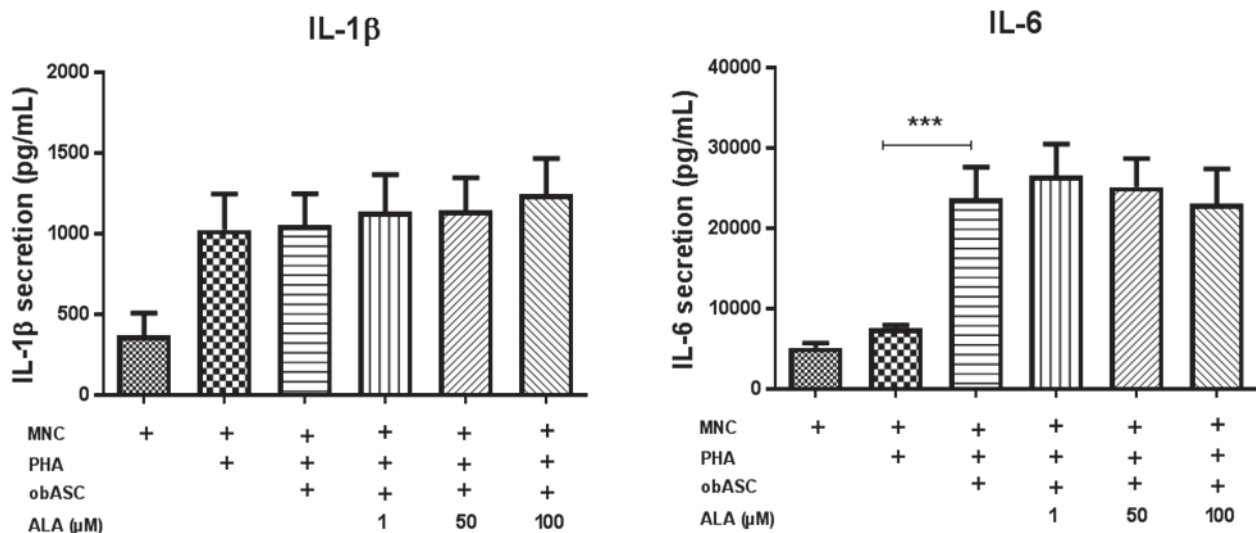


Figure C. ALA n'inhibe pas les sécrétions d'IL-1 β par les monocytes ni d'IL-6 par les obCSA. Les CMN (ou MNC) ont été activées (+) ou non par la PHA, co-cultivées ou non avec des CSA issues de tissu adipeux de sujets obèses (obASC). Les co-cultures MNC+obASC+PHA ont été traitées traitées avec différentes concentration d'ALA (1 ; 50 ; 100 μ M). 48 heures après, les différents surnageants ont été récoltés et analysés par ELISA pour la sécrétion d'IL-1 β ou IL-6. * $p < 0.05$ et *** $p < 0.001$ analyse de variance ANOVA suivie d'un test *post-hoc* « Dunnett's multiple comparison test » par rapport à la condition MNC+PHA+obASC. $n = 5$ expériences réalisées en triplicate indépendants.

3. L'action anti-inflammatoire de l'ALA passe par l'immunomodulation des CMN

Jusqu'à présent, l'ALA était ajoutée directement sur la co-culture CSA + CMN +PHA pendant 48h. Nous ne savons donc pas si l'ALA agit au niveau des CSA, des CMN ou des deux cellules pour inhiber l'inflammation. Pour répondre à cette question, les CMN ont été pré-incubées ou non avec 100 μ M d'ALA pendant . 24h puis lavées et ajoutées aux CSA issues de sujets obèses, et activées

Cependant, le pré-traitement des CMN avec 100 μ M d'ALA n'inhibe pas non plus la sécrétion d'IL-1 β et d'IL-6.

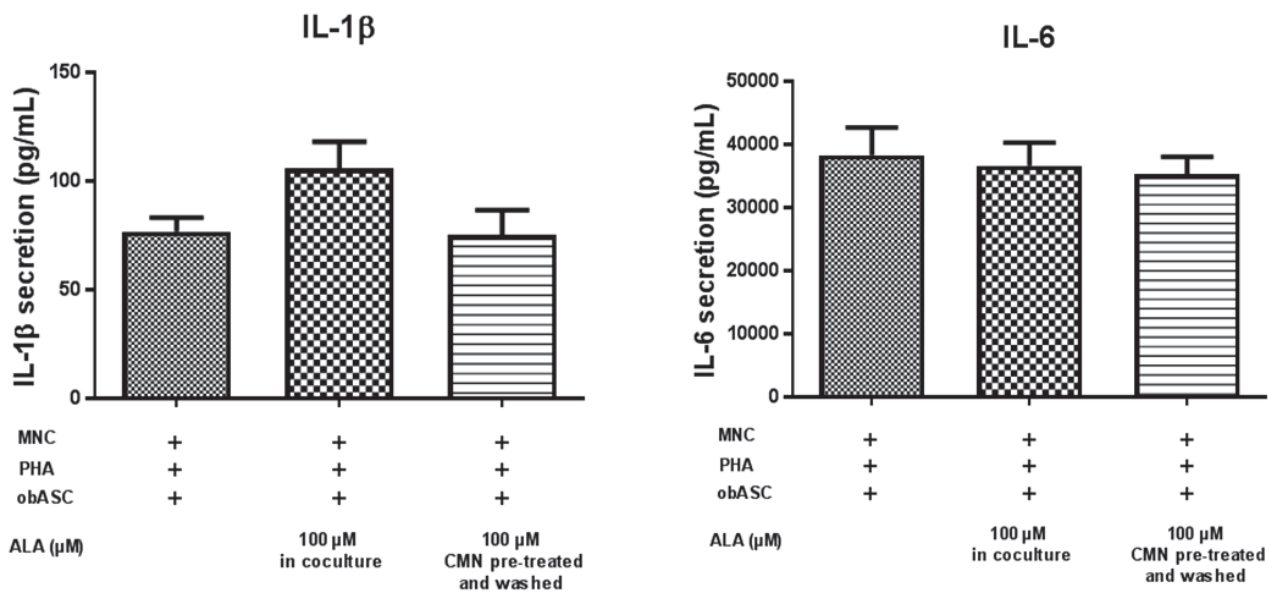


Figure D. L'action d'ALA au niveau des CMN n'inhibe ni l'IL-1 β ni l'IL-6. Les CMN ont été préalablement traitées avec 100 μ M d'ALA. 24h plus tard, elles ont été lavées (x2), comptées puis réparties sur les obASC, et enfin activées (+) par la PHA. Dans cette expérience, seule les CMN ont reçu ALA. 48 heures après, les différents surnageants ont été récoltés et analysés par ELISA pour la sécrétion d'IL-1 β et d'IL-6. n = 3 expériences réalisées en triplicate indépendants.

4. TLR4 ne semble pas impliqué dans le mécanisme d'action de l'ALA

Comme discuté dans le chapitre VI, l'effet anti-inflammatoire des ω -3 peut passer par l'inhibition de la signalisation de TLR4. Pour vérifier cette hypothèse dans notre modèle, il est d'abord primordial de valider si la voie TLR4 est impliquée dans l'activation des Th17. Les co-cultures ont été traitées ou non avec 50 μ M de VIPER (peptide inhibiteur de TLR4) ou CP7 (peptide contrôle) pendant 48h. Le traitement des co-culture avec VIPER inhibe significativement la sécrétion d'IL-17A ($p < 0.001$) mais aussi d'IL-6 et d'IL-1 β ($p < 0.05$). Ces résultats montrent clairement que la voie de signalisation TLR4 est nécessaire à l'activation des Th17 et la sécrétion de l'IL-17, de l'activation des monocytes et la sécrétion d'IL-1 β et la sécrétion d'IL-6 par les CSA issues de sujets obèses. L'inhibition de TLR4 par l'ALA devrait inhiber l'IL-17, l'IL-1 β et l'IL-6 de façon similaire à l'inhibition observée par VIPER. Or ce n'est pas le cas, ce qui nous laisse penser que la voie TLR4 n'est pas impactée par un traitement à l'ALA

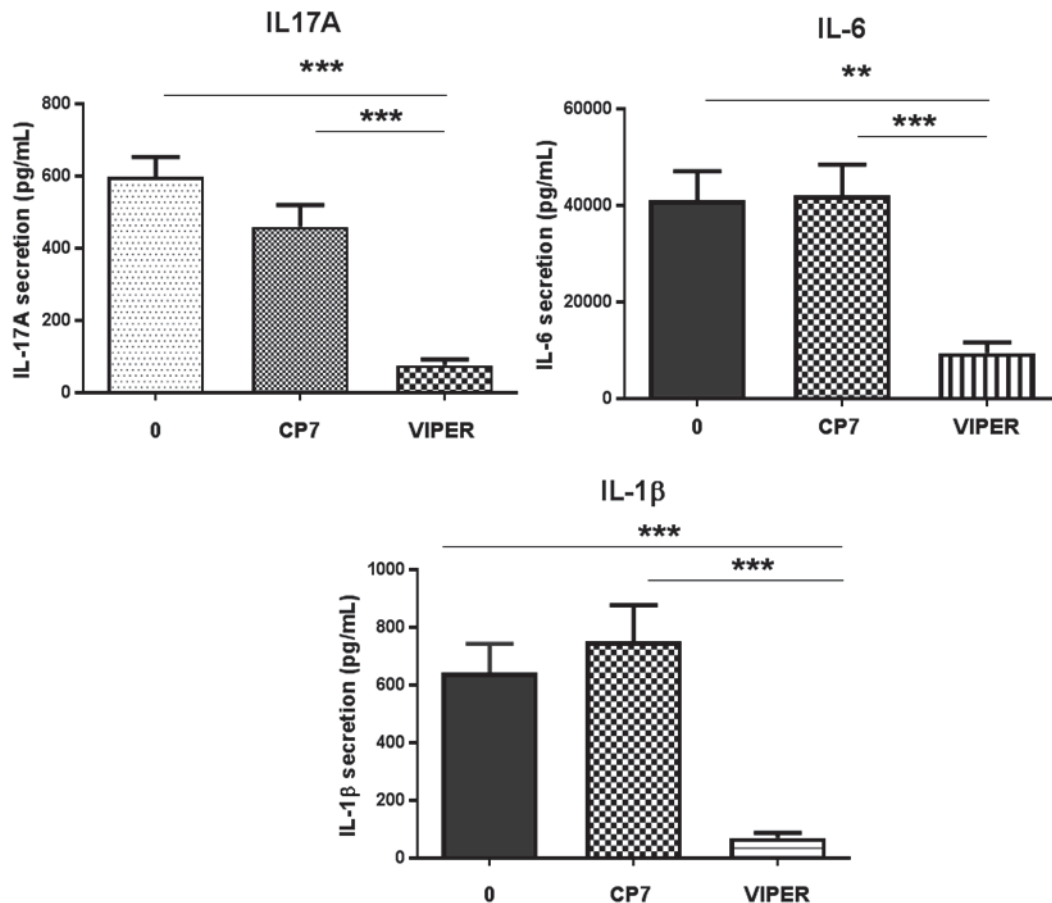


Figure E. L'activation de TLR4 est nécessaire à la sécrétion d'IL-17A, d'IL-1β et d'IL-6 dans ce modèle mais ne semble pas impactée par l'ALA. Les co-cultures, activées par la PHA, ont été traitées ou non (0) avec 50 μ M de peptide contrôle (CP7) ou de peptide inhibiteur de TLR4 (VIPER). 48h plus tard, les différents surnageants ont été récoltés et analysés par ELISA pour la sécrétion d'IL-17A, d'IL-1β et d'IL-6. ** $p < 0.01$ et *** $p < 0.001$ analyse de variance ANOVA suivie d'un test *post-hoc* « Dunnett's multiple comparison test » par rapport à la condition 0. n = 3 expériences réalisées en triplicate indépendants.

5. L'inhibition de l'activation des Th17 est liée à une inhibition de la phosphorylation de STAT3 des Th17.

Comme expliqué dans le chapitre V, l'activation des Th17 nécessite l'activation du facteur de transcription STAT3 par phosphorylation. Nous avons donc analysé la capacité de l'ALA à moduler la phosphorylation de STAT3. Les co-cultures ont été traitées ou non par la PHA et l'ALA pendant 1h. Les cellules ont été lysées et un western blot a été effectué afin de quantifier la phosphorylation de STAT3 par rapport à STAT3 totale. Le traitement de la co-culture avec l'ALA (100 μ M) inhibe significativement la phosphorylation de STAT3 et donc réduit le ration P-STAT3/STAT3. Cette expérience permet de conclure que l'ALA inhibe l'activation des Th17 en réduisant le degré de phosphorylation de STAT3.

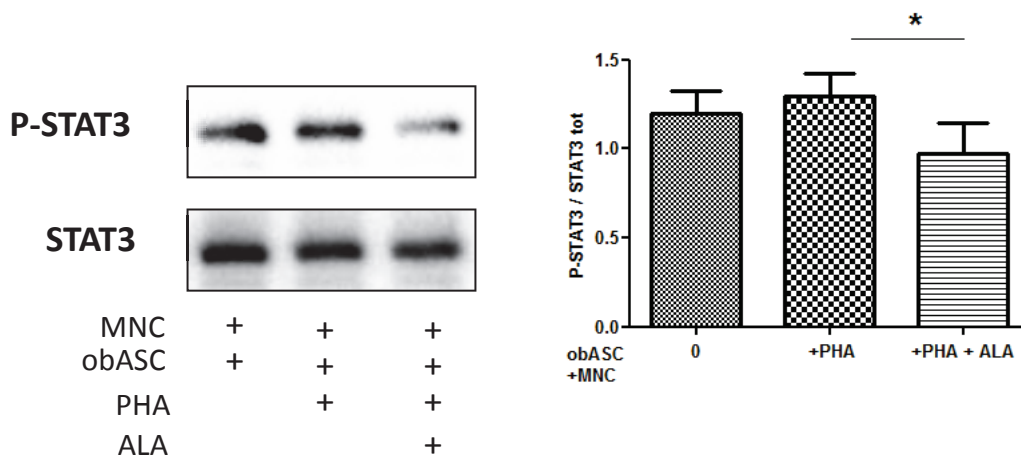


Figure F. ALA inhibe la sécrétion d'IL-17A en inhibant l'activation de STAT3 par phosphorylation. Les co-cultures, activées ou non par la PHA, ont été traitées ou non avec 100 μ M d'ALA. 1h plus tard, les cellules ont été lysées et analysées par western blot. P-STAT3 et STAT3 ont été quantifiés. Le graphe de droite représente la quantification des bandes P-STAT3/STAT3. * $p < 0.05$ analyse de variance ANOVA suivie d'un test *post-hoc* « Tukey's multiple comparison test ». $n = 3$ expériences réalisées en triplicate indépendants.

6. ALA inhibe l'expression de COX-2, MCP-1 et ICAM-1

Afin d'approfondir le spectre d'action de l'ALA au niveau de l'inhibition de l'inflammation, nous avons analysé l'expression de quelques gènes de l'inflammation amplifiés dans la condition de polarisation des Th17 (CSA issues de sujets obèses + CMN + PHA). La cyclooxygénase de type 2 (COX-2), est une enzyme induite par l'inflammation dont l'activité peut être amplifiée en réponse à l'IL-17A. Le traitement des co-cultures avec l'ALA, inhibe significativement l'expression de la COX-2 dès 50 μ M. MCP-1 est une chémokine sécrétée par les macrophages mais aussi fortement sécrétée par les CSA issues de sujets obèses dans le but d'attirer les macrophages dans le TA. L'ALA inhibe significativement l'expression de MCP-1 à 100 μ M. ICAM-1 est une molécule d'adhésion inter-cellulaire. L'ALA réduit significativement l'expression d'ICAM-1, dès 50 μ M. L'ALA semble inhiber l'activation des Th17 via l'inhibition de l'expression d'ICAM-1 et donc de l'interaction des CSA avec les CMN

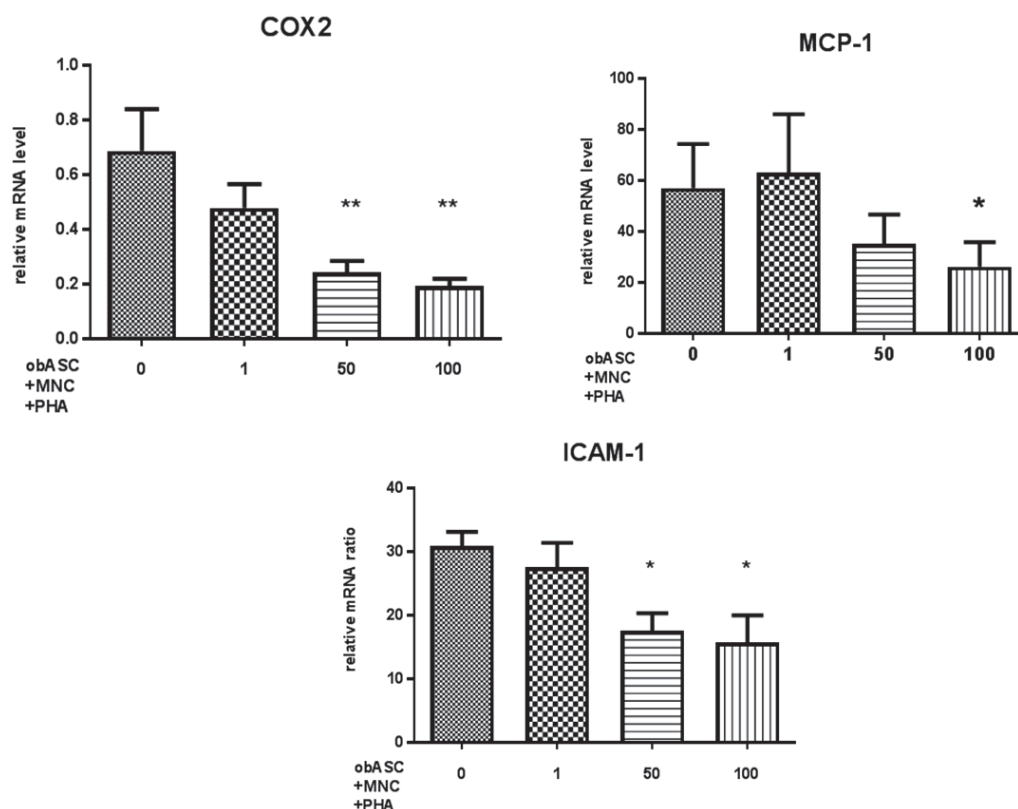


Figure G. ALA inhibe l'expression des ARNm COX2, MCP-1 et ICAM-1. Les co-cultures MNC+obASC+PHA ont été traitées ou non avec différentes concentration d'ALA (1 ; 50 ; 100 μM). 24 heures après, les cellules ont été lysées et les ARNm récupérées. Une étape de transcription inverse précède la PCR. * $p < 0.05$ et ** $p < 0.01$ analyse de variance ANOVA suivie d'un test *post-hoc* « Dunnett's multiple comparison test » par rapport à la condition 0. $n = 3$ expériences réalisées en triplicate indépendants.

7. Le blocage d'ICAM-1 induit une inhibition de l'IL-17A, mais pas de l'IL-1β ni de l'IL-6

Nous avons déjà démontré qu'ICAM-1 est impliquée dans l'activation des Th17, à l'aide d'anticorps neutralisants (Eljaafari et al. 2015). Comme ALA inhibe l'expression d'ICAM-1, et d'IL-17A, sans inhiber l'IL-1β ni l'IL6, nous avons donc testé dans cette étude l'effet du blocage d'ICAM-1 sur la production d'IL-1β, d'IL-6 et d'IL-17A. Les résultats nous ont confirmé l'implication d'ICAM-1 dans la production d'IL-17A. Par contre les sécrétions d'IL-1β et d'IL-6 sont indépendantes d'ICAM-1. De ce fait, ces résultats suggèrent que le mécanisme d'action d'ALA dans l'inhibition des Th17 pourrait passer par ICAM-1.

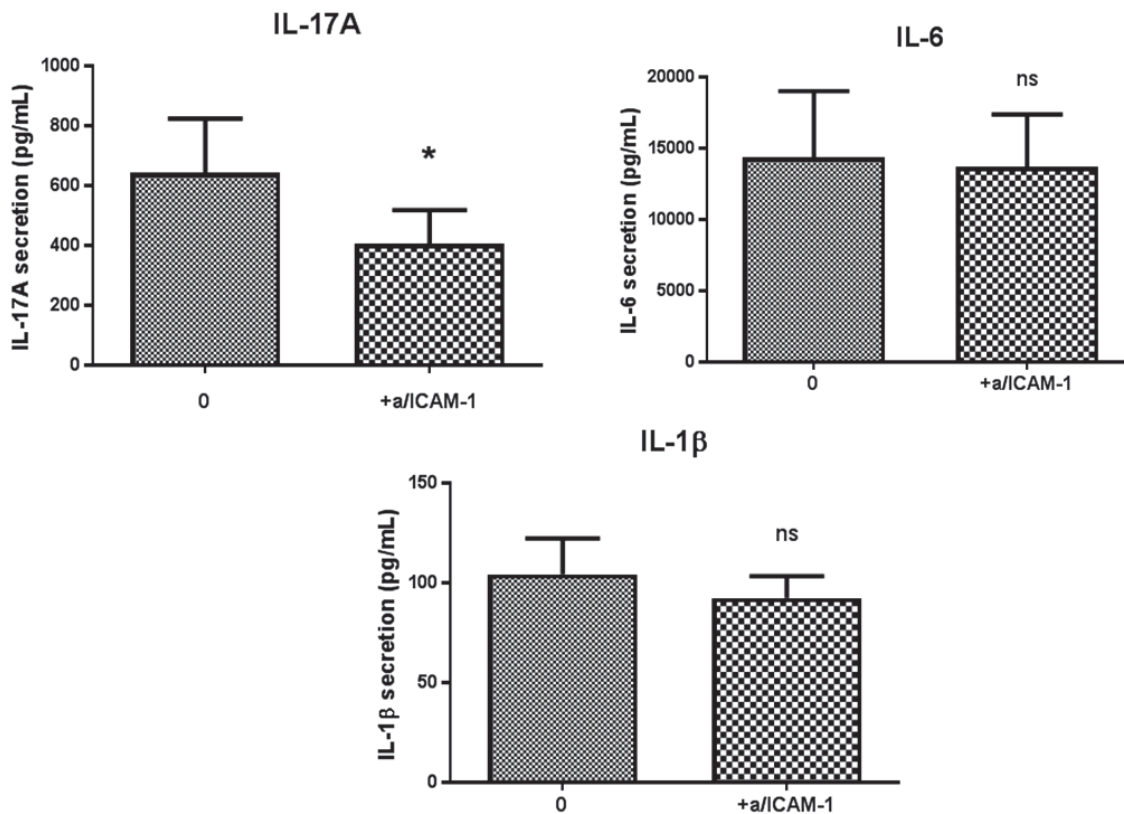


Figure H. Le blocage d'ICAM-1 induit une inhibition de l'IL-17A, mais pas de l'IL-1β ni de l'IL-6. Les co-cultures MNC+obASC+PHA ont été traitées ou non avec 10 µg/mL d'un anticorps neutralisant pour ICAM-1. 48h plus tard, les surnageant ont été analysés par ELISA pour la sécrétion d'IL-17A, d'IL-1b et d'IL-6. * $p < 0.05$ et analyse de variance ANOVA suivie d'un test *post-hoc* « Dunnett's multiple comparison test » par rapport à la condition 0 ; ns, non significatif. n = 3 expériences réalisées en triplicate indépendants.

Pour conclure, nous avons précédemment montré que les CSA issues de sujets obèses induisent l'activation des Th17 et la sécrétion d'IL-17A. Nous avons également montré que cet environnement inflammatoire conduit à une amplification de la sécrétion d'IL-1β par les monocytes et d'IL-6 par les obCSA. Dans cette étude, nous avons cherché à comprendre si le traitement des co-cultures avec les ω-3 de type ALA inhibe l'inflammation induite par les obCSA. Nous avons montré que les ALA inhibent spécifiquement la sécrétion d'IL-17A par les Th17, en agissant sur la phosphorylation de STAT3 des Th17 et l'interaction obCSA et CMN via ICAM-1.

Discussion & Perspectives

Le statut de maladie inflammatoire chronique de bas grade attribué à l'obésité est liée en partie à l'infiltration et l'accumulation de cellules immunitaires dans le tissu adipeux qui vont, en plus des adipocytes, sécréter la majeure partie des adipokines responsables de l'attraction d'autres cellules immunitaires, et de l'insulino-résistance. L'altération de la biologie du tissu adipeux a un retentissement sur le métabolisme et engendre *in fine* le syndrome métabolique.

Durant ma thèse, nous avons porté une attention particulière à la régulation fonctionnelle des lymphocytes T en contact des cellules souches du tissu adipeux du sujet obèse (obCSA), et les conséquences potentielles sur le métabolisme. En particulier, nous avons porté un intérêt majeur à la compréhension du mécanisme d'activation des Th17 dans le tissu adipeux en cas d'obésité (**Article 1, Article 2**). Au vu de l'intérêt grandissant des ω -3 dans l'alimentation occidentale, et au vu du nombre réduit d'études portant sur l'effet anti-inflammatoire de l'acide alpha-linolénique (ALA) chef de famille des ω -3, nous avons testé l'ALA en tant qu'inhibiteur de l'inflammation médiée par les obCSA (**Article 3 en préparation**).

A l'aide d'un modèle de co-culture *in vitro*, associant les obCSA et des cellules mononucléées (CMN) activées par la PHA, nous avons mis en évidence le rôle majeur des obCSA dans l'orientation des LT vers la voie Th17 aux dépens de la voie Th1. Nous avons effectivement montré que les obCSA induisent l'amplification et l'activation des lymphocytes CCR6⁺ IL-17⁺ Th17 des CMN, et inhibent la population de lymphocytes T sécrétant l'IFN γ et le TNF α , correspondant aux Th1 (**Article 1**). Au niveau physiologique, nous avons montré que les deux populations Th17 et Th1 sont amplifiées par l'obésité mais que le niveau de sécrétion d'IL-17A est nettement plus important que le niveau de sécrétion du TNF α . Confortant nos résultats, de nombreuses études ont montré une amplification de la population des Th17 dans le tissu adipeux obèse aussi bien chez l'Homme que chez la souris (Dalmas et al. 2014; Caër et al. 2017; Pandolfi et al. 2016). Outre les Th17, d'autres types cellulaires sécrétant l'IL-17A ont montré être augmentés dans le tissu adipeux en condition d'obésité. Il s'agit des lymphocytes $\gamma\delta$ T17 et des MAIT, qui appartiennent à l'immunité innée, et qui sécrètent fortement l'IL-17A. La réduction de la fréquence des MAIT dans le sang des sujets obèses, associée à l'augmentation de leur fréquence dans le tissu adipeux et de leur pathogénicité, a clairement été démontrée. Les MAIT, dans le tissu adipeux, se mettent à sécréter de fortes concentrations d'IL-17, d'IL-2 et du granzyme B. Le mécanisme par lequel les Th17 tout comme les MAIT sont recrutés dans le tissu adipeux reste peu connu, en revanche leur présence a été associée à l'obésité (Magalhaes et al. 2015b). La sécrétion accrue de CCL20 par le tissu adipeux, les adipocytes et les CSA, pourrait expliquer l'attraction des MAIT-

CCR6⁺ dans le tissu adipeux préférentiellement. Dans notre modèle, les Th17 induits par les obCSA expriment CCR6, le récepteur de CCL20. De plus, nous avons montré que les obCSA co-cultivées avec les CMN+PHA induisent l'expression de CCL20, qui peut expliquer l'attraction des Th17 *in vivo* (données non publiées). Par ailleurs, chez la souris, le tissu adipeux semble être majoritairement infiltré par les $\gamma\delta$ T17 et non pas les Th17 (Zúñiga et al. 2010a). Nous avons effectivement montré une augmentation de la sécrétion d'IL-17 dans le SVF des souris rendues obèses, en comparaison aux souris minces (Article 1). En revanche, l'origine cellulaire de l'IL-17 sécrétée n'a pas été analysée. L'IL-17 environnante est à l'origine d'une amplification de l'expression d'autres marqueurs inflammatoires tels que l'IL-1 β , l'IFN γ et l'IL-6 par une lignée de macrophages murines RAW 264.7 (Y. K. Lee et al. 2017). Des souris déficientes en IL-17 (IL-17 KO) ont une réduction d'expression de ces facteurs inflammatoires, dans la rate et le foie, et sont moins susceptibles à l'obésité induite par un régime gras. Par ailleurs, ces souris ont une réduction de la fréquence de Th1 dans la rate, ainsi qu'une augmentation de la différenciation des Th2 IL-4+, qui ont un rôle protecteur dans l'obésité (Y. K. Lee et al. 2017). Ces données montrent l'impact de la sécrétion d'IL-17 sur la polarisation des macrophages et des Th1.

Dans le sang circulant, la majeure partie d'IL-17 sécrétée provient des Th17 (71 %) en comparaison aux $\gamma\delta$ T17 (6,4 %) et aux MAIT (5,8 %) (Coulter et al. 2017). Dans nos expériences, nous utilisons des CMN humaines purifiées à partir de poche de sang. Il est donc légitime de se poser la question de savoir si la population de cellules sécrétant l'IL-17 et est induite par les obCSA correspond aux Th17, aux $\gamma\delta$ T17 ou aux MAIT ? Des données non publiées, nous ont permis de confirmer que l'IL-17 amplifiée provient majoritairement des Th17 puisque le marquage et l'analyse des cellules aux FACS ont montré que les cellules sont positives pour le CD4 et pour le TCR α/β , à la différence des $\gamma\delta$ T17 et des MAIT.

A l'inverse du tissu adipeux en condition d'obésité, la présence de Th17 dans un tissu n'est pas toujours un signe de pathogénicité. En effet, des données récentes de la littérature montrent que les Th17 résident dans l'intestin et que leur fréquence est inversement corrélée à l'obésité et à l'insulino-résistance chez la souris (Garidou et al. 2015; Hong et al. 2017). De plus, le transfert de Th17 dans l'intestin de souris obèses, qui ont une altération établie du microbiote intestinal et une réduction des Th17/IL-17, atténue l'obésité et restaure les variables métaboliques à la normale. D'autres part, la présence de Th17 dans l'intestin maintient un microbiote caractéristique d'un phénotype « mince », favorisant certaines souches bactériennes plus que d'autres (Hong et al. 2017). D'ailleurs, 10 jours de régime riche en gras suffisent à altérer le microbiote, réduire la fréquence des Th17 intestinaux et amplifier la population de Th17 dans le tissu adipeux et dans le

foie (Garidou et al. 2015). Ces observations peuvent être expliquées par l'altération du phénotype des cellules dendritiques de l'intestin les rendant incapables d'induire les Th17 chez des souris nourries avec un régime gras (Garidou et al. 2015; Hong et al. 2017).

Le mécanisme d'activation des Th17 en contact avec les obCSA, dépend de l'activation, au sein des Th17, de la PI3K et de la phosphorylation de STAT3. En plus, des obCSA, nous avons montré l'implication d'un troisième protagoniste, les monocytes. En effet, les CMN en plus d'apporter des Th17 apportent des monocytes qui vont avoir pour rôle d'amplifier l'inflammation. En effet, nous avons montré que la déplétion des CD14⁺ de la population de CMN provoque une réduction de l'activation des Th17, puisqu'une réduction de la sécrétion d'IL-17 a été observée. En revanche, l'activation des Th17 a été très peu affectée par la neutralisant d'IL-1 β sécrétée. Alors qu'à l'inverse, l'inhibition de l'activation de l'inflammasome a totalement inhibé la sécrétion d'IL-17A, ce qui laisse penser, que les monocytes CD14⁺ doivent amplifier la sécrétion d'IL-17A autrement que par l'IL-1 β . L'inflammasome est aussi nécessaire à la maturation de l'IL-18. Récemment, un article a montré que les Th17 au cours de leur développement, expriment l'IL-18R (en plus de l'IL-1R) à leur surface, et que l'IL-18 en combinaison avec d'autres cytokines comme l'IL-1 β et l'IL-23 amplifient la polarisation des LT vers la voie Th17 (Y. K. Lee et al. 2017). Bien que nous n'ayons pas dosé ces cytokines dans nos conditions expérimentales, nous pouvons très bien imaginer ce scénario dans ce modèle d'induction des Th17, impliquant les obCSA et les monocytes. De plus, Dalmas et al. ont montré que l'IL-17 sécrété par les Th17 du TAv contribuent à l'activation de la voie de l'inflammasome/IL-1 β dans les macrophages, qui en retour vont agir sur les Th17 et amplifier la sécrétion d'IL-17A et d'IL-22, instaurant ainsi un dialogue paracrine entre les cellules (Dalmas et al. 2014). Le contact CMN/obASC ou CMN/obAdipocyte suffit à induire la sécrétion d'IL-6, déjà très élevée par les obCSA/obAdipocyte seules (**Article 1 et 2**). En effet, Dalmas et al. ont montré une corrélation étroite entre l'inflammation du TAv, représentée par la sécrétion d'IL-6 et d'IL-1 β , et la sécrétion d'IL-17 par les Th17 (Dalmas et al. 2014).

Les obCSA en contact avec les CMN+PHA, amplifient la production d'IL-1 β par les monocytes. L'IL-17 et encore plus l'IL-1 β amplifient l'expression et la sécrétion de cytokines et chémokines inflammatoires par les préadipocytes et adipocytes matures attirant encore plus de cellules immunitaires dans le tissu adipeux (neutrophiles via l'IL-8, LT via CCL-20 et monocytes via MCP-1) ce qui permet de maintenir une inflammation chronique (cercle vicieux). De plus ces cytokines inhibent l'expression des gènes du métabolisme adipocytaire (Caër et al. 2017). En effet, nous

avons également montré que les conditions de culture favorisant l'activation des Th1 (condition CMN+PHA) et des Th17 (condition obCSA+CMN+PHA) crée un environnement inflammatoire néfaste à l'expression du facteur de transcription pro-adipogénique PPAR γ et à l'expression des gènes des adipocytes matures comme la leptine, l'adiponectine et FABP4/aP2. Par ailleurs, cet environnement pro-Th17 inhibe la réponse des adipocytes à l'insuline mesurée par l'inhibition de la phosphorylation de l'AKT et la levée de l'inhibition de la lipolyse (**Article 1**).

Il est intéressant de préciser que l'IL-6 n'est pas impliquée dans la polarisation des LT vers la voie Th17. Or, ainsi décrit dans le chapitre V, l'IL-6 en plus d'autres cytokines est nécessaire à la polarisation des LT naïfs (CD45RA⁺) en Th17 mature. L'IL-6 amplifie l'activation de STAT3, ce dernier étant nécessaire à la fonction des Th17 (Harris et al. 2007). D'après nos résultats, l'IL-6 n'est pas impliquée dans l'activation des Th17. En revanche l'activation des Th17 est dépendante de la phosphorylation de STAT3 (Article 1). *In vitro*, 4 jours sont nécessaires aux LT naïfs pour se différencier en Th17 mature (X. O. Yang et al. 2007). Or, dans nos conditions de co-culture, 24h suffisent à induire la sécrétion d'IL-17, ce qui nous laisse penser que les Th17 induits sont de type mémoire. Ces Th17 étaient donc présents dans les CMN avant la co-culture, mais les obCSA ont induit leur expansion clonale (CMN+PHA : 0,2 % Th17 ; CMN+PHA+obCSA : 2% Th17) et la sécrétion d'IL-17 (Figure 1B, Article 1). En revanche, nous n'avons pas réalisé les marquages nécessaires afin de valider le phénotype mémoire (CD45RO⁺) des Th17 induits par les obCSA. Ces observations expliquent pourquoi l'IL-6 n'est pas requise dans l'activation des Th17. Néanmoins, un antigène présent à la surface des obCSA, et absent au niveau des CSA « minces », est certainement mis en jeu dans l'activation des Th17, puisque ceux-ci ne sont induits qu'en présence d'un signal mitogénique (ex. PHA ou α /CD3 + α /CD28).

Le tissu adipeux ne contient pas que les CSA. En effet, la fonction principale du tissu adipeux est de stocker les graisses au sein des adipocytes et de les mobiliser lors des périodes de besoin énergétique. D'autre part, il y a environ 1 CSA pour 5 adipocytes différenciés (Tchoukalova et al. 2007), ce qui ne suffit pas à expliquer l'ampleur ni la persistance de l'inflammation du tissu adipeux, observé en condition d'obésité. La question légitime que l'on s'est posé par la suite était de savoir si les adipocytes eux aussi peuvent induire l'activation des Th17 dans l'obésité. Pour cela, des CSA issues de sujets obèses ou de sujets minces ont été différenciés en adipocytes pendant 8 ou 14 jours, puis co-cultivés en présence de CMN activées par la PHA. L'analyse des facteurs sécrétés par la co-culture a montré que quel que soit l'origine des cellules, les adipocytes différenciés

induisent l'activation des Th17 inflammatoires. Ces résultats nous ont surpris au vu des résultats du premier article montrant bien une dichotomie entre CSA issues de sujets minces ou obèses. De la même manière, une étude précédente avait montré que seules les cellules souches mésenchymateuses issues de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde, et non pas de sujet sains, induisent l'activation des Th17 (Eljaafari et al. 2012b). Pour valider notre hypothèse initiale, nous avons isolées des adipocytes issus de souris obèses ou minces (souris nourries avec un régime riche en gras ou contrôle), puis de la même manière que les CSA, nous les avons cultivés avec des CMN (+PHA), isolées à partir de la rate de souris mince. De la même manière que pour les obCSA, nous avons montré que les adipocytes, extraits de souris nourries avec un régime riche en gras, et non pas de souris nourries un régime standard, induisent l'activation des Th17 (**Article 2**). Encore une fois avec cette seconde étude, nous avons repositionné le rôle central de la cellule souche adipocytaire issue de sujet ou de souris obèse dans l'initiation de l'inflammation du TA, puisque ce sont les cellules progénitrices des adipocytes.

Au vu des données actuelles sur le rôle anti-inflammatoire des ω -3, et à l'absence de données sur l'effet anti-inflammatoire des ALA, nous avons émis l'hypothèse que l'ALA peut révoquer l'inflammation médiée par les obCSA. ALA ou acide linoléique est un acide gras polyinsaturés (AGPI), précurseur de la famille des ω -3. Ses effets biologiques restent à préciser à l'inverse des AGPI à longues chaînes comme l'EPA et la DHA.

Pour vérifier l'effet de l'ALA sur l'inflammation, nous avons co-cultivé des CSA issues de sujets obèses avec des CMN activées par la PHA, en présence ou non d'une dose croissante d'ALA, allant jusqu'à 100 μ M. Nous avons montré une inhibition spécifique de la sécrétion d'IL-17A en présence de 100 μ M d'ALA. Les effets anti-inflammatoires de l'EPA et la DHA ont aussi été vérifiés. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature. En effet, la supplémentation de l'alimentation avec l'huile de poisson ou l'utilisation de souris *fat-1*, montre une inhibition significative des marqueurs propres aux Th17, de leur fréquence ainsi que de l'expression ou la sécrétion des cytokines des Th17 (Chapitre VII). Dans l'obésité, seule une équipe a montré l'effet de l'EPA/DHA sur l'inhibition de la polarisation des Th17 (Monk et al. 2012b). De façon intéressante, nous avons montré que l'ALA inhibe l'inflammation via une action directe au niveau des Th17. En effet, le pré-traitement des CMN avec 100 μ M d'ALA inhibe spécifiquement l'activation des Th17 et la sécrétion d'IL-17A. L'inhibition est si importante, qu'il est peu probable que l'ALA inhibe l'activation des Th17 via une action au niveau des obCSA. Dans la même

expérience que les CMN pré-traitées, nous avons pré-traitées séparément les obCSA avec 100 μ M d'ALA pendant 24h, puis après lavage, nous les avons co-cultivées avec les CMN activées par la PHA. Un contrôle obCSA lavées a aussi été fait (non-présenté dans la partie résultat). Nous n'avons pas réussi à observer un effet de l'ALA sur les CSA, puisque le lavage inhibe fortement la sécrétion d'IL-17, de façon comparable au traitement avec l'ALA. Ces résultats suggèrent un rôle majeur des facteurs sécrétés dans l'induction d'IL-17, ce qui est surprenants vu les résultats obtenus dans le premier papier, qui montre que l'interaction, bien plus que les facteurs sécrétés, est nécessaire à l'activation des Th17 (**Article 1**).

Nous avons également montré que l'ALA inhibe l'activation de STAT3 dans la co-culture, confirmant ainsi l'inhibition de l'activation des Th17 et de la sécrétion d'IL-17. Ces résultats sont en accord avec les observations d'autres chercheurs, qui ont montré que le traitement des LT CD4⁺ avec EPA/DHA inhibe l'activation de STAT3 et la polarisation des Th17 (Monk et al. 2012b, 2013b). Nous avons montré dans l'article 1 que l'inhibition d'ICAM-1 réduit la sécrétion d'IL-17A, témoin d'une inhibition de l'interaction des obCSA et des Th17. De la même manière, nous avons montré que le traitement de ces co-cultures inflammatoires avec l'ALA inhibe l'expression d'ICAM-1, en parallèle de celle d'IL-17. Ces résultats montrent que l'action anti-inflammatoire d'ALA est liée à l'inhibition de l'interaction entre les cellules. En revanche, il est vrai que nous n'avons pas testé si l'action anti-inflammatoire de l'ALA est liée à une inhibition de l'interaction entre les obCSA et les Th17 ou entre les monocytes et les Th17. Les Th17 expriment CCR6. Campbell et al. ont montré que la liaison de CCL20 à CCR6 est indispensable à l'expression de la molécule LFA-1, ligand d'ICAM-1 au niveau des LT. En effet, la liaison de CCL20 à CCR6 entraîne un changement conformationnel de LFA-1, le rendant disponible à une interaction avec ICAM-1 (Campbell et al. 1998). Ghannam S. a montré que l'absence de cette interaction CCL20/CCR6 et donc l'inhibition de la liaison ICAM-1/LFA-1 rendait impossible l'interaction des Th17 avec les MSC (Ghannam et al. 2010b). Il serait donc intéressant de vérifier si l'ALA inhibe la sécrétion de CCL20 par les obCSA, ou de CCR6 sur les Th17.

De façon intéressante, nous avons également montré une inhibition de l'expression de COX-2 en présence d'ALA. L'inhibition de COX-2 est associée à l'inhibition d'IL-17. COX-2 est une enzyme nécessaire à la conversion de l'acide arachidonique en PGE2 pro-inflammatoire. Elle est également nécessaire à la conversion de l'EPA en PGE3 par exemple, moins inflammatoire que la PGE2 (Yates et al. 2014). De plus, l'inhibition de COX-2 par l'aspirine est associée à l'inhibition de l'inflammation. Par ailleurs, il semble que COX-2 soit impliquée dans l'activation des Th17. En effet, une publication récente a montré que PGE2, produit de l'activité de COX-2, induit la

sécrétion de l'IL-17A/F (Hernandez et al. 2015). De plus, PGE2 réduit simultanément la sécrétion de l'IL-12 et augmente la sécrétion de l'IL-23 par les CD, et possiblement par d'autres cellules immunitaires, favorisant la différenciation des LT naïfs en Th17 aux dépens des Th1. Ce mécanisme a été mis en évidence dans la polyarthrite rhumatoïde et la maladie inflammatoire de l'intestin, deux pathologies impliquant les Th17 (Sheibanie, Khayrullina, et al. 2007; Sheibanie, Yen, et al. 2007). Il est possible que ce mécanisme soit également mis en jeu dans l'obésité, et dans notre modèle plus précisément, où les obCSA, sécrètent PGE2 et immunomodulent la réponse Th1 et favorise celle des Th17.

De nombreuses études ont montré que l'action anti-inflammatoire des ω -3 passe par l'inhibition de la signalisation TLR4. Nous avons supposé un mécanisme identique étant donné que TLR4 est impliquée dans la sécrétion d'IL-17, d'IL-1 β et d'IL-6 dans notre modèle, ainsi démontré par l'utilisation d'un peptide inhibiteur de TLR4. En effet, ainsi discuté dans la partie introduction, TLR4 active de nombreux gènes cibles comme l'IL-1 β , l'IL-6, l'IL-8, ICAM-1 et d'autres. L'inhibition de l'ensemble de ces gènes a certainement un impact sur la sécrétion d'IL-17, surtout qu'au moins l'IL-1 β et ICAM-1 sont impliqués dans l'activation des Th17 (Janeway et Medhitov 2002) (**Article en préparation**). En revanche, l'absence d'inhibition d'IL-1 β et d'IL-6 par les ω -3, suggère que la voie TLR4 ne doit pas être impliquée dans l'action immunomodulatrice des ω -3. Les ω -3 sont connus pour inhiber ICAM-1 et donc l'interaction cellulaire. Dans le premier papier, l'utilisation d'un anticorps neutralisant pour ICAM-1 a montré l'implication de ce dernier dans la sécrétion d'IL-17, mais nous n'avons pas évalué l'importance de l'interaction cellulaire dans la sécrétion d'IL-1 β et d'IL-6. Ici nous avons montré que la neutralisation d'ICAM-1 inhibe l'IL-17, mais n'a aucun effet sur l'IL-1 β ou l'IL-6. Ces résultats suggèrent que l'action immunomodulatrice de l'ALA passe par l'inhibition de l'interaction cellulaire via ICAM-1.

Pour finaliser cette étude et améliorer la compréhension du mécanisme mis en jeu, plusieurs expériences sont encore nécessaires :

- valider l'inhibition d'ICAM-1 au niveau protéique, soit par western blot soit par cytométrie de flux.
- évaluer, au niveau des CMN pré-traitées avec l'ALA, l'inhibition de la phosphorylation de STAT3.
- une supplémentation de l'alimentation avec de l'huile de poisson inhibe l'expression de ROR γ t chez la souris, ce qui est à l'origine d'une réduction de la polarisation des Th17. On peut envisager

d'analyser l'expression intracellulaire de ROR γ t aussi bien dans la co-culture que dans la condition où les CMN sont pré-traitées.

- l'ALA inhibe COX-2 et inhibe la sécrétion d'IL-17A. La PGE2 est-elle impliquée dans l'induction des Th17 dans notre modèle d'activation des Th17 ? L'ALA inhibe-t-elle l'IL-17 via l'inhibition de la PGE2 ?

Perspectives

Rôle de l'IL-17 et de l'IFN γ dans l'inhibition de l'adipogenèse et la sensibilité à l'insuline

L'effet de l'IL-1 β et de l'IL-6 sur l'inhibition de l'adipogenèse et la sensibilité à l'insuline a déjà été décrite (Lagathu et al. 2006; Lagathu et al. 2003). L'effet anti-adipogénique et pro-lipolytique de l'IL-17 a également été démontré à plusieurs reprises (Ahmed et Gaffen 2013; Y. K. Lee et al. 2017; Shin, Shin, et Noh 2009; Zúñiga et al. 2010b). L'IL-17 inhibe de façon dose-dépendante (0,1 à 100 ng/mL rIL-17) la différenciation adipocytaire et la captation des lipides extracellulaires (Zúñiga et al. 2010b). Le mécanisme mis en jeu semble passer par l'inhibition des facteurs pro-adipogéniques comme PPAR γ , C/EBP α et KLF15, et l'amplification de l'expression de KLF2 et KLF3, des facteurs de transcriptions anti-adipogéniques (Ahmed et Gaffen 2013). De plus, dernièrement, Lee et al. ont montré que les souris IL-17 KO nourries un régime gras sont protégées contre l'obésité et ont une augmentation de la population de M2, associé à un phénotype insulino-sensible et pro-adipogénique (Y. K. Lee et al. 2017). Enfin la neutralisation de l'IL-17 dans le milieu de différenciation semble lever l'inhibition de l'adipogenèse (Shin et al. 2009). L'évaluation de l'ensemble des membres de la famille de l'IL-17 (A à F) a montré que seules l'IL-17A et l'IL-17F inhibent la différenciation adipocytaire (Shin et al. 2009), en augmentant l'expression de gènes inflammatoires comme l'IL-6 et l'IL-8 par les cellules en différenciation. En effet, nous avons déjà observé que l'induction de l'adipogenèse réduit l'expression basale des cytokines inflammatoires (données non publiées), alors qu'un environnement inflammatoire enrichi en IL-17 inhibe l'adipogenèse (**Article 1**).

L'IFN γ est aussi une cytokine anti-adipogénique mais pro-ostéogénique chez l'Homme (Vidal et al. 2012).

Nous avons montré que l'interaction des obCSA avec les CMN amplifie une population de Th17 exprimant à la fois l'IL-17A et l'IFN γ (**Article 1**). Nous avons également montré, que les conditions pro-Th1 et pro-Th17 génèrent un environnement anti-adipogénique (**Article 1**). Le point commun entre ces 2 conditions en terme de sécrétion cytokinique est l'IFN γ . En effet, la population

IFN γ ⁺Th1 en secrète et la population IL-17⁺ IFN γ ⁺ Th17 en secrète aussi. C'est pourquoi nous avons suspecté un rôle central de l'IFN γ dans l'inhibition de la différenciation adipogénique, peut-être plus que l'IL-17A. Pour répondre à cette question nous avons différencié des obCSA en adipocytes pendant 8 à 14 jours, en présence ou non d'IL-17 recombinante (50 ng/mL), d'IFN γ recombinante (50 ng/mL) ou des deux cytokines. Les cellules ont été traitées depuis le jour 0 de la différenciation avec ces cytokines, afin de mimer l'environnement inflammatoire dans lequel baigne les CSA du tissu adipeux en condition d'obésité. Nos résultats préliminaires (n=3) ont montré une inhibition de l'expression des gènes pro-adipogéniques (PPAR γ , FABP4 et adiponectine) en présence d'IL-17A ou d'IFN γ . En revanche, l'IFN γ montre une activité anti-adipogénique bien plus importante que l'IL-17A. L'effet synergique des 2 cytokines n'a été observé qu' 1 seule fois sur 3, sinon c'est l'effet de l'IFN γ qui l'emporte sur l'IL-17. De plus, nous avons également observé une inhibition de la sensibilité de l'insuline en présence de l'une ou de l'autre cytokine (n=2). Aucun effet synergique n'a été observé en présence d'IFN γ + IL-17. Ces résultats préliminaires nous suggèrent que l'IL-17 et l'IFN γ inhibent l'adipogenèse, mais que l'IFN γ a un effet plus probant. D'autre part, dans le cadre d'une collaboration avec Novartis, nous testons l'effet d'un anticorps neutralisant contre l'IL-17 sur l'adipogenèse et la sensibilité à l'insuline. Pour cela, nous avons reproduit l'expérience de l'Article 1, en rajoutant l'anticorps anti-IL-17A à la co-culture. Nous nous attendions à observer une levée de l'inhibition de l'adipogenèse, normalement induite par le SN issue de la co-culture obCSA+CMN+PHA. 12 séries de CSA issues de 12 patients obèses et/ou diabétiques ont été testées. L'ensemble de ces expériences ne nous a pas permis de montrer un lien entre la neutralisation d'IL-17 et l'inhibition de l'adipogenèse. Ces résultats renforcent notre hypothèse sur le puissant effet anti-adipogénique de l'IFN γ (données non publiées).

Profil inflammatoire des CSA après une perte de poids

Au vu de ces résultats, un point important peut-être soulevé. Les CSA utilisées dans nos co-cultures sont des CSA issues de sujets obèses qui ont été cultivées pendant un certain temps (nombre de passages ≥ 3). Malgré les avoir retirées de leur environnement inflammatoire (celui du TA), les obCSA maintiennent un phénotype pro-inflammatoire leur permettant d'induire les Th17 tout en maintenant leur capacité immunomodulatrice vis-à-vis des Th1. Comme expliqué dans le chapitre VI, l'obésité altère l'homéostasie des CSA. Malgré les multiples évidences d'une réduction de l'inflammation du tissu adipeux après une perte de poids liée à la chirurgie bariatrique (Poitou et al. 2015; Mocanu et al. 2015; Moschen et al. 2010; Karina R. Silva et al. 2015b), des études ont montré que la fonction propre des CSA n'est pas totalement restaurée par la perte de poids (ex-obèse). En

effet, une étude comparant le profil de sécrétion des CSA issues de femmes saines, obèses morbides et ex-obèses (IMC 47,8 +/- 1,3 kg.m⁻² → 28,1 +/- 1,1 kg.m⁻²; 2 à 4 ans post chirurgie) a permis de montrer que les ex-obCSA, ne restaurent pas un profil de sécrétion comparable aux sujets sains, même si, celui-ci est abaissé en comparaison aux sujets obèses. De plus les ex-obCSA semblent avoir une accumulation de lipides accélérées en comparaison aux sujets sains, ce qui laisse penser que ces sujets peuvent reprendre du poids assez vite (Karina R. Silva et al. 2015b). En revanche, une restriction calorique (RC) sur le long terme permettrait aux CSA de retrouver leurs fonctions physiologiques et d'accroître leur durée de vie. Physiologiquement les cellules souches, au sens large, présentent une résistance aux dommages de l'ADN grâce à leur machinerie de réparation. Les CSA issues des donneuses ex-obèses (IMC ≤ 30 kg.m⁻²; perte de poids 55 +/- 22 kg) et suivant une restriction calorique sur le long terme (4,4 +/- 2,9 ans de RC), ont une réduction du nombre de cellules dont l'ADN est endommagé (H2AX⁺) et un ralentissement de la sénescence en comparaison aux CSA issues de donneuses obèses ou saines (Mitterberger et al. 2014). A ce jour, aucun travail de recherche n'a été publié portant sur le suivi inflammatoire des CSA issues de sujets obèses morbides ayant subi une chirurgie bariatrique et donc une réduction de poids. En effet, on peut très bien envisager une étude clinique où des biopsies de tissu adipeux seront récupérées avant et après la chirurgie bariatrique, et sur une période définie après l'opération ou une perte de poids équivalente pour chaque patient. Le but étant d'analyser le degré d'infiltration des tissus adipeux, les propriétés inflammatoires des CSA et leur capacité à induire les Th17 et les monocytes en contact avec des CMN.

Cellules souches adipocytaires, obésité et cancer

L'augmentation de l'incidence de l'obésité est suivie d'une augmentation de l'incidence de cancer comme celui du foie et du sein chez la femme (Chehimi et al. 2017, pour revue). La proximité des dépôts de tissu adipeux avec les cellules épithéliales mammaires favorise le développement des tumeurs, d'autant plus si les femmes sont atteintes d'obésité. En effet, en cas d'obésité, le tissu adipeux crée un environnement inflammatoire où la sécrétion d'adipokine est dérégulée (++) leptine, IL-6, VEGF α) ce qui influence le développement tumoral via une amplification de l'angiogenèse (Bougaret et al. 2017).

Des études récentes ont montré que les CSA et les adipocytes jouent un rôle important dans la formation de métastases et la progression tumorale (Rowan et al. 2014). Récemment, il a été montré que le surnageant, issu d'une culture de CSA issues de seins atteints de tumeurs, amplifie la prolifération et la migration tumorale des cellules de la lignée MDA-MB-231. De la même manière,

ces auteurs ont montré que les CSA issues de sujets sains, en co-culture avec des CMN et des cellules de la lignée MDA-MB-231, induisent l'apoptose des CMN, réduisant la capacité du système immunitaire à développer une réponse anti-tumorale. Ces observations suggèrent un rôle majeur des CSA dans la progression tumorale (Razmkhah et al. 2017). Une autre étude récente a identifié le GM-CSF et MMP-9 comme deux protéines sécrétées par les cellules progénitrices des adipocytes, dont la production est nettement amplifiée en contact avec des cellules tumorales mammaires, favorisant ainsi l'angiogenèse et la progression tumorale (Reggiani et al. 2017). Strong et al. ont montré que les CSA issues de femmes obèses sécrètent énormément de leptine en comparaison à celles des femmes minces, et que cette leptine est nettement associée à la prolifération tumorale. En effet, les auteurs ont injecté chez des souris SCID, des CSA issues de femmes obèses ou saines en association avec des MCF-7 tumorales et un shRNA leptine. Les souris injectées avec des CSA issues de femmes obèses développement significativement plus de métastases que les souris injectées avec des CSA « minces ». De plus, la co-injection des obCSA avec un shRNA leptine réduit significativement la formation de métastases (Strong et al. 2015). En plus des obCSA et des adipocytes, les Th17 peuvent avoir un rôle déterminant dans la progression tumorale (Chehimi et al. 2017, pour revue).

Dans l'optique de comprendre les conséquences de l'activation des Th17 et des monocytes médiés par les obCSA, nous avons traité des cellules issues de lignées tumorales hépatiques (HUH-7) ou mammaires (MDA-MB-231 et MCF-7) avec du surnageant (SN) issues de co-cultures de CSA issues de tissu adipeux minces (InCSA) ou obèses (obCSA) avec des CMN activées par la PHA (obCSA+CMN+PHA ou InCSA+CMN+PHA). Nous avons montré, que quel que soit le type de lignée cancéreuse testé, le surnageant inflammatoire contenant au moins l'IL-17A, l'IL-6 et l'IL-1 β (**Article 1**), et probablement l'IL-8 dont l'expression est amplifiée, exacerbe l'expression des gènes inflammatoires comme l'IL-1 β , l'IL-8 et l'IL-6 par ces lignées tumorales, en comparaison aux SN issus de sujets minces. De plus, nous avons observé une augmentation de l'expression des gènes impliqués dans l'angiogenèse, tels que VEGF α , dans la destruction de la matrice extra-cellulaire tels que MMP9, et dans la migration des cellules tumorales, tel que CXCR4, lorsque les cellules tumorales ont été traitées avec du surnageant inflammatoire. Nous envisageons de poursuivre cette étude dans un modèle *in vivo*, où une lignée fluorescente de cellules mammaires tumorales MDA-MB-231 sera traitée avec du surnageant issu de nos co-cultures inflammatoires. Le but est d'injecter cette lignée fluorescente traitée chez des souris SCID et de mesurer la formation de métastases.

Conclusion

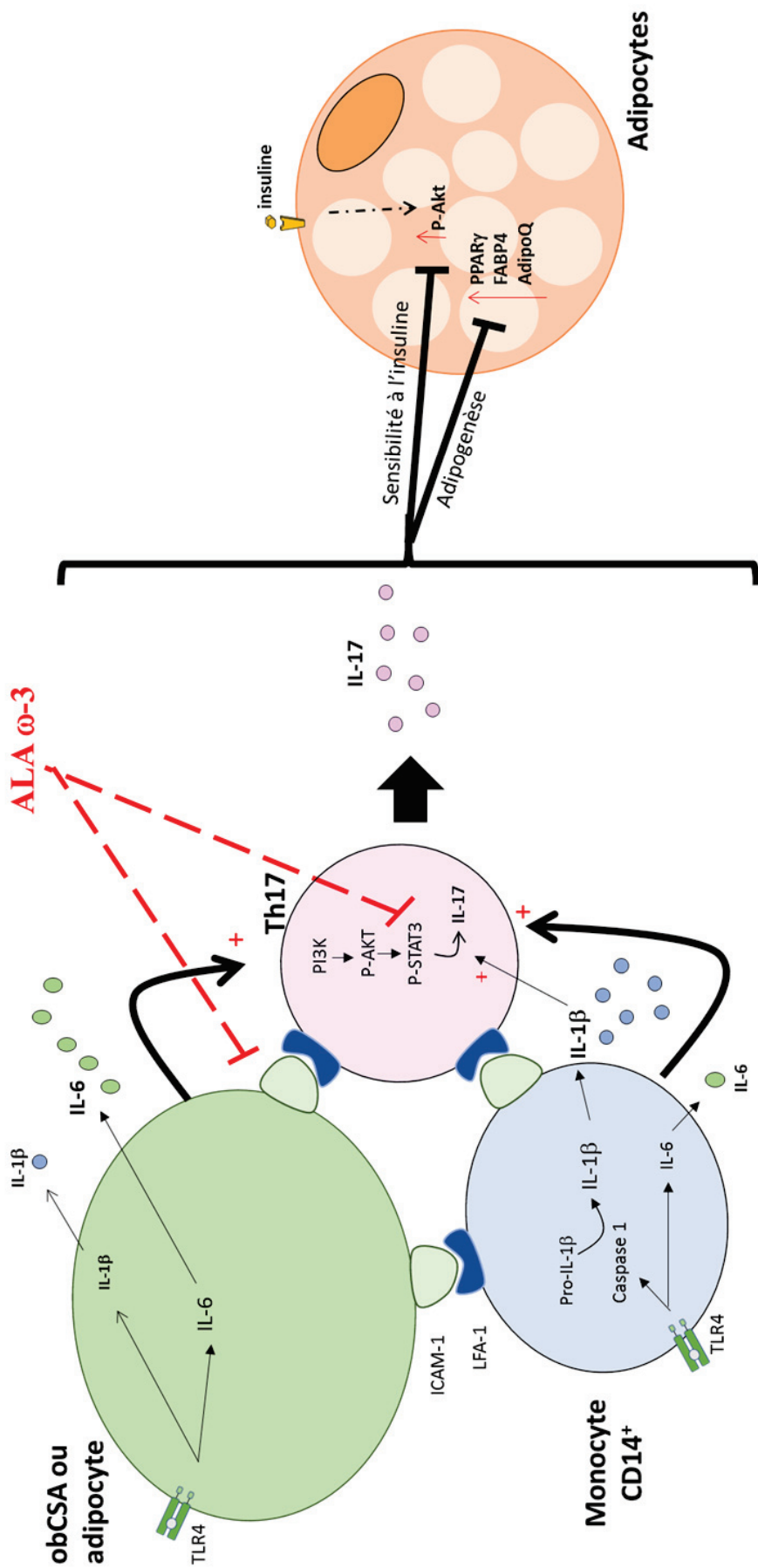


Figure 31. Schéma de conclusion. Représentation de la triade inflammatoire, où les CSA/adipocytes issus de sujets obèses jouent un rôle prépondérant dans l'activation des Th17 et des monocytes. L'environnement inflammatoire inhibe l'adipogenèse et la sensibilité à l'insuline. Le traitement des co-cultures avec l'ALA inhibe l'IL-17 uniquement, via un mécanisme dépendant d'ICAM-1 et de STAT3.

Pour conclure, nous avons mis en évidence l'existence d'une triade inflammatoire où les CSA issus de sujets obèses jouent un rôle central, aussi bien dans l'activation des Th17 que dans l'activation des monocytes. Ce schéma inflammatoire est maintenu même après différenciation des CSA en adipocytes matures. L'environnement inflammatoire généré par l'activation de ces cellules a un impact sur l'adipogenèse et la sensibilité à l'insuline. Enfin, nous avons montré que le traitement des co-cultures avec des oméga-3 et plus spécialement l'acide α -linoléinique (ALA) inhibe spécifiquement l'activation des Th17, via un mécanisme dépendant d'ICAM-1 (inhibition de l'interaction entre les cellules) et de la phosphorylation de STAT3, nécessaire à la transcription de l'IL-17. La figure 31 schématise l'ensemble des résultats obtenus.

Enfin, il est clair que l'altération des propriétés intrinsèques des cellules souches adipocytaires a un impact sur l'inflammation du tissu adipeux et l'insulino-résistance en condition d'obésité.

Références

Abedi, Elahe, et Mohammad Ali Sahari. 2014. « Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acid Sources and Evaluation of Their Nutritional and Functional Properties ». *Food Science & Nutrition* 2 (5):443-63. <https://doi.org/10.1002/fsn3.121>.

Acosta-Rodriguez, Eva V., Laura Rivino, Jens Geginat, David Jarrossay, Marco Gattorno, Antonio Lanzavecchia, Federica Sallusto, et Giorgio Napolitani. 2007. « Surface Phenotype and Antigenic Specificity of Human Interleukin 17-Producing T Helper Memory Cells ». *Nature Immunology* 8 (6):639-46. <https://doi.org/10.1038/ni1467>.

Ahmed, Mushtaq, et Sarah L. Gaffen. 2010. « IL-17 in Obesity and Adipogenesis ». *Cytokine & Growth Factor Reviews* 21 (6):449-53. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2010.10.005>.

———. 2013. « IL-17 Inhibits Adipogenesis in Part via C/EBP α , PPAR γ and Krüppel-like Factors ». *Cytokine* 61 (3):898-905. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.12.007>.

Ahrends, Robert, Asuka Ota, Kyle M. Kovary, Takamasa Kudo, Byung Ouk Park, et Mary N. Teruel. 2014. « Controlling Low Rates of Cell Differentiation through Noise and Ultrahigh Feedback ». *Science (New York, N.Y.)* 344 (6190):1384-89. <https://doi.org/10.1126/science.1252079>.

Akinkuolie, Akintunde O., Julius S. Ngwa, James B. Meigs, et Luc Djoussé. 2011. « Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid and Insulin Sensitivity: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials ». *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)* 30 (6):702-7. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2011.08.013>.

Algood, Holly M. Scott, Shannon Sedberry Allen, Mary K. Washington, Richard M. Peek, Geraldine G. Miller, et Timothy L. Cover. 2009. « Regulation of Gastric B Cell Recruitment Is Dependent on IL-17 Receptor A Signaling in a Model of Chronic Bacterial Infection ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 183 (9):5837-46. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901206>.

Allam-Ndoul, Bénédicte, Frédéric Guénard, Olivier Barbier, et Marie-Claude Vohl. 2016. « Effect of N-3 Fatty Acids on the Expression of Inflammatory Genes in THP-1 Macrophages ». *Lipids in Health and Disease* 15 (avril):69. <https://doi.org/10.1186/s12944-016-0241-4>.

Allen, M. Jeannie, Yang-Yi Fan, Jennifer M. Monk, Tim Y. Hou, Rola Barhoumi, David N. McMurray, et Robert S. Chapkin. 2014. « N-3 PUFAs Reduce T-Helper 17 Cell Differentiation by Decreasing Responsiveness to Interleukin-6 in Isolated Mouse Splenic CD4⁺ T Cells ». *The Journal of Nutrition* 144 (8):1306-13. <https://doi.org/10.3945/jn.114.194407>.

Alligier, M., E. Meugnier, C. Debard, S. Lambert-Porcheron, E. Chanseume, M. Sothier, E. Loizon, et al. 2012. « Subcutaneous Adipose Tissue Remodeling during the Initial Phase of Weight Gain Induced by Overfeeding in Humans ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 97 (2):E183-192. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-2314>.

Alligier, Maud, Laure Gabert, Emmanuelle Meugnier, Stéphanie Lambert-Porcheron, Emilie Chanseume, Frank Pilleul, Cyrille Debard, et al. 2013. « Visceral Fat Accumulation during Lipid Overfeeding Is Related to Subcutaneous Adipose Tissue Characteristics in Healthy Men ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 98 (2):802-10. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-3289>.

Arita, Makoto, Masaru Yoshida, Song Hong, Eric Tjonahen, Jonathan N. Glickman, Nicos A. Petasis, Richard S. Blumberg, et Charles N. Serhan. 2005. « Resolvin E1, an Endogenous Lipid Mediator Derived from Omega-3 Eicosapentaenoic Acid, Protects against 2,4,6-Trinitrobenzene Sulfonic Acid-Induced Colitis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (21):7671-76. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409271102>.

Armoni, Michal, Chava Harel, Shiri Karni, Hui Chen, Fabiana Bar-Yoseph, Marel R. Ver, Michael J. Quon, et Eddy Karnieli. 2006. « FOXO1 Represses Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma1 and -Gamma2 Gene Promoters in Primary Adipocytes. A Novel Paradigm to Increase Insulin Sensitivity ». *The Journal of Biological Chemistry* 281 (29):19881-91. <https://doi.org/10.1074/jbc.M600320200>.

Azar, S. T., H. Tamim, H. N. Beyhum, M. Z. Habbal, et W. Y. Almawi. 1999. « Type I (Insulin-Dependent) Diabetes Is a Th1- and Th2-Mediated Autoimmune Disease ». *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 6 (3):306-10.

Babcock, Tricia A., Todd Novak, Evan Ong, David H. Jho, W. Scott Helton, et N. Joseph Espot. 2002. « Modulation of Lipopolysaccharide-Stimulated Macrophage Tumor Necrosis Factor-Alpha Production by Omega-3 Fatty Acid Is Associated with Differential Cyclooxygenase-2 Protein Expression and Is Independent of Interleukin-10 ». *The Journal of Surgical Research* 107 (1):135-39.

Bacchetta, Rosa, Federica Barzaghi, et Maria-Grazia Roncarolo. 2016. « From IPEX Syndrome to FOXP3 Mutation: A Lesson on Immune Dysregulation ». *Annals of the New York Academy of Sciences*, février. <https://doi.org/10.1111/nyas.13011>.

Baek, Sun Jin, Sung Keun Kang, et Jeong Chan Ra. 2011. « In Vitro Migration Capacity of Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Reflects Their Expression of Receptors for Chemokines and Growth Factors ». *Experimental & Molecular Medicine* 43 (10):596-603. <https://doi.org/10.3858/emm.2011.43.10.069>.

- Bagga, Dilprit, Ling Wang, Robin Farias-Eisner, John A. Glaspy, et Srinivasa T. Reddy. 2003. « Differential Effects of Prostaglandin Derived from Omega-6 and Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on COX-2 Expression and IL-6 Secretion ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (4):1751-56. <https://doi.org/10.1073/pnas.0334211100>.
- Baharlou, Rasoul, Abbas Ahmadi-Vasmehjani, Fatemeh Faraji, Mohammad Reza Atashzar, Mahshid Khoubyari, Salma Ahi, Saiedeh Erfanian, et Shadi-Sadat Navabi. 2017. « Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells in Rheumatoid Arthritis: Regulatory Effects on Peripheral Blood Mononuclear Cells Activation ». *International Immunopharmacology* 47 (juin):59-69. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.03.016>.
- Baker, Ella J., Elizabeth A. Miles, Graham C. Burdge, Parveen Yaqoob, et Philip C. Calder. 2016. « Metabolism and Functional Effects of Plant-Derived Omega-3 Fatty Acids in Humans ». *Progress in Lipid Research* 64:30-56. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2016.07.002>.
- Baker, P. W., et G. F. Gibbons. 2000. « Effect of Dietary Fish Oil on the Sensitivity of Hepatic Lipid Metabolism to Regulation by Insulin ». *Journal of Lipid Research* 41 (5):719-26.
- Barthels, Christian, Ana Ogrinc, Verena Steyer, Stefanie Meier, Ferdinand Simon, Maria Wimmer, Andreas Blutke, et al. 2017. « CD40-Signalling Abrogates Induction of ROR γ ⁺ Treg Cells by Intestinal CD103⁺ DCs and Causes Fatal Colitis ». *Nature Communications* 8 (mars):14715. <https://doi.org/10.1038/ncomms14715>.
- Bartholomew, Amelia, Cord Sturgeon, Mandy Siatskas, Karen Ferrer, Kevin McIntosh, Sheila Patil, Wayne Hardy, et al. 2002. « Mesenchymal Stem Cells Suppress Lymphocyte Proliferation in Vitro and Prolong Skin Graft Survival in Vivo ». *Experimental Hematology* 30 (1):42-48.
- Beccuti, Guglielmo, et Silvana Pannain. 2011. « Sleep and Obesity ». *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 14 (4):402-12. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e3283479109>.
- Belchior, Thiago, Vivian A. Paschoal, Juliana Magdalon, Patricia Chimin, Talita M. Farias, Adriano B. Chaves-Filho, Renata Gorjão, et al. 2015. « Omega-3 Fatty Acids Protect from Diet-Induced Obesity, Glucose Intolerance, and Adipose Tissue Inflammation through PPAR γ -Dependent and PPAR γ -Independent Actions ». *Molecular Nutrition & Food Research* 59 (5):957-67. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400914>.
- Benvenuto, Federica, Stefania Ferrari, Ezio Gerdoni, Francesca Gualandi, Francesco Frassoni, Vito Pistoia, Gianluigi Mancardi, et Antonio Uccelli. 2007. « Human Mesenchymal Stem Cells Promote Survival of T Cells in a Quiescent State ». *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 25 (7):1753-60. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0068>.
- Berger, Hélène, Frédérique Végran, Madijd Chikh, Federica Gilardi, Sylvain Ladoire, Hélène Bugaut, Grégoire Mignot, et al. 2013. « SOCS3 Transactivation by PPAR γ Prevents IL-17-Driven Cancer Growth ». *Cancer Research* 73 (12):3578-90. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-4018>.
- Bertola, Adeline, Thomas Ciucci, Déborah Rousseau, Virginie Bourlier, Carine Duffaut, Stéphanie Bonnafous, Claudine Blin-Wakkach, et al. 2012. « Identification of Adipose Tissue Dendritic Cells Correlated with Obesity-Associated Insulin-Resistance and Inducing Th17 Responses in Mice and Patients ». *Diabetes* 61 (9):2238-47. <https://doi.org/10.2337/db11-1274>.
- Bettelli, Estelle, Yijun Carrier, Wenda Gao, Thomas Korn, Terry B. Strom, Mohamed Oukka, Howard L. Weiner, et Vijay K. Kuchroo. 2006. « Reciprocal Developmental Pathways for the Generation of Pathogenic Effector TH17 and Regulatory T Cells ». *Nature* 441 (7090):235-38. <https://doi.org/10.1038/nature04753>.
- Beyth, Shaul, Zipora Borovsky, Dror Mevorach, Meir Liebergall, Zulma Gazit, Hadi Aslan, Eithan Galun, et Jacob Rachmilewitz. 2005. « Human Mesenchymal Stem Cells Alter Antigen-Presenting Cell Maturation and Induce T-Cell Unresponsiveness ». *Blood* 105 (5):2214-19. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-07-2921>.
- Blüher, Matthias. 2013. « Adipose Tissue Dysfunction Contributes to Obesity Related Metabolic Diseases ». *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism* 27 (2):163-77. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2013.02.005>.
- Bougaret, Lauriane, Laetitia Delort, Hermine Billard, Charlotte Lequeux, Nicolas Goncalves-Mendes, Ali Mojallal, Odile Damour, Marie-Paule Vasson, et Florence Caldefie-Chezet. 2017. « Supernatants of Adipocytes From Obese Versus Normal Weight Women and Breast Cancer Cells: In Vitro Impact on Angiogenesis ». *Journal of Cellular Physiology* 232 (7):1808-16. <https://doi.org/10.1002/jcp.25701>.
- Bourin, Philippe, Bruce A. Bunnell, Louis Casteilla, Massimo Dominici, Adam J. Katz, Keith L. March, Heinz Redl, J. Peter Rubin, Kotaro Yoshimura, et Jeffrey M. Gimble. 2013. « Stromal Cells from the Adipose Tissue-Derived Stromal Vascular Fraction and Culture Expanded Adipose Tissue-Derived Stromal/Stem Cells: A Joint Statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT) ». *Cytotherapy* 15 (6):641-48. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.02.006>.
- Bourlier, V., A. Zakaroff-Girard, A. Miranville, S. De Barros, M. Maumus, C. Sengenès, J. Galitzky, et al. 2008. « Remodeling Phenotype of Human Subcutaneous Adipose Tissue Macrophages ». *Circulation* 117 (6):806-15. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.724096>.
- Brucklacher-Waldert, Verena, Karin Steinbach, Michael Lioznov, Manuela Kolster, Christoph Hölscher, et Eva Tolosa. 2009. « Phenotypical Characterization of Human Th17 Cells Unambiguously Identified by Surface IL-17A

- Expression ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 183 (9):5494-5501. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901000>.
- Bryant, Nia J., Roland Govers, et David E. James. 2002. « Regulated Transport of the Glucose Transporter GLUT4 ». *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 3 (4):267-77. <https://doi.org/10.1038/nrm782>.
- Burke, Susan J., Michael D. Karlstad, Kellie M. Regal, Tim E. Sparer, Danhong Lu, Carrie M. Elks, Ryan W. Grant, Jacqueline M. Stephens, David H. Burk, et J. Jason Collier. 2015. « CCL20 Is Elevated during Obesity and Differentially Regulated by NF-KB Subunits in Pancreatic β -Cells ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms* 1849 (6):637-52. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2015.03.007>.
- Caër, Charles, Christine Rouault, Tiphaine Le Roy, Christine Poitou, Judith Aron-Wisniewsky, Adriana Torcivia, Jean-Christophe Bichet, Karine Clément, Michèle Guerre-Millo, et Sébastien André. 2017. « Immune Cell-Derived Cytokines Contribute to Obesity-Related Inflammation, Fibrogenesis and Metabolic Deregulation in Human Adipose Tissue ». *Scientific Reports* 7 (1):3000. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02660-w>.
- Calder, Philip C. 2006. « Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammation ». *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids* 75 (3):197-202. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2006.05.012>.
- . 2012. « Mechanisms of Action of (n-3) Fatty Acids ». *The Journal of Nutrition* 142 (3):592S-599S. <https://doi.org/10.3945/jn.111.155259>.
- . 2013. « N-3 Fatty Acids, Inflammation and Immunity: New Mechanisms to Explain Old Actions ». *The Proceedings of the Nutrition Society* 72 (3):326-36. <https://doi.org/10.1017/S0029665113001031>.
- . 2015. « Marine Omega-3 Fatty Acids and Inflammatory Processes: Effects, Mechanisms and Clinical Relevance ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1851 (4):469-84. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2014.08.010>.
- Campbell, J. J., J. Hedrick, A. Zlotnik, M. A. Siani, D. A. Thompson, et E. C. Butcher. 1998. « Chemokines and the Arrest of Lymphocytes Rolling under Flow Conditions ». *Science (New York, N.Y.)* 279 (5349):381-84.
- Canello, Raffaella, Joan Tordjman, Christine Poitou, Gaël Guilhem, Jean Luc Bouillot, Danielle Hugol, Christiane Coussieu, et al. 2006. « Increased Infiltration of Macrophages in Omental Adipose Tissue Is Associated with Marked Hepatic Lesions in Morbid Human Obesity ». *Diabetes* 55 (6):1554-61. <https://doi.org/10.2337/db06-0133>.
- Cani, Patrice D., Jacques Amar, Miguel Angel Iglesias, Marjorie Poggi, Claude Knauf, Delphine Bastelica, Audrey M. Neyrinck, et al. 2007. « Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance ». *Diabetes* 56 (7):1761-72. <https://doi.org/10.2337/db06-1491>.
- Cao, Haiming, Motohiro Sekiya, Meric Eriksi Ertunc, M. Furkan Burak, Jared R. Mayers, Ariel White, Karen Inouye, et al. 2013. « Adipocyte Lipid Chaperone AP2 Is a Secreted Adipokine Regulating Hepatic Glucose Production ». *Cell Metabolism* 17 (5):768-78. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.04.012>.
- Carolan, Eirin, Laura M. Tobin, Bozguna A. Mangan, Michelle Corrigan, Gadinthsware Gaoatswe, Greg Byrne, Justin Geoghegan, et al. 2015. « Altered Distribution and Increased IL-17 Production by Mucosal-Associated Invariant T Cells in Adult and Childhood Obesity ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 194 (12):5775-80. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402945>.
- Carr, Molly C., et John D. Brunzell. 2004. « Abdominal Obesity and Dyslipidemia in the Metabolic Syndrome: Importance of Type 2 Diabetes and Familial Combined Hyperlipidemia in Coronary Artery Disease Risk ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 89 (6):2601-7. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0432>.
- Caspar-Bauguil, S., B. Cousin, S. Bour, L. Casteilla, L. Castiella, L. Penicaud, et C. Carpené. 2009. « Adipose Tissue Lymphocytes: Types and Roles ». *Journal of Physiology and Biochemistry* 65 (4):423-36. <https://doi.org/10.1007/BF03185938>.
- Casteilla, Louis. 2011. « Adipose-Derived Stromal Cells: Their Identity and Uses in Clinical Trials, an Update ». *World Journal of Stem Cells* 3 (4):25. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v3.i4.25>.
- Castro, Ana Valeria B., Cathryn M. Kolka, Stella P. Kim, et Richard N. Bergman. 2014. « Obesity, Insulin Resistance and Comorbidities? Mechanisms of Association ». *Arquivos Brasileiros De Endocrinologia E Metabologia* 58 (6):600-609.
- Chang, Seon Hee, et Chen Dong. 2011. « Signaling of Interleukin-17 Family Cytokines in Immunity and Inflammation ». *Cellular Signalling* 23 (7):1069-75. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2010.11.022>.
- Chang, Seon Hee, Heon Park, et Chen Dong. 2006. « Act1 Adaptor Protein Is an Immediate and Essential Signaling Component of Interleukin-17 Receptor ». *The Journal of Biological Chemistry* 281 (47):35603-7. <https://doi.org/10.1074/jbc.C600256200>.
- Chehimi, Marwa, Hubert Vidal, et Assia Eljaafari. 2017a. « Pathogenic Role of IL-17-Producing Immune Cells in Obesity, and Related Inflammatory Diseases ». *Journal of Clinical Medicine* 6 (7). <https://doi.org/10.3390/jcm6070068>.
- . 2017b. « Pathogenic Role of IL-17-Producing Immune Cells in Obesity, and Related Inflammatory Diseases ». *Journal of Clinical Medicine* 6 (7). <https://doi.org/10.3390/jcm6070068>.

- Chen, Yanhong, Jie Tian, Xinyu Tian, Xinyi Tang, Ke Rui, Jia Tong, Liwei Lu, Huaxi Xu, et Shengjun Wang. 2014. « Adipose Tissue Dendritic Cells Enhances Inflammation by Prompting the Generation of Th17 Cells ». *PLoS One* 9 (3):e92450. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092450>.
- Chen, Zhi, Arian Laurence, Yuka Kanno, Margit Pacher-Zavisin, Bing-Mei Zhu, Cristina Tato, Akihiko Yoshimura, Lothar Hennighausen, et John J. O'Shea. 2006. « Selective Regulatory Function of Soes3 in the Formation of IL-17-Secreting T Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (21):8137-42. <https://doi.org/10.1073/pnas.0600666103>.
- Cho, John S., Eric M. Pietras, Nairy C. Garcia, Romela Irene Ramos, David M. Farzam, Holly R. Monroe, Julie E. Magorien, et al. 2010. « IL-17 Is Essential for Host Defense against Cutaneous Staphylococcus Aureus Infection in Mice ». *The Journal of Clinical Investigation* 120 (5):1762-73. <https://doi.org/10.1172/JCI40891>.
- Chon, S. Y., H. H. Hassanain, et S. L. Gupta. 1996. « Cooperative Role of Interferon Regulatory Factor 1 and P91 (STAT1) Response Elements in Interferon-Gamma-Inducible Expression of Human Indoleamine 2,3-Dioxygenase Gene ». *The Journal of Biological Chemistry* 271 (29):17247-52.
- Cinti, Saverio, Grant Mitchell, Giorgio Barbatelli, Incoronata Murano, Enzo Ceresi, Emanuela Faloi, Shupe Wang, Melanie Fortier, Andrew S. Greenberg, et Martin S. Obin. 2005. « Adipocyte Death Defines Macrophage Localization and Function in Adipose Tissue of Obese Mice and Humans ». *Journal of Lipid Research* 46 (11):2347-55. <https://doi.org/10.1194/jlr.M500294-JLR200>.
- Cipolletta, Daniela, Markus Feuerer, Amy Li, Nozomu Kamei, Jongsoon Lee, Steven E. Shoelson, Christophe Benoist, et Diane Mathis. 2012. « PPAR- γ Is a Major Driver of the Accumulation and Phenotype of Adipose Tissue Treg Cells ». *Nature* 486 (7404):549-53. <https://doi.org/10.1038/nature11132>.
- Clark, Eliot R., et Eleanor Linton Clark. 1940. « Microscopic Studies of the New Formation of Fat in Living Adult Rabbits ». *American Journal of Anatomy* 67 (2):255-85. <https://doi.org/10.1002/aja.1000670204>.
- Cleary, M. P., J. A. Brasel, et M. R. Greenwood. 1979. « Developmental Changes in Thymidine Kinase, DNA, and Fat Cellularity in Zucker Rats ». *The American Journal of Physiology* 236 (5):E508-513. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1979.236.5.E508>.
- Clément, K., C. Vaisse, N. Lahlou, S. Cabrol, V. Pelloux, D. Cassuto, M. Gourmelen, et al. 1998. « A Mutation in the Human Leptin Receptor Gene Causes Obesity and Pituitary Dysfunction ». *Nature* 392 (6674):398-401. <https://doi.org/10.1038/32911>.
- Codarri, Laura, Gabor Gyölvéski, Vinko Tosevski, Lysann Hesske, Adriano Fontana, Laurent Magnenat, Tobias Suter, et Burkhard Becher. 2011. « ROR γ t Drives Production of the Cytokine GM-CSF in Helper T Cells, Which Is Essential for the Effector Phase of Autoimmune Neuroinflammation ». *Nature Immunology* 12 (6):560-67. <https://doi.org/10.1038/ni.2027>.
- Constantin, Gabriela, Silvia Marconi, Barbara Rossi, Stefano Angiari, Laura Calderan, Elena Anghileri, Beatrice Gini, et al. 2009. « Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Ameliorate Chronic Experimental Autoimmune Encephalomyelitis ». *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 27 (10):2624-35. <https://doi.org/10.1002/stem.194>.
- Corcione, Anna, Federica Benvenuto, Elisa Ferretti, Debora Giunti, Valentina Cappiello, Francesco Cazzanti, Marco Risso, et al. 2006. « Human Mesenchymal Stem Cells Modulate B-Cell Functions ». *Blood* 107 (1):367-72. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-07-2657>.
- Cosmi, Lorenzo, Raffaele De Palma, Veronica Santarlasci, Laura Maggi, Manuela Capone, Francesca Frosali, Gabriella Rodolico, et al. 2008. « Human Interleukin 17-Producing Cells Originate from a CD161+CD4+ T Cell Precursor ». *The Journal of Experimental Medicine* 205 (8):1903-16. <https://doi.org/10.1084/jem.20080397>.
- Coulter, Felicity, Amy Parrish, Declan Manning, Beate Kampmann, Joseph Mendy, Mathieu Garand, David M. Lewinsohn, Eleanor M. Riley, et Jayne S. Sutherland. 2017. « IL-17 Production from T Helper 17, Mucosal-Associated Invariant T, and $\Gamma\delta$ Cells in Tuberculosis Infection and Disease ». *Frontiers in Immunology* 8:1252. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01252>.
- Cui, Lei, Shuo Yin, Wei Liu, Ningli Li, Wenjie Zhang, et Yilin Cao. 2007. « Expanded Adipose-Derived Stem Cells Suppress Mixed Lymphocyte Reaction by Secretion of Prostaglandin E2 ». *Tissue Engineering* 13 (6):1185-95. <https://doi.org/10.1089/ten.2006.0315>.
- Curat, C. A., V. Wegner, C. Sengenès, A. Miranville, C. Tonus, R. Busse, et A. Bouloumié. 2006. « Macrophages in Human Visceral Adipose Tissue: Increased Accumulation in Obesity and a Source of Resistin and Visfatin ». *Diabetologia* 49 (4):744-47. <https://doi.org/10.1007/s00125-006-0173-z>.
- Curat, Cyrille A., Alexandra Miranville, Coralie Sengenès, Michael Diehl, Carolin Tonus, Rudi Busse, et Anne Bouloumié. 2004. « From Blood Monocytes to Adipose Tissue-Resident Macrophages: Induction of Diapedesis by Human Mature Adipocytes ». *Diabetes* 53 (5):1285-92.
- Dalmas, Elise, Nicolas Venteclef, Charles Caer, Christine Poitou, Isabelle Cremer, Judith Aron-Wisniewsky, Sébastien Lacroix-Desmazes, et al. 2014. « T Cell-Derived IL-22 Amplifies IL-1 β -Driven Inflammation in Human Adipose Tissue: Relevance to Obesity and Type 2 Diabetes ». *Diabetes* 63 (6):1966-77. <https://doi.org/10.2337/db13-1511>.

- Dare, Shadrach, Daniel F. Mackay, et Jill P. Pell. 2015. « Relationship between Smoking and Obesity: A Cross-Sectional Study of 499,504 Middle-Aged Adults in the UK General Population ». Édité par Keitaro Matsuo. *PLOS ONE* 10 (4):e0123579. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123579>.
- Daval, Marie, Fabienne Fougelle, et Pascal Ferré. 2006. « Functions of AMP-Activated Protein Kinase in Adipose Tissue ». *The Journal of Physiology* 574 (Pt 1):55-62. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.111484>.
- De Caterina, R., et P. Libby. 1996. « Control of Endothelial Leukocyte Adhesion Molecules by Fatty Acids ». *Lipids* 31 Suppl (mars):S57-63.
- De Girolamo, L., D. Stanco, L. Salvatori, G. Coroniti, E. Arrigoni, G. Silecchia, M. A. Russo, S. Niada, E. Petrangeli, et A. T. Brini. 2013. « Stemness and Osteogenic and Adipogenic Potential Are Differently Impaired in Subcutaneous and Visceral Adipose Derived Stem Cells (ASCs) Isolated from Obese Donors ». *International Journal of Immunopathology and Pharmacology* 26 (1 Suppl):11-21. <https://doi.org/10.1177/03946320130260S103>.
- Deckelbaum, Richard J., Tilla S. Worgall, et Toru Seo. 2006. « N-3 Fatty Acids and Gene Expression ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 83 (6 Suppl):1520S-1525S.
- DelaRosa, Olga, Eleuterio Lombardo, Aitor Beraza, Pablo Mancheño-Corvo, Cristina Ramirez, Ramón Menta, Laura Rico, et al. 2009. « Requirement of IFN-Gamma-Mediated Indoleamine 2,3-Dioxygenase Expression in the Modulation of Lymphocyte Proliferation by Human Adipose-Derived Stem Cells ». *Tissue Engineering. Part A* 15 (10):2795-2806. <https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2008.0630>.
- Delarue, Jacques, Gwenola Allain-Jeannic, Sophie Guillerm, Céline Cruciani-Guglielmacci, Christophe Magnan, Marie-Pierre Moineau, et Valérie Le Guen. 2016. « Interaction of Low Dose of Fish Oil and Glucocorticoids on Insulin Sensitivity and Lipolysis in Healthy Humans: A Randomized Controlled Study ». *Molecular Nutrition & Food Research* 60 (4):886-96. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500469>.
- Di Nicola, Massimo, Carmelo Carlo-Stella, Michele Magni, Marco Milanese, Paolo D. Longoni, Paola Matteucci, Salvatore Grisanti, et Alessandro M. Gianni. 2002. « Human Bone Marrow Stromal Cells Suppress T-Lymphocyte Proliferation Induced by Cellular or Nonspecific Mitogenic Stimuli ». *Blood* 99 (10):3838-43.
- Djian, P., D. A. Roncari, et C. H. Hollenberg. 1985. « Adipocyte Precursor Clones Vary in Capacity for Differentiation ». *Metabolism: Clinical and Experimental* 34 (9):880-83.
- Dominici, M., K. Le Blanc, I. Mueller, I. Slaper-Cortenbach, Fc Marini, Ds Krause, Rj Deans, A. Keating, Dj Prockop, et Em Horwitz. 2006. « Minimal Criteria for Defining Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement ». *Cytotherapy* 8 (4):315-17. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>.
- Draper, Eve, Clare M. Reynolds, Mary Canavan, Kingston H. Mills, Christine E. Loscher, et Helen M. Roche. 2011. « Omega-3 Fatty Acids Attenuate Dendritic Cell Function via NF-KB Independent of PPAR γ ». *The Journal of Nutritional Biochemistry* 22 (8):784-90. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.06.009>.
- Drolet, R., C. Richard, A. D. Sniderman, J. Mailloux, M. Fortier, C. Huot, C. Rhéaume, et A. Tchernof. 2008. « Hypertrophy and Hyperplasia of Abdominal Adipose Tissues in Women ». *International Journal of Obesity (2005)* 32 (2):283-91. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803708>.
- Dubern, Beatrice, et Karine Clement. 2012. « Leptin and Leptin Receptor-Related Monogenic Obesity ». *Biochimie* 94 (10):2111-15. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.05.010>.
- Duffaut, Carine, Alexia Zakaroff-Girard, Virginie Bourlier, Pauline Decaunes, Marie Maumus, Patrick Chiotasso, Coralie Sengenès, Max Lafontan, Jean Galitzky, et Anne Bouloumié. 2009. « Interplay between Human Adipocytes and T Lymphocytes in Obesity: CCL20 as an Adipochemokine and T Lymphocytes as Lipogenic Modulators ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 29 (10):1608-14. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.109.192583>.
- Dusseaux, Mathilde, Emmanuel Martin, Nacer Serriari, Isabelle Péguillet, Virginie Premel, Delphine Louis, Maud Milder, et al. 2011. « Human MAIT Cells Are Xenobiotic-Resistant, Tissue-Targeted, CD161hi IL-17-Secreting T Cells ». *Blood* 117 (4):1250-59. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-08-303339>.
- Ebbesson, S. O., J. Kennish, L. Ebbesson, O. Go, et J. Yeh. 1999. « Diabetes Is Related to Fatty Acid Imbalance in Eskimos ». *International Journal of Circumpolar Health* 58 (2):108-19.
- Ebbesson, Sven O. E., Lars O. E. Ebbesson, Michael Swenson, John M. Kennish, et David C. Robbins. 2005. « A Successful Diabetes Prevention Study in Eskimos: The Alaska Siberia Project ». *International Journal of Circumpolar Health* 64 (4):409-24.
- Ebbesson, Sven O. E., Patricia M. Risica, Lars O. E. Ebbesson, John M. Kennish, et M. Elizabeth Tejero. 2005. « Omega-3 Fatty Acids Improve Glucose Tolerance and Components of the Metabolic Syndrome in Alaskan Eskimos: The Alaska Siberia Project ». *International Journal of Circumpolar Health* 64 (4):396-408.
- El-Behi, Mohamed, Bogoljub Ciric, Hong Dai, Yaping Yan, Melissa Cullimore, Farinaz Safavi, Guang-Xian Zhang, Bonnie N. Dittel, et Abdolmohamad Rostami. 2011. « The Encephalitogenicity of T(H)17 Cells Is Dependent on IL-1- and IL-23-Induced Production of the Cytokine GM-CSF ». *Nature Immunology* 12 (6):568-75. <https://doi.org/10.1038/ni.2031>.

- Eljaafari, Assia, Maud Robert, Marwa Chehimi, Stephanie Chanon, Christine Durand, Guillaume Vial, Nadia Bendridi, et al. 2015. « Adipose Tissue-Derived Stem Cells From Obese Subjects Contribute to Inflammation and Reduced Insulin Response in Adipocytes Through Differential Regulation of the Th1/Th17 Balance and Monocyte Activation ». *Diabetes* 64 (7):2477-88. <https://doi.org/10.2337/db15-0162>.
- Eljaafari, Assia, Marie-Laure Tartelin, Hanaa Aissaoui, Guillaume Chevrel, Bilal Osta, Fabien Lavocat, et Pierre Miossec. 2012a. « Bone Marrow-Derived and Synovium-Derived Mesenchymal Cells Promote Th17 Cell Expansion and Activation through Caspase 1 Activation: Contribution to the Chronicity of Rheumatoid Arthritis ». *Arthritis and Rheumatism* 64 (7):2147-57. <https://doi.org/10.1002/art.34391>.
- . 2012b. « Bone Marrow-Derived and Synovium-Derived Mesenchymal Cells Promote Th17 Cell Expansion and Activation through Caspase 1 Activation: Contribution to the Chronicity of Rheumatoid Arthritis ». *Arthritis and Rheumatism* 64 (7):2147-57. <https://doi.org/10.1002/art.34391>.
- Endo, Yusuke, Hikari K. Asou, Nao Matsugae, Kiyoshi Hirahara, Kenta Shinoda, Damon J. Tumes, Hirotake Tokuyama, Koutaro Yokote, et Toshinori Nakayama. 2015. « Obesity Drives Th17 Cell Differentiation by Inducing the Lipid Metabolic Kinase, ACC1 ». *Cell Reports* 12 (6):1042-55. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.07.014>.
- English, K., J. M. Ryan, L. Tobin, M. J. Murphy, F. P. Barry, et B. P. Mahon. 2009. « Cell Contact, Prostaglandin E(2) and Transforming Growth Factor Beta 1 Play Non-Redundant Roles in Human Mesenchymal Stem Cell Induction of CD4+CD25(High) Forkhead Box P3+ Regulatory T Cells ». *Clinical and Experimental Immunology* 156 (1):149-60. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.03874.x>.
- Enos, Reilly T., Kandy T. Velázquez, Jamie L. McClellan, Taryn L. Cranford, Michael D. Walla, et E. Angela Murphy. 2014. « Reducing the Dietary Omega-6:Omega-3 Utilizing α -Linolenic Acid; Not a Sufficient Therapy for Attenuating High-Fat-Diet-Induced Obesity Development Nor Related Detrimental Metabolic and Adipose Tissue Inflammatory Outcomes ». Édité par Thierry Alquier. *PLoS ONE* 9 (4):e94897. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094897>.
- Ertunc, Meric Eriksi, Jørgen Sikkeland, Federico Fenaroli, Gareth Griffiths, Mathew P. Daniels, Haiming Cao, Fahri Saatcioglu, et Gökhan S. Hotamisligil. 2015. « Secretion of Fatty Acid Binding Protein AP2 from Adipocytes through a Nonclassical Pathway in Response to Adipocyte Lipase Activity ». *Journal of Lipid Research* 56 (2):423-34. <https://doi.org/10.1194/jlr.M055798>.
- Fabbrini, Elisa, Marina Cella, Steve A. McCartney, Anja Fuchs, Nada A. Abumrad, Terri A. Pietka, Zhouji Chen, et al. 2013. « Association between Specific Adipose Tissue CD4+ T-Cell Populations and Insulin Resistance in Obese Individuals ». *Gastroenterology* 145 (2):366-374.e1-3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.04.010>.
- Fain, John N., Atul K. Madan, M. Lloyd Hiler, Paramjeet Cheema, et Suleiman W. Bahouth. 2004. « Comparison of the Release of Adipokines by Adipose Tissue, Adipose Tissue Matrix, and Adipocytes from Visceral and Subcutaneous Abdominal Adipose Tissues of Obese Humans ». *Endocrinology* 145 (5):2273-82. <https://doi.org/10.1210/en.2003-1336>.
- Faour, Wissam H., Arturo Mancini, Qing Wen He, et John A. Di Battista. 2003. « T-Cell-Derived Interleukin-17 Regulates the Level and Stability of Cyclooxygenase-2 (COX-2) mRNA through Restricted Activation of the P38 Mitogen-Activated Protein Kinase Cascade: Role of Distal Sequences in the 3'-Untranslated Region of COX-2 mRNA ». *The Journal of Biological Chemistry* 278 (29):26897-907. <https://doi.org/10.1074/jbc.M212790200>.
- Ferré, Pascal. 2004. « The Biology of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors: Relationship with Lipid Metabolism and Insulin Sensitivity ». *Diabetes* 53 Suppl 1 (février):S43-50.
- Feuerer, Markus, Laura Herrero, Daniela Cipolletta, Afia Naaz, Jamie Wong, Ali Nayer, Jongsoo Lee, et al. 2009. « Lean, but Not Obese, Fat Is Enriched for a Unique Population of Regulatory T Cells That Affect Metabolic Parameters ». *Nature Medicine* 15 (8):930-39. <https://doi.org/10.1038/nm.2002>.
- Finkelstein, Eric A., Olga A. Khavjou, Hope Thompson, Justin G. Trogon, Liping Pan, Bettylou Sherry, et William Dietz. 2012. « Obesity and Severe Obesity Forecasts through 2030 ». *American Journal of Preventive Medicine* 42 (6):563-70. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2011.10.026>.
- Flachs, P., O. Horakova, P. Brauner, M. Rossmeisl, P. Pecina, N. Franssen-van Hal, J. Ruzickova, et al. 2005. « Polyunsaturated Fatty Acids of Marine Origin Upregulate Mitochondrial Biogenesis and Induce Beta-Oxidation in White Fat ». *Diabetologia* 48 (11):2365-75. <https://doi.org/10.1007/s00125-005-1944-7>.
- Fleck, S. J. 1983. « Body Composition of Elite American Athletes ». *The American Journal of Sports Medicine* 11 (6):398-403. <https://doi.org/10.1177/036354658301100604>.
- Fontaine, Coralie, Wendy Cousin, Magali Plaisant, Christian Dani, et Pascal Peraldi. 2008. « Hedgehog Signaling Alters Adipocyte Maturation of Human Mesenchymal Stem Cells ». *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 26 (4):1037-46. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0974>.
- Fontenot, Jason D., Marc A. Gavin, et Alexander Y. Rudensky. 2003. « Foxp3 Programs the Development and Function of CD4+CD25+ Regulatory T Cells ». *Nature Immunology* 4 (4):330-36. <https://doi.org/10.1038/ni904>.

- Forman, B. M., J. Chen, et R. M. Evans. 1997. « Hypolipidemic Drugs, Polyunsaturated Fatty Acids, and Eicosanoids Are Ligands for Peroxisome Proliferator-Activated Receptors Alpha and Delta ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94 (9):4312-17.
- Fossiez, F., O. Djossou, P. Chomarat, L. Flores-Romo, S. Ait-Yahia, C. Maat, J. J. Pin, et al. 1996. « T Cell Interleukin-17 Induces Stromal Cells to Produce Proinflammatory and Hematopoietic Cytokines ». *The Journal of Experimental Medicine* 183 (6):2593-2603.
- Frayn, K. N., F. Karpe, B. A. Fielding, I. A. Macdonald, et S. W. Coppack. 2003. « Integrative Physiology of Human Adipose Tissue ». *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity* 27 (8):875-88. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802326>.
- Gaffen, Sarah L. 2008. « An Overview of IL-17 Function and Signaling ». *Cytokine* 43 (3):402-7. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2008.07.017>.
- . 2009. « Structure and Signalling in the IL-17 Receptor Family ». *Nature Reviews. Immunology* 9 (8):556-67. <https://doi.org/10.1038/nri2586>.
- Galipeau, Jacques, Mauro Krampera, John Barrett, Francesco Dazzi, Robert J. Deans, Joost DeBruin, Massimo Dominici, et al. 2016. « International Society for Cellular Therapy Perspective on Immune Functional Assays for Mesenchymal Stromal Cells as Potency Release Criterion for Advanced Phase Clinical Trials ». *Cytotherapy* 18 (2):151-59. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2015.11.008>.
- Gao, Hui, Fanny Volat, Lakshmi Sandhow, Jean Galitzky, Thuy Nguyen, David Esteve, Gaby Åström, et al. 2017. « CD36 Is a Marker of Human Adipocyte Progenitors with Pronounced Adipogenic and Triglyceride Accumulation Potential ». *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 35 (7):1799-1814. <https://doi.org/10.1002/stem.2635>.
- García-Alonso, Verónica, Cristina López-Vicario, Esther Titos, Eva Morán-Salvador, Ana González-Pérez, Bibiana Rius, Marcelina Párrizas, Oliver Werz, Vicente Arroyo, et Joan Clària. 2013. « Coordinate Functional Regulation between Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 (MPGES-1) and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ (PPAR γ) in the Conversion of White-to-Brown Adipocytes ». *The Journal of Biological Chemistry* 288 (39):28230-42. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.468603>.
- Garidou, Lucile, Céline Pomié, Pascale Klopp, Aurélie Waget, Julie Charpentier, Meryem Aloulou, Anaïs Giry, et al. 2015. « The Gut Microbiota Regulates Intestinal CD4 T Cells Expressing ROR γ t and Controls Metabolic Disease ». *Cell Metabolism* 22 (1):100-112. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.06.001>.
- Gaublomme, Jellert T., Nir Yosef, Youjin Lee, Rona S. Gertner, Li V. Yang, Chuan Wu, Pier Paolo Pandolfi, et al. 2015. « Single-Cell Genomics Unveils Critical Regulators of Th17 Cell Pathogenicity ». *Cell* 163 (6):1400-1412. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.11.009>.
- Gesta, Stephane, Yu-Hua Tseng, et C. Ronald Kahn. 2007. « Developmental Origin of Fat: Tracking Obesity to Its Source ». *Cell* 131 (2):242-56. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.004>.
- Ghannam, Soufiane, Jérôme Pène, Gabriel Moquet-Torcy, Gabriel Torcy-Moquet, Christian Jorgensen, et Hans Yssel. 2010a. « Mesenchymal Stem Cells Inhibit Human Th17 Cell Differentiation and Function and Induce a T Regulatory Cell Phenotype ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 185 (1):302-12. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902007>.
- . 2010b. « Mesenchymal Stem Cells Inhibit Human Th17 Cell Differentiation and Function and Induce a T Regulatory Cell Phenotype ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 185 (1):302-12. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902007>.
- Ghoreschi, Kamran, Arian Laurence, Xiang-Ping Yang, Cristina M. Tato, Mandy J. McGeachy, Joanne E. Konkel, Haydeé L. Ramos, et al. 2010. « Generation of Pathogenic T(H)17 Cells in the Absence of TGF- β Signalling ». *Nature* 467 (7318):967-71. <https://doi.org/10.1038/nature09447>.
- Gianfrancesco, Milena A., et Lisa F. Barcellos. 2016. « Obesity and Multiple Sclerosis Susceptibility: A Review ». *Journal of Neurology & Neuromedicine* 1 (7):1-5.
- Gimble, Jeffrey M., Adam J. Katz, et Bruce A. Bunnell. 2007. « Adipose-Derived Stem Cells for Regenerative Medicine ». *Circulation Research* 100 (9):1249-60. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000265074.83288.09>.
- Goh, Jorming, Kian Peng Goh, et Asghar Abbasi. 2016. « Exercise and Adipose Tissue Macrophages: New Frontiers in Obesity Research? » *Frontiers in Endocrinology* 7:65. <https://doi.org/10.3389/fendo.2016.00065>.
- González, Manuel A., Elena Gonzalez-Rey, Laura Rico, Dirk Büscher, et Mario Delgado. 2009. « Treatment of Experimental Arthritis by Inducing Immune Tolerance with Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells ». *Arthritis and Rheumatism* 60 (4):1006-19. <https://doi.org/10.1002/art.24405>.
- González-Pérez, Ana, Raquel Horrillo, Natàlia Ferré, Karsten Gronert, Baiyan Dong, Eva Morán-Salvador, Esther Titos, et al. 2009. « Obesity-Induced Insulin Resistance and Hepatic Steatosis Are Alleviated by Omega-3 Fatty Acids: A Role for Resolvins and Protectins ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 23 (6):1946-57. <https://doi.org/10.1096/fj.08-125674>.

- Gotoh, Chizu, Yeon-Hee Hong, Tomoyo Iga, Daisuke Hishikawa, Yasuki Suzuki, Sang-Houn Song, Ki-Choon Choi, et al. 2007. « The Regulation of Adipogenesis through GPR120 ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 354 (2):591-97. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.01.028>.
- Groeger, Alison L., Chiara Cipollina, Marsha P. Cole, Steven R. Woodcock, Gustavo Bonacci, Tanja K. Rudolph, Volker Rudolph, Bruce A. Freeman, et Francisco J. Schopfer. 2010. « Cyclooxygenase-2 Generates Anti-Inflammatory Mediators from Omega-3 Fatty Acids ». *Nature Chemical Biology* 6 (6):433-41. <https://doi.org/10.1038/nchembio.367>.
- Gu, Chunfang, Ling Wu, et Xiaoxia Li. 2013. « IL-17 Family: Cytokines, Receptors and Signaling ». *Cytokine* 64 (2):477-85. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2013.07.022>.
- Guerrero-García, José de Jesús, Lucrecia Carrera-Quintanar, Rocío Ivette López-Roa, Ana Laura Márquez-Aguirre, Argelia Esperanza Rojas-Mayorquín, et Daniel Ortuño-Sahagún. 2016. « Multiple Sclerosis and Obesity: Possible Roles of Adipokines ». *Mediators of Inflammation* 2016:4036232. <https://doi.org/10.1155/2016/4036232>.
- Gustafson, Birgit, Shahram Hedjazifar, Silvia Gogg, Ann Hammarstedt, et Ulf Smith. 2015. « Insulin Resistance and Impaired Adipogenesis ». *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM* 26 (4):193-200. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.01.006>.
- Haase, Julia, Ulrike Weyer, Kerstin Immig, Nora Klötting, Matthias Blüher, Jens Eilers, Ingo Bechmann, et Martin Gericke. 2014. « Local Proliferation of Macrophages in Adipose Tissue during Obesity-Induced Inflammation ». *Diabetologia* 57 (3):562-71. <https://doi.org/10.1007/s00125-013-3139-y>.
- Haghiac, Maricela, Xiao-hua Yang, Lorraine Presley, Shoi Smith, Shirley Dettelback, Judi Minium, Martha A. Belury, Patrick M. Catalano, et Sylvie Hauguel-de Mouzon. 2015. « Dietary Omega-3 Fatty Acid Supplementation Reduces Inflammation in Obese Pregnant Women: A Randomized Double-Blind Controlled Clinical Trial ». *PLoS One* 10 (9):e0137309. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137309>.
- Han, Kyu Hyun, Han Ro, Ju Ho Hong, Eun Mi Lee, Bumrae Cho, Hye Jung Yeom, Myung-Gyu Kim, Kook-Hwan Oh, Curie Ahn, et Jaeseok Yang. 2011. « Immunosuppressive Mechanisms of Embryonic Stem Cells and Mesenchymal Stem Cells in Alloimmune Response ». *Transplant Immunology* 25 (1):7-15. <https://doi.org/10.1016/j.trim.2011.05.004>.
- Hannibal, Tine D., Anja Schmidt-Christensen, Julia Nilsson, Nina Fransén-Pettersson, Lisbeth Hansen, et Dan Holmberg. 2017. « Deficiency in Plasmacytoid Dendritic Cells and Type I Interferon Signalling Prevents Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance in Mice ». *Diabetologia* 60 (10):2033-41. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4341-0>.
- Happel, Kyle I., Patricia J. Dubin, Mingquan Zheng, Nico Ghilardi, Christie Lockhart, Lee J. Quinton, Anthony R. Odden, et al. 2005. « Divergent Roles of IL-23 and IL-12 in Host Defense against *Klebsiella Pneumoniae* ». *The Journal of Experimental Medicine* 202 (6):761-69. <https://doi.org/10.1084/jem.20050193>.
- Harris, Timothy J., Joseph F. Grosso, Hung-Rong Yen, Hong Xin, Marcin Kortylewski, Emilia Albesiano, Edward L. Hipkiss, et al. 2007. « Cutting Edge: An in Vivo Requirement for STAT3 Signaling in TH17 Development and TH17-Dependent Autoimmunity ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 179 (7):4313-17.
- Hartweg, Janine, Andrew J. Farmer, Rury R. Holman, et Andrew Neil. 2009. « Potential Impact of Omega-3 Treatment on Cardiovascular Disease in Type 2 Diabetes ». *Current Opinion in Lipidology* 20 (1):30-38.
- Hayden, Matthew S., et Sankar Ghosh. 2012. « NF- κ B, the First Quarter-Century: Remarkable Progress and Outstanding Questions ». *Genes & Development* 26 (3):203-34. <https://doi.org/10.1101/gad.183434.111>.
- Hernandez, Jeniffer B., Christina Chang, Mathias LeBlanc, David Grimm, John Le Lay, Klaus H. Kaestner, Ye Zheng, et Marc Montminy. 2015. « The CREB/CRTC2 Pathway Modulates Autoimmune Disease by Promoting Th17 Differentiation ». *Nature Communications* 6 (juin):7216. <https://doi.org/10.1038/ncomms8216>.
- Heskey, C. E., K. Jaceldo-Siegl, J. Sabate, G. Fraser, et S. Rajaram. 2016. « Adipose Tissue -Linolenic Acid Is Inversely Associated with Insulin Resistance in Adults ». *American Journal of Clinical Nutrition* 103 (4):1105-10. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.118935>.
- Hirahara, Kiyoshi, et Toshinori Nakayama. 2016. « CD4⁺ T-Cell Subsets in Inflammatory Diseases: Beyond the Th1/Th2 Paradigm ». *International Immunology* 28 (4):163-71. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxw006>.
- Hirasawa, Akira, Keiko Tsumaya, Takeo Awaji, Susumu Katsuma, Tetsuya Adachi, Masateru Yamada, Yukihiko Sugimoto, Shunichi Miyazaki, et Gozoh Tsujimoto. 2005. « Free Fatty Acids Regulate Gut Incretin Glucagon-like Peptide-1 Secretion through GPR120 ». *Nature Medicine* 11 (1):90-94. <https://doi.org/10.1038/nm1168>.
- Hirota, Keiji, João H. Duarte, Marc Veldhoen, Eve Hornsby, Ying Li, Daniel J. Cua, Helena Ahlfors, et al. 2011. « Fate Mapping of IL-17-Producing T Cells in Inflammatory Responses ». *Nature Immunology* 12 (3):255-63. <https://doi.org/10.1038/ni.1993>.
- Hodson, Leanne, C. Murray Skeaff, et Barbara A. Fielding. 2008. « Fatty Acid Composition of Adipose Tissue and Blood in Humans and Its Use as a Biomarker of Dietary Intake ». *Progress in Lipid Research* 47 (5):348-80. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2008.03.003>.
- Hollenberg, C. H., et A. Vost. 1969. « Regulation of DNA Synthesis in Fat Cells and Stromal Elements from Rat Adipose Tissue ». *The Journal of Clinical Investigation* 47 (11):2485-98. <https://doi.org/10.1172/JCI105930>.

- Honczarenko, Marek, Yi Le, Marcin Swierkowski, Ionita Ghiran, Aleksandra M. Glodek, et Leslie E. Silberstein. 2006. « Human Bone Marrow Stromal Cells Express a Distinct Set of Biologically Functional Chemokine Receptors ». *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 24 (4):1030-41. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2005-0319>.
- Hong, Chun-Pyo, Areum Park, Bo-Gie Yang, Chang Ho Yun, Min-Jung Kwak, Gil-Woo Lee, Jung-Hwan Kim, et al. 2017. « Gut-Specific Delivery of T-Helper 17 Cells Reduces Obesity and Insulin Resistance in Mice ». *Gastroenterology* 152 (8):1998-2010. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.02.016>.
- Hosogai, Naomi, Atsunori Fukuhara, Kazuya Oshima, Yugo Miyata, Sachiyo Tanaka, Katsumori Segawa, Shigetada Furukawa, et al. 2007. « Adipose Tissue Hypoxia in Obesity and Its Impact on Adipocytokine Dysregulation ». *Diabetes* 56 (4):901-11. <https://doi.org/10.2337/db06-0911>.
- Hotamisligil, G. S., N. S. Shargill, et B. M. Spiegelman. 1993. « Adipose Expression of Tumor Necrosis Factor-Alpha: Direct Role in Obesity-Linked Insulin Resistance ». *Science (New York, N.Y.)* 259 (5091):87-91.
- Hou, Tim Y., David N. McMurray, et Robert S. Chapkin. 2016. « Omega-3 Fatty Acids, Lipid Rafts, and T Cell Signaling ». *European Journal of Pharmacology* 785 (août):2-9. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.03.091>.
- Huang, Weitao, Li Na, Paul L. Fidel, et Paul Schwarzenberger. 2004. « Requirement of Interleukin-17A for Systemic Anti-Candida Albicans Host Defense in Mice ». *The Journal of Infectious Diseases* 190 (3):624-31. <https://doi.org/10.1086/422329>.
- Huh, Jin Young, Yoon Jeong Park, Mira Ham, et Jae Bum Kim. 2014. « Crosstalk between Adipocytes and Immune Cells in Adipose Tissue Inflammation and Metabolic Dysregulation in Obesity ». *Molecules and Cells* 37 (5):365-71. <https://doi.org/10.14348/molcells.2014.0074>.
- Ibrahim, M. Mohsen. 2010. « Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Structural and Functional Differences ». *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity* 11 (1):11-18. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2009.00623.x>.
- Ibrahim, Mohammad Madani, Even Fjære, Erik-Jan Lock, Danielle Naville, Heidi Amlund, Emmanuelle Meugnier, Brigitte Le Magueresse Battistoni, et al. 2011. « Chronic Consumption of Farmed Salmon Containing Persistent Organic Pollutants Causes Insulin Resistance and Obesity in Mice ». *PLoS One* 6 (9):e25170. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025170>.
- Ibrahimi, Azeddine, et Nada A. Abumrad. 2002. « Role of CD36 in Membrane Transport of Long-Chain Fatty Acids ». *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 5 (2):139-45.
- Ichimura, Atsuhiko, Akira Hirasawa, Odile Poulain-Godefroy, Amélie Bonnefond, Takafumi Hara, Loïc Yengo, Ikuo Kimura, et al. 2012. « Dysfunction of Lipid Sensor GPR120 Leads to Obesity in Both Mouse and Human ». *Nature* 483 (7389):350-54. <https://doi.org/10.1038/nature10798>.
- Ichioaka, Masayuki, Takayoshi Suganami, Naoto Tsuda, Ibuki Shirakawa, Yoichiro Hirata, Noriko Satoh-Asahara, Yuri Shimoda, et al. 2011. « Increased Expression of Macrophage-Inducible C-Type Lectin in Adipose Tissue of Obese Mice and Humans ». *Diabetes* 60 (3):819-26. <https://doi.org/10.2337/db10-0864>.
- Isakson, Petter, Ann Hammarstedt, Birgit Gustafson, et Ulf Smith. 2009. « Impaired Preadipocyte Differentiation in Human Abdominal Obesity: Role of Wnt, Tumor Necrosis Factor-Alpha, and Inflammation ». *Diabetes* 58 (7):1550-57. <https://doi.org/10.2337/db08-1770>.
- Ishikawa, Makoto, Joji Kitayama, et Hirokazu Nagawa. 2004. « Enhanced Expression of Leptin and Leptin Receptor (OB-R) in Human Breast Cancer ». *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 10 (13):4325-31. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-03-0749>.
- Ishizuka, Tamotsu, Takeshi Hisada, Haruka Aoki, et Masatomo Mori. 2008. « Resolvin E1: A Novel Lipid Mediator in the Resolution of Allergic Airway Inflammation ». *Expert Review of Clinical Immunology* 4 (6):669-72. <https://doi.org/10.1586/1744666X.4.6.669>.
- Itariu, Bianca K., Maximilian Zeyda, Eva E. Hochbrugger, Angelika Neuhofer, Gerhard Prager, Karin Schindler, Arthur Bohdjalian, et al. 2012. « Long-Chain n-3 PUFAs Reduce Adipose Tissue and Systemic Inflammation in Severely Obese Nondiabetic Patients: A Randomized Controlled Trial ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 96 (5):1137-49. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.037432>.
- Ivanov, Ivaylo I., Brent S. McKenzie, Liang Zhou, Carlos E. Tadore, Alice Lepelley, Juan J. Lafaille, Daniel J. Cua, et Dan R. Littman. 2006. « The Orphan Nuclear Receptor ROR γ Directs the Differentiation Program of Proinflammatory IL-17+ T Helper Cells ». *Cell* 126 (6):1121-33. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.035>.
- Iwamoto, Sanju, Shin-ichi Iwai, Kazuko Tsujiyama, Chika Kurahashi, Kumiko Takeshita, Michio Naoe, Atsuko Masunaga, Yoshio Ogawa, Katsuji Oguchi, et Akira Miyazaki. 2007. « TNF-Alpha Drives Human CD14+ Monocytes to Differentiate into CD70+ Dendritic Cells Evoking Th1 and Th17 Responses ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 179 (3):1449-57.
- Jagannathan-Bogdan, Madhumita, Marie E. McDonnell, Hyunjin Shin, Qasim Rehman, Hatice Hasturk, Caroline M. Apovian, et Barbara S. Nikolajczyk. 2011. « Elevated Proinflammatory Cytokine Production by a Skewed T Cell Compartment Requires Monocytes and Promotes Inflammation in Type 2 Diabetes ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 186 (2):1162-72. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1002615>.

- Janeway, Charles A., et Ruslan Medzhitov. 2002. « Innate Immune Recognition ». *Annual Review of Immunology* 20:197-216. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359>.
- Jeffery, Louisa, Helena L. Fisk, Philip C. Calder, Andrew Filer, Karim Raza, Christopher D. Buckley, Iain McInnes, Peter C. Taylor, et Benjamin A. Fisher. 2017. « Plasma Levels of Eicosapentaenoic Acid Are Associated with Anti-TNF Responsiveness in Rheumatoid Arthritis and Inhibit the Etanercept-Driven Rise in Th17 Cell Differentiation in Vitro ». *The Journal of Rheumatology* 44 (6):748-56. <https://doi.org/10.3899/jrheum.161068>.
- Jelenik, Tomas, Martin Rossmesl, Ondrej Kuda, Zuzana Macek Jilkova, Dasa Medrikova, Vladimir Kus, Michal Hensler, et al. 2010. « AMP-Activated Protein Kinase A2 Subunit Is Required for the Preservation of Hepatic Insulin Sensitivity by n-3 Polyunsaturated Fatty Acids ». *Diabetes* 59 (11):2737-46. <https://doi.org/10.2337/db09-1716>.
- Jhun, Joo-Yeon, Bo-Young Yoon, Mi-Kyung Park, Hye-Joa Oh, Jae-Kyeong Byun, Seon-Young Lee, Jun-Ki Min, Sung-Hwan Park, Ho-Youn Kim, et Mi-La Cho. 2012. « Obesity Aggravates the Joint Inflammation in a Collagen-Induced Arthritis Model through Deviation to Th17 Differentiation ». *Experimental & Molecular Medicine* 44 (7):424. <https://doi.org/10.3858/emmm.2012.44.7.047>.
- Jucker, B. M., G. W. Cline, N. Barucci, et G. I. Shulman. 1999. « Differential Effects of Safflower Oil versus Fish Oil Feeding on Insulin-Stimulated Glycogen Synthesis, Glycolysis, and Pyruvate Dehydrogenase Flux in Skeletal Muscle: A ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Study ». *Diabetes* 48 (1):134-40.
- Kabir, Morvarid, Geraldine Skurnik, Nadia Naour, Valeria Pechtner, Emmanuelle Meugnier, Sophie Rome, Annie Quignard-Boulangé, et al. 2007. « Treatment for 2 Mo with n 3 Polyunsaturated Fatty Acids Reduces Adiposity and Some Atherogenic Factors but Does Not Improve Insulin Sensitivity in Women with Type 2 Diabetes: A Randomized Controlled Study ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 86 (6):1670-79.
- Kagawa, Y., M. Nishizawa, M. Suzuki, T. Miyatake, T. Hamamoto, K. Goto, E. Motonaga, H. Izumikawa, H. Hirata, et A. Ebihara. 1982. « Eicosapolyenoic Acids of Serum Lipids of Japanese Islanders with Low Incidence of Cardiovascular Diseases ». *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 28 (4):441-53.
- Kakudo, Natsuko, Naoki Morimoto, Takeshi Ogawa, Shigeru Taketani, et Kenji Kusumoto. 2015. « Hypoxia Enhances Proliferation of Human Adipose-Derived Stem Cells via HIF-1 α Activation ». *PloS One* 10 (10):e0139890. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139890>.
- Kalupahana, Nishan S., Kate J. Claycombe, et Naima Moustaid-Moussa. 2011. « (N-3) Fatty Acids Alleviate Adipose Tissue Inflammation and Insulin Resistance: Mechanistic Insights ». *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)* 2 (4):304-16. <https://doi.org/10.3945/an.111.000505>.
- Kalupahana, Nishan S., Kate Claycombe, Shelley J. Newman, Taryn Stewart, Nalin Siriwardhana, Nirupa Matthan, Alice H. Lichtenstein, et Naima Moustaid-Moussa. 2010. « Eicosapentaenoic Acid Prevents and Reverses Insulin Resistance in High-Fat Diet-Induced Obese Mice via Modulation of Adipose Tissue Inflammation ». *The Journal of Nutrition* 140 (11):1915-22. <https://doi.org/10.3945/jn.110.125732>.
- Kamei, Nozomu, Kazuyuki Tobe, Ryo Suzuki, Mitsuru Ohsugi, Taku Watanabe, Naoto Kubota, Norie Ohtsuka-Kawatari, et al. 2006. « Overexpression of Monocyte Chemoattractant Protein-1 in Adipose Tissues Causes Macrophage Recruitment and Insulin Resistance ». *The Journal of Biological Chemistry* 281 (36):26602-14. <https://doi.org/10.1074/jbc.M601284200>.
- Kanda, Hajime, Sanshiro Tateya, Yoshikazu Tamori, Ko Kotani, Ken-ichi Hiasa, Riko Kitazawa, Sohei Kitazawa, et al. 2006. « MCP-1 Contributes to Macrophage Infiltration into Adipose Tissue, Insulin Resistance, and Hepatic Steatosis in Obesity ». *The Journal of Clinical Investigation* 116 (6):1494-1505. <https://doi.org/10.1172/JCI26498>.
- Kang, Jing X., Jingdong Wang, Lin Wu, et Zhao B. Kang. 2004. « Transgenic Mice: Fat-1 Mice Convert n-6 to n-3 Fatty Acids ». *Nature* 427 (6974):504. <https://doi.org/10.1038/427504a>.
- Kang, Kihwa, Shannon M. Reilly, Volkan Karabacak, Matthew R. Gangl, Kelly Fitzgerald, Ben Hatano, et Chih-Hao Lee. 2008. « Adipocyte-Derived Th2 Cytokines and Myeloid PPARdelta Regulate Macrophage Polarization and Insulin Sensitivity ». *Cell Metabolism* 7 (6):485-95. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.04.002>.
- Kastelein, Robert A., Christopher A. Hunter, et Daniel J. Cua. 2007. « Discovery and Biology of IL-23 and IL-27: Related but Functionally Distinct Regulators of Inflammation ». *Annual Review of Immunology* 25:221-42. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.22.012703.104758>.
- Khalifoun, B., F. Thibault, H. Watier, P. Bardos, et Y. Lebranchu. 1997. « Docosahexaenoic and Eicosapentaenoic Acids Inhibit in Vitro Human Endothelial Cell Production of Interleukin-6 ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 400B:589-97.
- Kim, Hye-Kyeong, Maryanne Della-Fera, Ji Lin, et Clifton A. Baile. 2006. « Docosahexaenoic Acid Inhibits Adipocyte Differentiation and Induces Apoptosis in 3T3-L1 Preadipocytes ». *The Journal of Nutrition* 136 (12):2965-69.
- Kim, Jin-Hee, Yong Taek Lee, Keunhee Oh, Jaejin Cho, Dong-Sup Lee, et Young-il Hwang. 2014. « Paradoxical Effects of Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells on Progression of Experimental Arthritis in SKG Mice ». *Cellular Immunology* 292 (1-2):94-101. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2014.10.005>.

- Kim, Wooki, Yang-Yi Fan, Rola Barhoumi, Roger Smith, David N. McMurray, et Robert S. Chapkin. 2008. « N-3 Polyunsaturated Fatty Acids Suppress the Localization and Activation of Signaling Proteins at the Immunological Synapse in Murine CD4⁺ T Cells by Affecting Lipid Raft Formation ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 181 (9):6236-43.
- Kintscher, Ulrich, Martin Hartge, Katharina Hess, Anna Foryst-Ludwig, Markus Clemenz, Martin Wabitsch, Pamela Fischer-Posovszky, et al. 2008. « T-Lymphocyte Infiltration in Visceral Adipose Tissue: A Primary Event in Adipose Tissue Inflammation and the Development of Obesity-Mediated Insulin Resistance ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 28 (7):1304-10. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.108.165100>.
- Kliwer, S. A., S. S. Sundseth, S. A. Jones, P. J. Brown, G. B. Wisely, C. S. Koble, P. Devchand, et al. 1997. « Fatty Acids and Eicosanoids Regulate Gene Expression through Direct Interactions with Peroxisome Proliferator-Activated Receptors Alpha and Gamma ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94 (9):4318-23.
- Klotz, Luisa, Sven Burgdorf, Indra Dani, Kaoru Saijo, Juliane Flossdorf, Stephanie Hucke, Judith Alferink, et al. 2009. « The Nuclear Receptor PPAR Gamma Selectively Inhibits Th17 Differentiation in a T Cell-Intrinsic Fashion and Suppresses CNS Autoimmunity ». *The Journal of Experimental Medicine* 206 (10):2079-89. <https://doi.org/10.1084/jem.20082771>.
- Koenen, Tim B., Rinke Stienstra, Lambertus J. van Tits, Jacqueline de Graaf, Anton F. H. Stalenhoef, Leo A. B. Joosten, Cees J. Tack, et Mihai G. Netea. 2011. « Hyperglycemia Activates Caspase-1 and TXNIP-Mediated IL-1beta Transcription in Human Adipose Tissue ». *Diabetes* 60 (2):517-24. <https://doi.org/10.2337/db10-0266>.
- Kong, Weimin, Jui-Hung Yen, et Doina Ganea. 2011. « Docosahexaenoic Acid Prevents Dendritic Cell Maturation, Inhibits Antigen-Specific Th1/Th17 Differentiation and Suppresses Experimental Autoimmune Encephalomyelitis ». *Brain, Behavior, and Immunity* 25 (5):872-82. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.09.012>.
- Kong, Weimin, Jui-Hung Yen, Evros Vassiliou, Sabina Adhikary, Miguel G. Toscano, et Doina Ganea. 2010. « Docosahexaenoic Acid Prevents Dendritic Cell Maturation and in Vitro and in Vivo Expression of the IL-12 Cytokine Family ». *Lipids in Health and Disease* 9 (février):12. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-9-12>.
- Korn, Thomas, Estelle Bettelli, Wenda Gao, Amit Awasthi, Anneli Jäger, Terry B. Strom, Mohamed Oukka, et Vijay K. Kuchroo. 2007. « IL-21 Initiates an Alternative Pathway to Induce Proinflammatory T(H)17 Cells ». *Nature* 448 (7152):484-87. <https://doi.org/10.1038/nature05970>.
- Korn, Thomas, Estelle Bettelli, Mohamed Oukka, et Vijay K. Kuchroo. 2009. « IL-17 and Th17 Cells ». *Annual Review of Immunology* 27:485-517. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132710>.
- Krampera, Mauro, Lorenzo Cosmi, Roberta Angeli, Annalisa Pasini, Francesco Liotta, Angelo Andreini, Veronica Santarlasci, et al. 2006. « Role for Interferon-Gamma in the Immunomodulatory Activity of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells ». *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 24 (2):386-98. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2005-0008>.
- Krampera, Mauro, Sarah Glennie, Julian Dyson, Diane Scott, Ruthline Laylor, Elizabeth Simpson, et Francesco Dazzi. 2003. « Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Inhibit the Response of Naive and Memory Antigen-Specific T Cells to Their Cognate Peptide ». *Blood* 101 (9):3722-29. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-07-2104>.
- Kratz, Mario, Jessica N. Kuzma, Derek K. Hagman, Brian van Yserloo, Colleen C. Matthys, Holly S. Callahan, et David S. Weigle. 2013. « N3 PUFAs Do Not Affect Adipose Tissue Inflammation in Overweight to Moderately Obese Men and Women ». *The Journal of Nutrition* 143 (8):1340-47. <https://doi.org/10.3945/jn.113.174383>.
- Krausgruber, Thomas, Katrina Blazek, Tim Smallie, Saba Alzabin, Helen Lockstone, Natasha Sahgal, Tracy Hussell, Marc Feldmann, et Irina A. Udalova. 2011. « IRF5 Promotes Inflammatory Macrophage Polarization and TH1-TH17 Responses ». *Nature Immunology* 12 (3):231-38. <https://doi.org/10.1038/ni.1990>.
- Labaronne, Emmanuel, Claudie Pinteur, Nathalie Vega, Sandra Pesenti, Benoit Julien, Emmanuelle Meugnier-Fouilloux, Hubert Vidal, Danielle Naville, et Brigitte Le Magueresse-Battistoni. 2017. « Low-Dose Pollutant Mixture Triggers Metabolic Disturbances in Female Mice Leading to Common and Specific Features as Compared to a High-Fat Diet ». *The Journal of Nutritional Biochemistry* 45 (juillet):83-93. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.04.001>.
- Lagathu, C., L. Yvan-Charvet, J.-P. Bastard, M. Maachi, A. Quignard-Boulangé, J. Capeau, et M. Caron. 2006. « Long-Term Treatment with Interleukin-1beta Induces Insulin Resistance in Murine and Human Adipocytes ». *Diabetologia* 49 (9):2162-73. <https://doi.org/10.1007/s00125-006-0335-z>.
- Lagathu, Claire, Jean-Philippe Bastard, Martine Auclair, Mustapha Maachi, Jacqueline Capeau, et Martine Caron. 2003. « Chronic Interleukin-6 (IL-6) Treatment Increased IL-6 Secretion and Induced Insulin Resistance in Adipocyte: Prevention by Rosiglitazone ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 311 (2):372-79.
- Larocca, Rafael Assumpção, Pedro Manoel Moraes-Vieira, Enio José Bassi, Patricia Semedo, Danilo Candido de Almeida, Marina Burgos da Silva, Thomas Thornley, Alvaro Pacheco-Silva, et Niels Olsen Saraiva Câmara. 2013. « Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Increase Skin Allograft Survival and Inhibit Th-17 Immune Response ». *PLoS One* 8 (10):e76396. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076396>.

- Laurence, Arian, Cristina M. Tato, Todd S. Davidson, Yuka Kanno, Zhi Chen, Zhengju Yao, Rebecca B. Blank, et al. 2007. « Interleukin-2 Signaling via STAT5 Constrains T Helper 17 Cell Generation ». *Immunity* 26 (3):371-81. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.02.009>.
- Le Blanc, Katarina, Charlotte Tammik, Kerstin Rosendahl, Eva Zetterberg, et Olle Ringdén. 2003. « HLA Expression and Immunologic Properties of Differentiated and Undifferentiated Mesenchymal Stem Cells ». *Experimental Hematology* 31 (10):890-96.
- Lê, Kim-Anne, Swapna Mahurkar, Tanya L. Alderete, Rebecca E. Hasson, Tanja C. Adam, Joon Sung Kim, Elizabeth Beale, et al. 2011. « Subcutaneous Adipose Tissue Macrophage Infiltration Is Associated with Hepatic and Visceral Fat Deposition, Hyperinsulinemia, and Stimulation of NF- κ B Stress Pathway ». *Diabetes* 60 (11):2802-9. <https://doi.org/10.2337/db10-1263>.
- Lee, Byung-Cheol, et Jongsoo Lee. 2014. « Cellular and Molecular Players in Adipose Tissue Inflammation in the Development of Obesity-Induced Insulin Resistance ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1842 (3):446-62. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.05.017>.
- Lee, Eun Young, Ying Xia, Won-Serk Kim, Myoung Hee Kim, Tae Hwan Kim, Kea Jeung Kim, Byung-Soon Park, et Jong-Hyuk Sung. 2009. « Hypoxia-Enhanced Wound-Healing Function of Adipose-Derived Stem Cells: Increase in Stem Cell Proliferation and up-Regulation of VEGF and BFGF ». *Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* 17 (4):540-47. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2009.00499.x>.
- Lee, J. Y., K. H. Sohn, S. H. Rhee, et D. Hwang. 2001. « Saturated Fatty Acids, but Not Unsaturated Fatty Acids, Induce the Expression of Cyclooxygenase-2 Mediated through Toll-like Receptor 4 ». *The Journal of Biological Chemistry* 276 (20):16683-89. <https://doi.org/10.1074/jbc.M011695200>.
- Lee, Je, Hyungjae Lee, SeokBeom Kang, et Woo Park. 2016. « Fatty Acid Desaturases, Polyunsaturated Fatty Acid Regulation, and Biotechnological Advances ». *Nutrients* 8 (1):23. <https://doi.org/10.3390/nu8010023>.
- Lee, Ji Hyun, Dae Ho Cho, et Hyun Jeong Park. 2015. « IL-18 and Cutaneous Inflammatory Diseases ». *International Journal of Molecular Sciences* 16 (12):29357-69. <https://doi.org/10.3390/ijms161226172>.
- Lee, Jongsoo. 2013. « Adipose Tissue Macrophages in the Development of Obesity-Induced Inflammation, Insulin Resistance and Type 2 Diabetes ». *Archives of Pharmacal Research* 36 (2):208-22. <https://doi.org/10.1007/s12272-013-0023-8>.
- Lee, Mi Jeong, Jaeyoon Kim, Min Young Kim, Yoe-Sik Bae, Sung Ho Ryu, Taehoon G. Lee, et Jae Ho Kim. 2010. « Proteomic Analysis of Tumor Necrosis Factor-Alpha-Induced Secretome of Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells ». *Journal of Proteome Research* 9 (4):1754-62. <https://doi.org/10.1021/pr900898n>.
- Lee, Youjin, Amit Awasthi, Nir Yosef, Francisco J Quintana, Sheng Xiao, Anneli Peters, Chuan Wu, et al. 2012. « Induction and molecular signature of pathogenic TH17 cells ». *Nature Immunology* 13 (10):991-99. <https://doi.org/10.1038/ni.2416>.
- Lee, Yun Kyung, Ashley E. Landuyt, Stefani Lobionda, Panida Sittipo, Qing Zhao, et Craig L. Maynard. 2017. « TCR-Independent Functions of Th17 Cells Mediated by the Synergistic Actions of Cytokines of the IL-12 and IL-1 Families ». *PLoS One* 12 (10):e0186351. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186351>.
- LeMieux, Monique J., Nishan S. Kalupahana, Shane Scoggin, et Naima Moustaid-Moussa. 2015. « Eicosapentaenoic Acid Reduces Adipocyte Hypertrophy and Inflammation in Diet-Induced Obese Mice in an Adiposity-Independent Manner ». *The Journal of Nutrition* 145 (3):411-17. <https://doi.org/10.3945/jn.114.202952>.
- Li, Jia, Ying Chen, Zhibo Chen, Yuanyuan Huang, Dehao Yang, Zhongqian Su, Yiyun Weng, Xiang Li, et Xu Zhang. 2017. « Therapeutic Effects of Human Adipose Tissue-Derived Stem Cell (HADSC) Transplantation on Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE) Mice ». *Scientific Reports* 7 (février):42695. <https://doi.org/10.1038/srep42695>.
- Li, Jing-kun, Lin Nie, Yun-peng Zhao, Yuan-qiang Zhang, Xiaoqing Wang, Shuai-shuai Wang, Yi Liu, Hua Zhao, et Lei Cheng. 2016. « IL-17 Mediates Inflammatory Reactions via P38/c-Fos and JNK/c-Jun Activation in an AP-1-Dependent Manner in Human Nucleus Pulposus Cells ». *Journal of Translational Medicine* 14 (mars):77. <https://doi.org/10.1186/s12967-016-0833-9>.
- Li, Qiang, Aijun Zhang, Changbo Tao, Xueyang Li, et Peisheng Jin. 2013. « The Role of SDF-1-CXCR4/CXCR7 Axis in Biological Behaviors of Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells in Vitro ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 441 (3):675-80. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.10.071>.
- Li, Xue, Xiaoxiao Lu, Deming Sun, Xilian Wang, Liyuan Yang, Shaozhen Zhao, Hong Nian, et Ruihua Wei. 2016. « Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Reduce Lymphocytic Infiltration in a Rabbit Model of Induced Autoimmune Dacryoadenitis ». *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 57 (13):5161-70. <https://doi.org/10.1167/iovs.15-17824>.
- Lin, Ang, Guan Wang, Huajun Zhao, Yuyi Zhang, Qiuju Han, Cai Zhang, Zhigang Tian, et Jian Zhang. 2016. « TLR4 Signaling Promotes a COX-2/PGE2/STAT3 Positive Feedback Loop in Hepatocellular Carcinoma (HCC) Cells ». *Oncoimmunology* 5 (2):e1074376. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2015.1074376>.

- Lin, Keng-Mean, Wei Hu, Ty Dale Troutman, Michelle Jennings, Travis Brewer, Xiaoxia Li, Sambit Nanda, Philip Cohen, James A. Thomas, et Chandrashekhar Pasare. 2014. « IRAK-1 Bypasses Priming and Directly Links TLRs to Rapid NLRP3 Inflammasome Activation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (2):775-80. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320294111>.
- Liu, Shenping, Xi Song, Boris A. Chrnyk, Suman Shanker, Lise R. Hoth, Eric S. Marr, et Matthew C. Griffor. 2013. « Crystal Structures of Interleukin 17A and Its Complex with IL-17 Receptor A ». *Nature Communications* 4:1888. <https://doi.org/10.1038/ncomms2880>.
- Liu, Ying-Hua, Xiang-Yong Li, Chih-Yu Chen, Hong-Man Zhang, et Jing X. Kang. 2015. « Omega-3 Fatty Acid Intervention Suppresses Lipopolysaccharide-Induced Inflammation and Weight Loss in Mice ». *Marine Drugs* 13 (2):1026-36. <https://doi.org/10.3390/md13021026>.
- Liu, Yueqin, Li-Yuan Chen, Milena Sokolowska, Michael Eberlein, Sara Alsaaty, Asuncion Martinez-Anton, Carolea Logun, Hai-Yan Qi, et James H. Shelhamer. 2014. « The Fish Oil Ingredient, Docosahexaenoic Acid, Activates Cytosolic Phospholipase A₂ via GPR120 Receptor to Produce Prostaglandin E₂ and Plays an Anti-Inflammatory Role in Macrophages ». *Immunology* 143 (1):81-95. <https://doi.org/10.1111/imm.12296>.
- Lopez-Santalla, Mercedes, Pablo Mancheño-Corvo, Ramon Menta, Juan Lopez-Belmonte, Olga DelaRosa, Juan A. Bueren, Wilfried Dalemans, Eleuterio Lombardo, et Marina I. Garin. 2015. « Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Modulate Experimental Autoimmune Arthritis by Modifying Early Adaptive T Cell Responses ». *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 33 (12):3493-3503. <https://doi.org/10.1002/stem.2113>.
- Lopez-Santalla, Mercedes, Ramon Menta, Pablo Mancheño-Corvo, Juan Lopez-Belmonte, Olga DelaRosa, Juan A. Bueren, Wilfried Dalemans, Eleuterio Lombardo, et Marina I. Garin. 2016. « Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cells Modulate Experimental Autoimmune Arthritis by Inducing an Early Regulatory Innate Cell Signature ». *Immunity, Inflammation and Disease* 4 (2):213-24. <https://doi.org/10.1002/iid3.106>.
- Lord, G. M. 2005. « T-Bet Is Required for Optimal Proinflammatory CD4⁺ T-Cell Trafficking ». *Blood* 106 (10):3432-39. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-04-1393>.
- Lorente-Cebrián, Silvia, Matilde Bustos, Amelia Marti, J. Alfredo Martinez, et Maria J. Moreno-Aliaga. 2009. « Eicosapentaenoic Acid Stimulates AMP-Activated Protein Kinase and Increases Visfatin Secretion in Cultured Murine Adipocytes ». *Clinical Science (London, England: 1979)* 117 (6):243-49. <https://doi.org/10.1042/CS20090020>.
- Lu, Ying-Jie, Jane Gross, Debby Bogaert, Adam Finn, Linda Bagraade, Qibo Zhang, Jay K. Kolls, et al. 2008. « Interleukin-17A Mediates Acquired Immunity to Pneumococcal Colonization ». *PLoS Pathogens* 4 (9):e1000159. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000159>.
- Lumeng, Carey N., Jennifer L. Bodzin, et Alan R. Saltiel. 2007. « Obesity Induces a Phenotypic Switch in Adipose Tissue Macrophage Polarization ». *The Journal of Clinical Investigation* 117 (1):175-84. <https://doi.org/10.1172/JCI29881>.
- Lumeng, Carey N., Jennifer B. DelProposto, Daniel J. Westcott, et Alan R. Saltiel. 2008. « Phenotypic Switching of Adipose Tissue Macrophages with Obesity Is Generated by Spatiotemporal Differences in Macrophage Subtypes ». *Diabetes* 57 (12):3239-46. <https://doi.org/10.2337/db08-0872>.
- Luz-Crawford, Patricia, Monica Kurte, Javiera Bravo-Alegría, Rafael Contreras, Estefania Nova-Lamperti, Gautier Tejedor, Danièle Noël, et al. 2013. « Mesenchymal Stem Cells Generate a CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Regulatory T Cell Population during the Differentiation Process of Th1 and Th17 Cells ». *Stem Cell Research & Therapy* 4 (3):65. <https://doi.org/10.1186/scrt216>.
- Magalhaes, Isabelle, et Agnès Lehuen. 2015. « Les lymphocytes MAIT dans le diabète de type 2 et l'obésité ». *médecine/sciences* 31 (8-9):717-19. <https://doi.org/10.1051/medsci/20153108005>.
- Magalhaes, Isabelle, Karine Pingris, Christine Poitou, Stéphanie Bessoles, Nicolas Venticlef, Badr Kiaf, Lucie Beaudoin, et al. 2015a. « Mucosal-Associated Invariant T Cell Alterations in Obese and Type 2 Diabetic Patients ». *The Journal of Clinical Investigation* 125 (4):1752-62. <https://doi.org/10.1172/JCI78941>.
- . 2015b. « Mucosal-Associated Invariant T Cell Alterations in Obese and Type 2 Diabetic Patients ». *The Journal of Clinical Investigation* 125 (4):1752-62. <https://doi.org/10.1172/JCI78941>.
- Marchi, J., M. Berg, A. Dencker, E. K. Olander, et C. Begley. 2015. « Risks Associated with Obesity in Pregnancy, for the Mother and Baby: A Systematic Review of Reviews ». *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity* 16 (8):621-38. <https://doi.org/10.1111/obr.12288>.
- Martínez-Fernández, Leyre, Laura M. Laiglesia, Ana E. Huerta, J. Alfredo Martínez, et María J. Moreno-Aliaga. 2015. « Omega-3 Fatty Acids and Adipose Tissue Function in Obesity and Metabolic Syndrome ». *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* 121 (Pt A):24-41. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2015.07.003>.
- Maumus, M, J-A Peyrafitte, R D'Angelo, C Fournier-Wirth, A Bouloumié, L Casteilla, C Sengenès, et P Bourin. 2011. « Native human adipose stromal cells: localization, morphology and phenotype ». *International Journal of Obesity* 35 (9):1141-53. <https://doi.org/10.1038/ijo.2010.269>.
- Maumus, Marie, Coralie Sengenès, Pauline Decaunes, Alexia Zakaroff-Girard, Virginie Bourlier, Max Lafontan, Jean Galitzky, et Anne Bouloumié. 2008. « Evidence of in Situ Proliferation of Adult Adipose Tissue-Derived

- Progenitor Cells: Influence of Fat Mass Microenvironment and Growth ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 93 (10):4098-4106. <https://doi.org/10.1210/jc.2008-0044>.
- McGeachy, Mandy J., Kristian S. Bak-Jensen, Yi Chen, Cristina M. Tato, Wendy Blumenschein, Terrill McClanahan, et Daniel J. Cua. 2007. « TGF-Beta and IL-6 Drive the Production of IL-17 and IL-10 by T Cells and Restrain T(H)-17 Cell-Mediated Pathology ». *Nature Immunology* 8 (12):1390-97. <https://doi.org/10.1038/ni1539>.
- McLaughlin, Tracey, Li-Fen Liu, Cindy Lamendola, Lei Shen, John Morton, Homero Rivas, Daniel Winer, et al. 2014. « T-Cell Profile in Adipose Tissue Is Associated with Insulin Resistance and Systemic Inflammation in Humans ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 34 (12):2637-43. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.304636>.
- McQuaid, Siobhán E., Leanne Hodson, Matthew J. Neville, A. Louise Dennis, Jane Cheeseman, Sandy M. Humphreys, Toralph Ruge, et al. 2011. « Downregulation of Adipose Tissue Fatty Acid Trafficking in Obesity: A Driver for Ectopic Fat Deposition? » *Diabetes* 60 (1):47-55. <https://doi.org/10.2337/db10-0867>.
- Medzhitov, R., P. Preston-Hurlburt, E. Kopp, A. Stadlen, C. Chen, S. Ghosh, et C. A. Janeway. 1998. « MyD88 Is an Adaptor Protein in the HToll/IL-1 Receptor Family Signaling Pathways ». *Molecular Cell* 2 (2):253-58.
- Melief, Sara M., Jaap Jan Zwaginga, Willem E. Fibbe, et Helene Roelofs. 2013. « Adipose Tissue-Derived Multipotent Stromal Cells Have a Higher Immunomodulatory Capacity than Their Bone Marrow-Derived Counterparts ». *Stem Cells Translational Medicine* 2 (6):455-63. <https://doi.org/10.5966/sctm.2012-0184>.
- Mellor, Andrew L., et David H. Munn. 2004. « IDO Expression by Dendritic Cells: Tolerance and Tryptophan Catabolism ». *Nature Reviews. Immunology* 4 (10):762-74. <https://doi.org/10.1038/nri1457>.
- Michalek, Ryan D., Valerie A. Gerriets, Sarah R. Jacobs, Andrew N. Macintyre, Nancie J. MacIver, Emily F. Mason, Sarah A. Sullivan, Amanda G. Nichols, et Jeffrey C. Rathmell. 2011. « Cutting Edge: Distinct Glycolytic and Lipid Oxidative Metabolic Programs Are Essential for Effector and Regulatory CD4⁺ T Cell Subsets ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 186 (6):3299-3303. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1003613>.
- Mitterberger, Maria C., Monika Mattesich, et Werner Zwerschke. 2014. « Bariatric Surgery and Diet-Induced Long-Term Caloric Restriction Protect Subcutaneous Adipose-Derived Stromal/Progenitor Cells and Prolong Their Life Span in Formerly Obese Humans ». *Experimental Gerontology* 56 (août):106-13. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2014.03.030>.
- Mocanu, Andreea Oana, Anny Mulya, Hazel Huang, Olivia Dan, Hideharu Shimizu, Esam Batayyah, Stacy A. Brethauer, Anca Dinischiotu, et John P. Kirwan. 2015. « Effect of Roux-En-Y Gastric Bypass on the NLRP3 Inflammasome in Adipose Tissue from Obese Rats ». *PloS One* 10 (10):e0139764. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139764>.
- Monk, Jennifer M., Tim Y. Hou, Harmony F. Turk, David N. McMurray, et Robert S. Chapkin. 2013a. « N3 PUFAs Reduce Mouse CD4⁺ T-Cell Ex Vivo Polarization into Th17 Cells ». *The Journal of Nutrition* 143 (9):1501-8. <https://doi.org/10.3945/jn.113.178178>.
- . 2013b. « N3 PUFAs Reduce Mouse CD4⁺ T-Cell Ex Vivo Polarization into Th17 Cells ». *The Journal of Nutrition* 143 (9):1501-8. <https://doi.org/10.3945/jn.113.178178>.
- Monk, Jennifer M., Tim Y. Hou, Harmony F. Turk, Brad Weeks, Chaodong Wu, David N. McMurray, et Robert S. Chapkin. 2012a. « Dietary N-3 Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA) Decrease Obesity-Associated Th17 Cell-Mediated Inflammation during Colitis ». *PloS One* 7 (11):e49739. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049739>.
- . 2012b. « Dietary N-3 Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA) Decrease Obesity-Associated Th17 Cell-Mediated Inflammation during Colitis ». *PloS One* 7 (11):e49739. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049739>.
- Monk, Jennifer M., Danyelle M. Liddle, Anna A. De Boer, Morgan J. Brown, Krista A. Power, David Wl Ma, et Lindsay E. Robinson. 2015. « Fish-Oil-Derived n-3 PUFAs Reduce Inflammatory and Chemotactic Adipokine-Mediated Cross-Talk between Co-Cultured Murine Splenic CD8⁺ T Cells and Adipocytes ». *The Journal of Nutrition* 145 (4):829-38. <https://doi.org/10.3945/jn.114.205443>.
- Monk, Jennifer M., Harmony F. Turk, Yang-Yi Fan, Evelyn Callaway, Brad Weeks, Peiyang Yang, David N. McMurray, et Robert S. Chapkin. 2014. « Antagonizing Arachidonic Acid-Derived Eicosanoids Reduces Inflammatory Th17 and Th1 Cell-Mediated Inflammation and Colitis Severity ». *Mediators of Inflammation* 2014:917149. <https://doi.org/10.1155/2014/917149>.
- Morigny, Pauline, Marianne Houssier, Etienne Mouisel, et Dominique Langin. 2016. « Adipocyte Lipolysis and Insulin Resistance ». *Biochimie* 125 (juin):259-66. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.10.024>.
- Morris, David L., Kae Won Cho, Jennifer L. Delpososto, Kelsie E. Oatmen, Lynn M. Geletka, Gabriel Martinez-Santibanez, Kanakadurga Singer, et Carey N. Lumeng. 2013. « Adipose Tissue Macrophages Function as Antigen-Presenting Cells and Regulate Adipose Tissue CD4⁺ T Cells in Mice ». *Diabetes* 62 (8):2762-72. <https://doi.org/10.2337/db12-1404>.
- Moschen, Alexander R., Clemens Molnar, Sabine Geiger, Ivo Graziadei, Christoph F. Ebenbichler, Helmut Weiss, Susanne Kaser, Arthur Kaser, et Herbert Tilg. 2010. « Anti-Inflammatory Effects of Excessive Weight Loss:

- Potent Suppression of Adipose Interleukin 6 and Tumour Necrosis Factor Alpha Expression ». *Gut* 59 (9):1259-64. <https://doi.org/10.1136/gut.2010.214577>.
- Moseti, Dorothy, Alemu Regassa, et Woo-Kyun Kim. 2016. « Molecular Regulation of Adipogenesis and Potential Anti-Adipogenic Bioactive Molecules ». *International Journal of Molecular Sciences* 17 (1):124. <https://doi.org/10.3390/ijms17010124>.
- Murali, Ganesan, Cyrus V. Desouza, Michelle E. Clevenger, Ramesh Ramalingam, et Viswanathan Saraswathi. 2014. « Differential Effects of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid in Promoting the Differentiation of 3T3-L1 Preadipocytes ». *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids* 90 (1):13-21. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2013.10.002>.
- Muramatsu, Takashi, Hiroshi Yatsuya, Hideaki Toyoshima, Satoshi Sasaki, Yuanying Li, Rei Otsuka, Keiko Wada, et al. 2010. « Higher Dietary Intake of Alpha-Linolenic Acid Is Associated with Lower Insulin Resistance in Middle-Aged Japanese ». *Preventive Medicine* 50 (5-6):272-76. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2010.02.014>.
- Murdolo, Giuseppe, Desirée Bartolini, Cristina Tortoli, Marta Piroddi, Luigi Iuliano, et Francesco Galli. 2013. « Lipokines and Oxysterols: Novel Adipose-Derived Lipid Hormones Linking Adipose Dysfunction and Insulin Resistance ». *Free Radical Biology & Medicine* 65 (décembre):811-20. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.007>.
- Murray, Peter J., et Thomas A. Wynn. 2011. « Protective and Pathogenic Functions of Macrophage Subsets ». *Nature Reviews. Immunology* 11 (11):723-37. <https://doi.org/10.1038/nri3073>.
- Naderali, Ebrahim K., Stuart H. Ratcliffe, et Mark C. Dale. 2009. « Obesity and Alzheimer's Disease: A Link between Body Weight and Cognitive Function in Old Age ». *American Journal of Alzheimer's Disease and Other Dementias* 24 (6):445-49. <https://doi.org/10.1177/1533317509348208>.
- Nair, S., Y. H. Lee, E. Rousseau, M. Cam, P. A. Tataranni, L. J. Baier, C. Bogardus, et P. A. Permana. 2005. « Increased Expression of Inflammation-Related Genes in Cultured Preadipocytes/Stromal Vascular Cells from Obese Compared with Non-Obese Pima Indians ». *Diabetologia* 48 (9):1784-88. <https://doi.org/10.1007/s00125-005-1868-2>.
- Najar, Mehdi, Mohammad Krayem, Nathalie Meuleman, Dominique Bron, et Laurence Lagneaux. 2017. « Mesenchymal Stromal Cells and Toll-Like Receptor Priming: A Critical Review ». *Immune Network* 17 (2):89-102. <https://doi.org/10.4110/in.2017.17.2.89>.
- Najar, Mehdi, Redouane Rouas, Gordana Raicevic, Hichame Id Boufker, Philippe Lewalle, Nathalie Meuleman, Dominique Bron, Michel Toungouz, Philippe Martiat, et Laurence Lagneaux. 2009. « Mesenchymal Stromal Cells Promote or Suppress the Proliferation of T Lymphocytes from Cord Blood and Peripheral Blood: The Importance of Low Cell Ratio and Role of Interleukin-6 ». *Cytotherapy* 11 (5):570-83. <https://doi.org/10.1080/14653240903079377>.
- Németh, Krisztián, Asada Leelahavanichkul, Peter S. T. Yuen, Balázs Mayer, Alissa Parmelee, Kent Doi, Pamela G. Robey, et al. 2009. « Bone Marrow Stromal Cells Attenuate Sepsis via Prostaglandin E(2)-Dependent Reprogramming of Host Macrophages to Increase Their Interleukin-10 Production ». *Nature Medicine* 15 (1):42-49. <https://doi.org/10.1038/nm.1905>.
- Nicolau, Dan V., Kevin Burrage, Robert G. Parton, et John F. Hancock. 2006. « Identifying Optimal Lipid Raft Characteristics Required to Promote Nanoscale Protein-Protein Interactions on the Plasma Membrane ». *Molecular and Cellular Biology* 26 (1):313-23. <https://doi.org/10.1128/MCB.26.1.313-323.2006>.
- Nishimura, Satoshi, Ichiro Manabe, Mika Nagasaki, Koji Eto, Hiroshi Yamashita, Mitsuru Ohsugi, Makoto Otsu, et al. 2009. « CD8+ Effector T Cells Contribute to Macrophage Recruitment and Adipose Tissue Inflammation in Obesity ». *Nature Medicine* 15 (8):914-20. <https://doi.org/10.1038/nm.1964>.
- Nishimura, Satoshi, Ichiro Manabe, Mika Nagasaki, Kinya Seo, Hiroshi Yamashita, Yumiko Hosoya, Mitsuru Ohsugi, et al. 2008. « In Vivo Imaging in Mice Reveals Local Cell Dynamics and Inflammation in Obese Adipose Tissue ». *The Journal of Clinical Investigation* 118 (2):710-21. <https://doi.org/10.1172/JCI33328>.
- Norris, Paul C., et Edward A. Dennis. 2012. « Omega-3 Fatty Acids Cause Dramatic Changes in TLR4 and Purinergic Eicosanoid Signaling ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (22):8517-22. <https://doi.org/10.1073/pnas.1200189109>.
- Novak, Todd E., Tricia A. Babcock, David H. Jho, W. Scott Helton, et N. Joseph Espot. 2003. « NF-Kappa B Inhibition by Omega -3 Fatty Acids Modulates LPS-Stimulated Macrophage TNF-Alpha Transcription ». *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology* 284 (1):L84-89. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00077.2002>.
- Odegaard, Justin I., Roberto R. Ricardo-Gonzalez, Matthew H. Goforth, Christine R. Morel, Vidya Subramanian, Lata Mukundan, Alex Red Eagle, et al. 2007. « Macrophage-Specific PPARgamma Controls Alternative Activation and Improves Insulin Resistance ». *Nature* 447 (7148):1116-20. <https://doi.org/10.1038/nature05894>.
- Oh, Da Young, Saswata Talukdar, Eun Ju Bae, Takeshi Imamura, Hidetaka Morinaga, WuQiang Fan, Pingping Li, Wendell J. Lu, Steven M. Watkins, et Jerrold M. Olefsky. 2010. « GPR120 Is an Omega-3 Fatty Acid Receptor Mediating Potent Anti-Inflammatory and Insulin-Sensitizing Effects ». *Cell* 142 (5):687-98. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.07.041>.

- Olefsky, Jerrold M., et Christopher K. Glass. 2010. « Macrophages, Inflammation, and Insulin Resistance ». *Annual Review of Physiology* 72:219-46. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135846>.
- Oliva-Olivera, Wilfredo, Antonio Leiva Gea, Said Lhamyani, Leticia Coín-Aragüez, Juan Alcaide Torres, Maria Rosa Bernal-López, Pedro Pablo García-Luna, et al. 2015. « Differences in the Osteogenic Differentiation Capacity of Omental Adipose-Derived Stem Cells in Obese Patients With and Without Metabolic Syndrome ». *Endocrinology* 156 (12):4492-4501. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1413>.
- Oñate, Blanca, Gemma Vilahur, Sandra Camino-López, Alberto Díez-Caballero, Carlos Ballesta-López, Juan Ybarra, Fabrizio Moscatiello, Javier Herrero, et Lina Badimon. 2013. « Stem Cells Isolated from Adipose Tissue of Obese Patients Show Changes in Their Transcriptomic Profile That Indicate Loss in Stemcellness and Increased Commitment to an Adipocyte-like Phenotype ». *BMC Genomics* 14 (septembre):625. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-625>.
- Ong, Wee Kiat, Chuen Seng Tan, Kai Li Chan, Grace Gandhi Goesantoso, Xin Hui Derryn Chan, Edmund Chan, Jocelyn Yin, et al. 2014. « Identification of Specific Cell-Surface Markers of Adipose-Derived Stem Cells from Subcutaneous and Visceral Fat Depots ». *Stem Cell Reports* 2 (2):171-79. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2014.01.002>.
- Oppmann, B., R. Lesley, B. Blom, J. C. Timans, Y. Xu, B. Hunte, F. Vega, et al. 2000. « Novel P19 Protein Engages IL-12p40 to Form a Cytokine, IL-23, with Biological Activities Similar as Well as Distinct from IL-12 ». *Immunity* 13 (5):715-25.
- ORIGIN Trial Investigators, Jackie Bosch, Hertz C. Gerstein, Gilles R. Dagenais, Rafael Díaz, Leanne Dyal, Hyejung Jung, et al. 2012. « N-3 Fatty Acids and Cardiovascular Outcomes in Patients with Dysglycemia ». *The New England Journal of Medicine* 367 (4):309-18. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1203859>.
- O'Rourke, R. W., M. D. Metcalf, A. E. White, A. Madala, B. R. Winters, I. I. Maizlin, B. A. Jobe, C. T. Roberts, M. K. Slifka, et D. L. Marks. 2009. « Depot-Specific Differences in Inflammatory Mediators and a Role for NK Cells and IFN-Gamma in Inflammation in Human Adipose Tissue ». *International Journal of Obesity (2005)* 33 (9):978-90. <https://doi.org/10.1038/ijo.2009.133>.
- Ortega, Francisco J., Dolores Mayas, José M. Moreno-Navarrete, Victoria Catalán, Javier Gómez-Ambrosi, Eduardo Esteve, Jose I. Rodriguez-Hermosa, et al. 2010. « The Gene Expression of the Main Lipogenic Enzymes Is Downregulated in Visceral Adipose Tissue of Obese Subjects ». *Obesity (Silver Spring, Md.)* 18 (1):13-20. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.202>.
- Osborn, Olivia, et Jerrold M. Olefsky. 2012. « The Cellular and Signaling Networks Linking the Immune System and Metabolism in Disease ». *Nature Medicine* 18 (3):363-74. <https://doi.org/10.1038/nm.2627>.
- Ouchi, Noriyuki, Jennifer L. Parker, Jesse J. Lugus, et Kenneth Walsh. 2011. « Adipokines in Inflammation and Metabolic Disease ». *Nature Reviews. Immunology* 11 (2):85-97. <https://doi.org/10.1038/nri2921>.
- Pandolfi, Julieta B., Ariel A. Ferraro, Inés Sananez, Maria C. Gancedo, Plácida Baz, Luis A. Billordo, Leonardo Fainboim, et Lourdes Arruvito. 2016. « ATP-Induced Inflammation Drives Tissue-Resident Th17 Cells in Metabolically Unhealthy Obesity ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 196 (8):3287-96. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502506>.
- Parham, Christi, Madaline Chirica, Jacqueline Timans, Elena Vaisberg, Marilyn Travis, Jeanne Cheung, Stefan Pflanz, et al. 2002. « A Receptor for the Heterodimeric Cytokine IL-23 Is Composed of IL-12Rbeta1 and a Novel Cytokine Receptor Subunit, IL-23R ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 168 (11):5699-5708.
- Park, Heon, Zhaoxia Li, Xuexian O. Yang, Seon Hee Chang, Roza Nurieva, Yi-Hong Wang, Ying Wang, et al. 2005. « A Distinct Lineage of CD4 T Cells Regulates Tissue Inflammation by Producing Interleukin 17 ». *Nature Immunology* 6 (11):1133-41. <https://doi.org/10.1038/ni1261>.
- Park, Min-Jung, Seung-Ki Kwok, Sung-Hee Lee, Eun-Kyung Kim, Sung-Hwan Park, et Mi-La Cho. 2015. « Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Induce Expansion of Interleukin-10-Producing Regulatory B Cells and Ameliorate Autoimmunity in a Murine Model of Systemic Lupus Erythematosus ». *Cell Transplantation* 24 (11):2367-77. <https://doi.org/10.3727/096368914X685645>.
- Payne, Natalie L., Guizhi Sun, Courtney McDonald, Daniel Layton, Leon Moussa, Ashley Emerson-Webber, Nadege Veron, et al. 2013. « Distinct Immunomodulatory and Migratory Mechanisms Underpin the Therapeutic Potential of Human Mesenchymal Stem Cells in Autoimmune Demyelination ». *Cell Transplantation* 22 (8):1409-25. <https://doi.org/10.3727/096368912X657620>.
- Pearce, Erika L., et Edward J. Pearce. 2013. « Metabolic Pathways in Immune Cell Activation and Quiescence ». *Immunity* 38 (4):633-43. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.04.005>.
- Peroni, Daniele, Ilaria Scambi, Annalisa Pasini, Veronica Lisi, Francesco Bifari, Mauro Krampera, Gino Rigotti, Andrea Sbarbati, et Mirco Galiè. 2008. « Stem Molecular Signature of Adipose-Derived Stromal Cells ». *Experimental Cell Research* 314 (3):603-15. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2007.10.007>.
- Peters, Anneli, et Nir Yosef. 2014. « Understanding Th17 Cells through Systematic Genomic Analyses ». *Current Opinion in Immunology* 28 (juin):42-48. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2014.01.017>.

- Petrangeli, Elisa, Giuseppe Coroniti, Anna T. Brini, Laura de Girolamo, Deborah Stanco, Stefania Niada, Gianfranco Silecchia, et al. 2016. « Hypoxia Promotes the Inflammatory Response and Stemness Features in Visceral Fat Stem Cells From Obese Subjects ». *Journal of Cellular Physiology* 231 (3):668-79. <https://doi.org/10.1002/jcp.25113>.
- Pinel, Alexandre, Elodie Pitois, Jean-Paul Rigaudiere, Chrystele Jouve, Sarah De Saint-Vincent, Brigitte Laillet, Christophe Montaurier, Alain Huertas, Beatrice Morio, et Frederic Capel. 2016. « EPA Prevents Fat Mass Expansion and Metabolic Disturbances in Mice Fed with a Western Diet ». *Journal of Lipid Research* 57 (8):1382-97. <https://doi.org/10.1194/jlr.M065458>.
- Pittenger, M. F., A. M. Mackay, S. C. Beck, R. K. Jaiswal, R. Douglas, J. D. Mosca, M. A. Moorman, D. W. Simonetti, S. Craig, et D. R. Marshak. 1999. « Multilineage Potential of Adult Human Mesenchymal Stem Cells ». *Science (New York, N.Y.)* 284 (5411):143-47.
- Planat-Benard, Valérie, Jean-Sébastien Silvestre, Béatrice Cousin, Mireille André, Maryse Nibbelink, Radia Tamarat, Michel Clergue, et al. 2004. « Plasticity of Human Adipose Lineage Cells toward Endothelial Cells: Physiological and Therapeutic Perspectives ». *Circulation* 109 (5):656-63. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000114522.38265.61>.
- Poitou, Christine, Claire Perret, François Mathieu, Vinh Truong, Yuna Blum, Hervé Durand, Rohia Alili, et al. 2015. « Bariatric Surgery Induces Disruption in Inflammatory Signaling Pathways Mediated by Immune Cells in Adipose Tissue: A RNA-Seq Study ». *PLoS One* 10 (5):e0125718. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125718>.
- Puissant, Bénédicte, Corinne Barreau, Philippe Bourin, Cyril Clavel, Jill Corre, Christine Bousquet, Christine Taureau, et al. 2005. « Immunomodulatory Effect of Human Adipose Tissue-Derived Adult Stem Cells: Comparison with Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells ». *British Journal of Haematology* 129 (1):118-29. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05409.x>.
- Qin, Si, Ju Wen, Xiao-Chun Bai, Tian-Yu Chen, Rong-Chang Zheng, Gui-Bin Zhou, Jing Ma, Jie-Ying Feng, Bi-Ling Zhong, et Yi-Ming Li. 2014. « Endogenous N-3 Polyunsaturated Fatty Acids Protect against Imiquimod-Induced Psoriasis-like Inflammation via the IL-17/IL-23 Axis ». *Molecular Medicine Reports* 9 (6):2097-2104. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2136>.
- Raclot, T., R. Groscolas, D. Langin, et P. Ferré. 1997. « Site-Specific Regulation of Gene Expression by n-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Rat White Adipose Tissues ». *Journal of Lipid Research* 38 (10):1963-72.
- Raphael, Itay, Saisha Nalawade, Todd N. Eagar, et Thomas G. Forsthuber. 2015. « T Cell Subsets and Their Signature Cytokines in Autoimmune and Inflammatory Diseases ». *Cytokine* 74 (1):5-17. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.09.011>.
- Rausch, M. E., S. Weisberg, P. Vardhana, et D. V. Tortoriello. 2008. « Obesity in C57BL/6J Mice Is Characterized by Adipose Tissue Hypoxia and Cytotoxic T-Cell Infiltration ». *International Journal of Obesity (2005)* 32 (3):451-63. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803744>.
- Razmkhah, Mahboobeh, Zahra Mansourabadi, Maryam Al-Sadat Mohtasebi, Abdol-Rasoul Talei, et Abbas Ghaderi. 2017. « Cancer and Normal Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells (ASCs): Do They Have Differential Effects on Tumor and Immune Cells? » *Cell Biology International*, octobre. <https://doi.org/10.1002/cbin.10905>.
- Reggiani, Francesca, Valentina Labanca, Patrizia Mancuso, Cristina Rabascio, Giovanna Talarico, Stefania Orecchioni, Andrea Manconi, et Francesco Bertolini. 2017. « Adipose Progenitor Cell Secretion of GM-CSF and MMP9 Promotes a Stromal and Immunological Microenvironment That Supports Breast Cancer Progression ». *Cancer Research* 77 (18):5169-82. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-0914>.
- Ren, Guangwen, Liying Zhang, Xin Zhao, Guangwu Xu, Yingyu Zhang, Arthur I. Roberts, Robert Chunhua Zhao, et Yufang Shi. 2008a. « Mesenchymal Stem Cell-Mediated Immunosuppression Occurs via Concerted Action of Chemokines and Nitric Oxide ». *Cell Stem Cell* 2 (2):141-50. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2007.11.014>.
- . 2008b. « Mesenchymal Stem Cell-Mediated Immunosuppression Occurs via Concerted Action of Chemokines and Nitric Oxide ». *Cell Stem Cell* 2 (2):141-50. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2007.11.014>.
- Ren, Guangwen, Xin Zhao, Liying Zhang, Jimin Zhang, Andrew L'Huillier, Weifang Ling, Arthur I. Roberts, et al. 2010. « Inflammatory Cytokine-Induced Intercellular Adhesion Molecule-1 and Vascular Cell Adhesion Molecule-1 in Mesenchymal Stem Cells Are Critical for Immunosuppression ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 184 (5):2321-28. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902023>.
- Rheinheimer, Jakeline, Bianca M. de Souza, Natali S. Cardoso, Andrea C. Bauer, et Daisy Crispim. 2017. « Current Role of the NLRP3 Inflammasome on Obesity and Insulin Resistance: A Systematic Review ». *Metabolism: Clinical and Experimental* 74 (septembre):1-9. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.06.002>.
- Rocha, V. Z., E. J. Folco, C. Ozdemir, Y. Sheikine, T. Christen, G. K. Sukhova, E. H. C. Tang, et al. 2014. « CXCR3 Controls T-Cell Accumulation in Fat Inflammation ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 34 (7):1374-81. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.113.303133>.

- Rocha, Viviane Zorzanelli, Eduardo J. Folco, Galina Sukhova, Koichi Shimizu, Israel Gotsman, Ashley H. Vernon, et Peter Libby. 2008. « Interferon-Gamma, a Th1 Cytokine, Regulates Fat Inflammation: A Role for Adaptive Immunity in Obesity ». *Circulation Research* 103 (5):467-76. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.177105>.
- Roldan, Mar, Manuel Macias-Gonzalez, Regina Garcia, Francisco J. Tinahones, et Miguel Martin. 2011. « Obesity Short-Circuits Stemness Gene Network in Human Adipose Multipotent Stem Cells ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 25 (12):4111-26. <https://doi.org/10.1096/fj.10-171439>.
- Rombaldova, Martina, Petra Janovska, Jan Kopecky, et Ondrej Kuda. 2017. « Omega-3 Fatty Acids Promote Fatty Acid Utilization and Production of pro-Resolving Lipid Mediators in Alternatively Activated Adipose Tissue Macrophages ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 490 (3):1080-85. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.06.170>.
- Roncari, D. A., D. C. Lau, et S. Kindler. 1981. « Exaggerated Replication in Culture of Adipocyte Precursors from Massively Obese Persons ». *Metabolism: Clinical and Experimental* 30 (5):425-27.
- Rosen, Evan D., Chung-Hsin Hsu, Xinzhong Wang, Shuichi Sakai, Mason W. Freeman, Frank J. Gonzalez, et Bruce M. Spiegelman. 2002. « C/EBPalpha Induces Adipogenesis through PPARgamma: A Unified Pathway ». *Genes & Development* 16 (1):22-26. <https://doi.org/10.1101/gad.948702>.
- Rowan, Brian G., Jeffrey M. Gimble, Mei Sheng, Muralidharan Anbalagan, Ryan K. Jones, Trivia P. Frazier, Majdouline Asher, et al. 2014. « Human Adipose Tissue-Derived Stromal/Stem Cells Promote Migration and Early Metastasis of Triple Negative Breast Cancer Xenografts ». *PLoS One* 9 (2):e89595. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089595>.
- Rudkowska, Iwona. 2010. « Fish Oils for Cardiovascular Disease: Impact on Diabetes ». *Maturitas* 67 (1):25-28. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2010.04.012>.
- Ruiz, Joseph C., John W. Ludlow, Sonya Sherwood, Gang Yu, Xiyang Wu, et Jeffrey M. Gimble. 2010. « Differentiated Human Adipose-Derived Stem Cells Exhibit Hepatogenic Capability in Vitro and in Vivo ». *Journal of Cellular Physiology* 225 (2):429-36. <https://doi.org/10.1002/jcp.22216>.
- Rutkowski, Joseph M., Jennifer H. Stern, et Philipp E. Scherer. 2015. « The Cell Biology of Fat Expansion ». *J Cell Biol* 208 (5):501-12. <https://doi.org/10.1083/jcb.201409063>.
- Ruzickova, Jana, Martin Rossmeisl, Tomas Prazak, Pavel Flachs, Jana Sponarova, Marek Veck, Eva Tvrzicka, Morten Bryhn, et Jan Kopecky. 2004. « Omega-3 PUFA of Marine Origin Limit Diet-Induced Obesity in Mice by Reducing Cellularity of Adipose Tissue ». *Lipids* 39 (12):1177-85.
- Ryan, J. M., F. Barry, J. M. Murphy, et B. P. Mahon. 2007. « Interferon-Gamma Does Not Break, but Promotes the Immunosuppressive Capacity of Adult Human Mesenchymal Stem Cells ». *Clinical and Experimental Immunology* 149 (2):353-63. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2007.03422.x>.
- Sampath, Harini, et James M. Ntambi. 2005. « Polyunsaturated Fatty Acid Regulation of Genes of Lipid Metabolism ». *Annual Review of Nutrition* 25:317-40. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.25.051804.101917>.
- Santori, Fabio R., Pengxiang Huang, Serge A. van de Pavert, Eugene F. Douglass, David J. Leaver, Brad A. Haubrich, Rok Keber, et al. 2015. « Identification of Natural ROR γ Ligands That Regulate the Development of Lymphoid Cells ». *Cell Metabolism* 21 (2):286-97. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.01.004>.
- Sassa, Takayuki, et Akio Kihara. 2014. « Metabolism of Very Long-Chain Fatty Acids: Genes and Pathophysiology ». *Biomolecules & Therapeutics* 22 (2):83-92. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2014.017>.
- Sato, Takao, Tomoki Kameyama, Takashi Ohori, Akira Matsuki, et Hiroshi Inoue. 2014. « Effects of Eicosapentaenoic Acid Treatment on Epicardial and Abdominal Visceral Adipose Tissue Volumes in Patients with Coronary Artery Disease ». *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 21 (10):1031-43.
- Sawada, Yu, Tetsuya Honda, Sho Hanakawa, Satoshi Nakamizo, Teruasa Murata, Yuri Ucharaguchi-Tanada, Sachiko Ono, et al. 2015. « Resolvin E1 Inhibits Dendritic Cell Migration in the Skin and Attenuates Contact Hypersensitivity Responses ». *The Journal of Experimental Medicine* 212 (11):1921-30. <https://doi.org/10.1084/jem.20150381>.
- Schoonjans, K., B. Staels, et J. Auwerx. 1996. « The Peroxisome Proliferator Activated Receptors (PPARS) and Their Effects on Lipid Metabolism and Adipocyte Differentiation ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1302 (2):93-109.
- Schwab, Jan M., Nan Chiang, Makoto Arita, et Charles N. Serhan. 2007. « Resolvin E1 and Protectin D1 Activate Inflammation-Resolution Programmes ». *Nature* 447 (7146):869-74. <https://doi.org/10.1038/nature05877>.
- Scott, Karen A., Susan J. Melhorn, et Randall R. Sakai. 2012. « Effects of Chronic Social Stress on Obesity ». *Current Obesity Reports* 1 (1):16-25. <https://doi.org/10.1007/s13679-011-0006-3>.
- Selmani, Zohair, Abderrahim Naji, Ines Zidi, Benoit Favier, Emilie Gaiffe, Laurent Obert, Christophe Borg, et al. 2008. « Human Leukocyte Antigen-G5 Secretion by Human Mesenchymal Stem Cells Is Required to Suppress T Lymphocyte and Natural Killer Function and to Induce CD4+CD25highFOXP3+ Regulatory T Cells ». *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 26 (1):212-22. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0554>.

- Semon, Julie A., Catherine Maness, Xiujuan Zhang, Steven A. Sharkey, Marc M. Beuttler, Forum S. Shah, Amitabh C. Pandey, et al. 2014. « Comparison of Human Adult Stem Cells from Adipose Tissue and Bone Marrow in the Treatment of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis ». *Stem Cell Research & Therapy* 5 (1):2. <https://doi.org/10.1186/scrt391>.
- Serhan, Charles N., Nan Chiang, et Thomas E. Van Dyke. 2008. « Resolving Inflammation: Dual Anti-Inflammatory and pro-Resolution Lipid Mediators ». *Nature Reviews. Immunology* 8 (5):349-61. <https://doi.org/10.1038/nri2294>.
- Shaul, Merav E., Grace Bennett, Katherine J. Strissel, Andrew S. Greenberg, et Martin S. Obin. 2010. « Dynamic, M2-like Remodeling Phenotypes of CD11c+ Adipose Tissue Macrophages during High-Fat Diet--Induced Obesity in Mice ». *Diabetes* 59 (5):1171-81. <https://doi.org/10.2337/db09-1402>.
- Sheibanie, Amir F., Tanzilya Khayrullina, Fayez F. Safadi, et Doina Ganea. 2007. « Prostaglandin E2 Exacerbates Collagen-Induced Arthritis in Mice through the Inflammatory Interleukin-23/Interleukin-17 Axis ». *Arthritis and Rheumatism* 56 (8):2608-19. <https://doi.org/10.1002/art.22794>.
- Sheibanie, Amir F., Jui-Hung Yen, Tanzilya Khayrullina, Frances Emig, Ming Zhang, Ronald Tuma, et Doina Ganea. 2007. « The Proinflammatory Effect of Prostaglandin E2 in Experimental Inflammatory Bowel Disease Is Mediated through the IL-23-->IL-17 Axis ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 178 (12):8138-47.
- Sheng, Huiming, Ying Wang, Yuqing Jin, Qiuyu Zhang, Yan Zhang, Li Wang, Baihua Shen, et al. 2008. « A Critical Role of IFN γ in Priming MSC-Mediated Suppression of T Cell Proliferation through up-Regulation of B7-H1 ». *Cell Research* 18 (8):846-57. <https://doi.org/10.1038/cr.2008.80>.
- Shi, Lewis Z., Ruoning Wang, Gonghua Huang, Peter Vogel, Geoffrey Neale, Douglas R. Green, et Hongbo Chi. 2011. « HIF1 α -Dependent Glycolytic Pathway Orchestrates a Metabolic Checkpoint for the Differentiation of TH17 and Treg Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 208 (7):1367-76. <https://doi.org/10.1084/jem.20110278>.
- Shin, Jennifer H., Dong Wook Shin, et Minsoo Noh. 2009. « Interleukin-17A Inhibits Adipocyte Differentiation in Human Mesenchymal Stem Cells and Regulates pro-Inflammatory Responses in Adipocytes ». *Biochemical Pharmacology* 77 (12):1835-44. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2009.03.008>.
- Shoda, Hiromi, Ryoji Yanai, Takeru Yoshimura, Tomohiko Nagai, Kazuhiro Kimura, Lucia Sobrin, Kip M. Connor, et al. 2015. « Dietary Omega-3 Fatty Acids Suppress Experimental Autoimmune Uveitis in Association with Inhibition of Th1 and Th17 Cell Function ». *PloS One* 10 (9):e0138241. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138241>.
- Silva, Karina R., Sally Liechocki, João R. Carneiro, Cesar Claudio-da-Silva, Clarissa M. Maya-Monteiro, Radovan Borojevic, et Leandra S. Baptista. 2015a. « Stromal-Vascular Fraction Content and Adipose Stem Cell Behavior Are Altered in Morbid Obese and Post Bariatric Surgery Ex-Obese Women ». *Stem Cell Research & Therapy* 6 (avril):72. <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0029-x>.
- . 2015b. « Stromal-Vascular Fraction Content and Adipose Stem Cell Behavior Are Altered in Morbid Obese and Post Bariatric Surgery Ex-Obese Women ». *Stem Cell Research & Therapy* 6 (avril):72. <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0029-x>.
- Silva, Karina Ribeiro, Isis Côrtes, Sally Liechocki, João Regis Ivar Carneiro, Antônio Augusto Peixoto Souza, Radovan Borojevic, Clarissa Menezes Maya-Monteiro, et Leandra Santos Baptista. 2017. « Characterization of Stromal Vascular Fraction and Adipose Stem Cells from Subcutaneous, Preperitoneal and Visceral Morbidly Obese Human Adipose Tissue Depots ». *PloS One* 12 (3):e0174115. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174115>.
- Simončíková, P., S. Wein, D. Gasperikova, J. Ukropec, M. Certik, I. Klimes, et E. Sebková. 2002. « Comparison of the Extrapaneatic Action of Gamma-Linolenic Acid and n-3 PUFAs in the High Fat Diet-Induced Insulin Resistance [Corrected] ». *Endocrine Regulations* 36 (4):143-49.
- Simopoulos, Artemis. 2016. « An Increase in the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio Increases the Risk for Obesity ». *Nutrients* 8 (3):128. <https://doi.org/10.3390/nu8030128>.
- Singh, Satya P., Hongwei H. Zhang, John F. Foley, Michael N. Hedrick, et Joshua M. Farber. 2008. « Human T Cells That Are Able to Produce IL-17 Express the Chemokine Receptor CCR6 ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 180 (1):214-21.
- Skulas-Ray, Ann C., Michael R. Flock, Chesney K. Richter, William S. Harris, Sheila G. West, et Penny M. Kris-Etherton. 2015. « Red Blood Cell Docosapentaenoic Acid (DPA n-3) Is Inversely Associated with Triglycerides and C-Reactive Protein (CRP) in Healthy Adults and Dose-Dependently Increases Following n-3 Fatty Acid Supplementation ». *Nutrients* 7 (8):6390-6404. <https://doi.org/10.3390/nu7085291>.
- Smith, U., et B. B. Kahn. 2016. « Adipose Tissue Regulates Insulin Sensitivity: Role of Adipogenesis, de Novo Lipogenesis and Novel Lipids ». *Journal of Internal Medicine* 280 (5):465-75. <https://doi.org/10.1111/joim.12540>.
- Solomon, Daniel H., Thorvardur Jon Love, Claire Canning, et Sebastian Schneeweiss. 2010. « Risk of Diabetes among Patients with Rheumatoid Arthritis, Psoriatic Arthritis and Psoriasis ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 69 (12):2114-17. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.125476>.
- Sordi, Valeria, Maria Luisa Malosio, Federica Marchesi, Alessia Mercalli, Raffaella Melzi, Tiziana Giordano, Nathalie Belmonte, et al. 2005. « Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Express a Restricted Set of Functionally

- Active Chemokine Receptors Capable of Promoting Migration to Pancreatic Islets ». *Blood* 106 (2):419-27. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-09-3507>.
- Soroosh, Pejman, Jiejun Wu, Xiaohua Xue, Jiao Song, Steven W. Sutton, Marciano Sablad, Jingxue Yu, et al. 2014. « Oxysterols Are Agonist Ligands of ROR γ t and Drive Th17 Cell Differentiation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (33):12163-68. <https://doi.org/10.1073/pnas.1322807111>.
- Spaggiari, Grazia Maria, Heba Abdelrazik, Flavio Becchetti, et Lorenzo Moretta. 2009. « MSCs Inhibit Monocyte-Derived DC Maturation and Function by Selectively Interfering with the Generation of Immature DCs: Central Role of MSC-Derived Prostaglandin E2 ». *Blood* 113 (26):6576-83. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-02-203943>.
- Spaggiari, Grazia Maria, Andrea Capobianco, Stelvio Becchetti, Maria Cristina Mingari, et Lorenzo Moretta. 2006. « Mesenchymal Stem Cell-Natural Killer Cell Interactions: Evidence That Activated NK Cells Are Capable of Killing MSCs, Whereas MSCs Can Inhibit IL-2-Induced NK-Cell Proliferation ». *Blood* 107 (4):1484-90. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-07-2775>.
- Spalding, Kirsty L., Erik Arner, Pål O. Westermark, Samuel Bernard, Bruce A. Buchholz, Olaf Bergmann, Lennart Blomqvist, et al. 2008. « Dynamics of Fat Cell Turnover in Humans ». *Nature* 453 (7196):783-87. <https://doi.org/10.1038/nature06902>.
- Spencer, Michael, Brian S. Finlin, Resat Unal, Beibei Zhu, Andrew J. Morris, Lindsey R. Shipp, Jonah Lee, et al. 2013. « Omega-3 Fatty Acids Reduce Adipose Tissue Macrophages in Human Subjects with Insulin Resistance ». *Diabetes* 62 (5):1709-17. <https://doi.org/10.2337/db12-1042>.
- Stefanovic-Racic, Maja, Xiao Yang, Michael S. Turner, Benjamin S. Mantell, Donna B. Stolz, Tina L. Sumpter, Ian J. Sipula, et al. 2012. « Dendritic Cells Promote Macrophage Infiltration and Comprise a Substantial Proportion of Obesity-Associated Increases in CD11c+ Cells in Adipose Tissue and Liver ». *Diabetes* 61 (9):2330-39. <https://doi.org/10.2337/db11-1523>.
- Stelzner, Kristin, Diana Herbert, Yulia Popkova, Axel Lorz, Jürgen Schiller, Martin Gericke, Nora Klötting, et al. 2016. « Free Fatty Acids Sensitize Dendritic Cells to Amplify TH1/TH17-Immune Responses ». *European Journal of Immunology* 46 (8):2043-53. <https://doi.org/10.1002/eji.201546263>.
- Stienstra, Rinke, Janna A. van Diepen, Cees J. Tack, Md Hasan Zaki, Frank L. van de Veerdonk, Deshani Perera, Geoffrey A. Neale, et al. 2011. « Inflammation Is a Central Player in the Induction of Obesity and Insulin Resistance ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (37):15324-29. <https://doi.org/10.1073/pnas.1100255108>.
- Stienstra, Rinke, Leo A. B. Joosten, Tim Koenen, Berry van Tits, Janna A. van Diepen, Sjoerd A. A. van den Berg, Patrick C. N. Rensen, et al. 2010. « The Inflammation-Mediated Caspase-1 Activation Controls Adipocyte Differentiation and Insulin Sensitivity ». *Cell Metabolism* 12 (6):593-605. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.11.011>.
- Storlien, L. H., A. B. Jenkins, D. J. Chisholm, W. S. Pascoe, S. Khouri, et E. W. Kraegen. 1991. « Influence of Dietary Fat Composition on Development of Insulin Resistance in Rats. Relationship to Muscle Triglyceride and Omega-3 Fatty Acids in Muscle Phospholipid ». *Diabetes* 40 (2):280-89.
- Storlien, L. H., E. W. Kraegen, D. J. Chisholm, G. L. Ford, D. G. Bruce, et W. S. Pascoe. 1987. « Fish Oil Prevents Insulin Resistance Induced by High-Fat Feeding in Rats ». *Science (New York, N.Y.)* 237 (4817):885-88.
- Strissel, Katherine J., Zlatina Stancheva, Hideaki Miyoshi, James W. Perfield, Jason DeFuria, Zoe Jick, Andrew S. Greenberg, et Martin S. Obin. 2007. « Adipocyte Death, Adipose Tissue Remodeling, and Obesity Complications ». *Diabetes* 56 (12):2910-18. <https://doi.org/10.2337/db07-0767>.
- Strong, Amy L., Jason F. Ohlstein, Brandi A. Biagas, Lyndsay V. Rhodes, Dorothy T. Pei, H. Alan Tucker, Claire Llamas, et al. 2015. « Leptin Produced by Obese Adipose Stromal/Stem Cells Enhances Proliferation and Metastasis of Estrogen Receptor Positive Breast Cancers ». *Breast Cancer Research: BCR* 17 (août):112. <https://doi.org/10.1186/s13058-015-0622-z>.
- Suganami, Takayoshi, Miyako Tanaka, et Yoshihiro Ogawa. 2012. « Adipose Tissue Inflammation and Ectopic Lipid Accumulation ». *Endocrine Journal* 59 (10):849-57.
- Sumarac-Dumanovic, M., D. Stevanovic, A. Ljubic, J. Jorga, M. Simic, D. Stamenkovic-Pejkovic, V. Starcevic, V. Trajkovic, et D. Micic. 2009. « Increased Activity of Interleukin-23/Interleukin-17 Proinflammatory Axis in Obese Women ». *International Journal of Obesity (2005)* 33 (1):151-56. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.216>.
- Sumarac-Dumanovic, Mirjana, Danka Jeremic, Aleksandar Pantovic, Kristina Janjetovic, Danica Stamenkovic-Pejkovic, Goran Cvijovic, Darko Stevanovic, Dragan Micic, et Vladimir Trajkovic. 2013. « Therapeutic Improvement of Glucoregulation in Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Patients Is Associated with a Reduction of IL-17 Levels ». *Immunobiology* 218 (8):1113-18. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2013.03.002>.
- Sun, Kai, Christine M. Kusminski, et Philipp E. Scherer. 2011. « Adipose Tissue Remodeling and Obesity ». *The Journal of Clinical Investigation* 121 (6):2094-2101. <https://doi.org/10.1172/JCI45887>.
- Sun, Shengyi, Yewei Ji, Sander Kersten, et Ling Qi. 2012. « Mechanisms of Inflammatory Responses in Obese Adipose Tissue ». *Annual Review of Nutrition* 32 (août):261-86. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071811-150623>.

- Sundara Rajan, Sandeep, et Maria Paula Longhi. 2016. « Dendritic Cells and Adipose Tissue ». *Immunology* 149 (4):353-61. <https://doi.org/10.1111/imm.12653>.
- Suryawanshi, Amol, Tamara Veiga-Parga, Naveen K. Rajasagi, Pradeep Babu Jagdeesh Reddy, Sharvan Sehrawat, Shalini Sharma, et Barry T. Rouse. 2011. « Role of IL-17 and Th17 Cells in Herpes Simplex Virus-Induced Corneal Immunopathology ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 187 (4):1919-30. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1100736>.
- Susilowati, Rina, Dian Caturini Sulistyoningrum, Ni Putu Diah Witari, Emy Huriyati, Harry Freitag Luglio, et Madarina Julia. 2016. « Sexual Dimorphism in Interleukin 17A and Adipocytokines and Their Association with Insulin Resistance among Obese Adolescents in Yogyakarta, Indonesia ». *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 25 (Suppl 1):S93-101.
- Suto, Akira, Daisuke Kashiwakuma, Shin-ichiro Kagami, Koichi Hirose, Norihiko Watanabe, Kotaro Yokote, Yasushi Saito, et al. 2008. « Development and Characterization of IL-21-Producing CD4+ T Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 205 (6):1369-79. <https://doi.org/10.1084/jem.20072057>.
- Tanaka, Miyako, Kenji Ikeda, Takayoshi Suganami, Chikara Komiya, Kozue Ochi, Ibuki Shirakawa, Miho Hamaguchi, et al. 2014. « Macrophage-Inducible C-Type Lectin Underlies Obesity-Induced Adipose Tissue Fibrosis ». *Nature Communications* 5 (septembre):4982. <https://doi.org/10.1038/ncomms5982>.
- Tang, Qi Qun, et M. Daniel Lane. 2012. « Adipogenesis: From Stem Cell to Adipocyte ». *Annual Review of Biochemistry* 81:715-36. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-052110-115718>.
- Tang, Qizhi, Jason Y. Adams, Cristina Penaranda, Kristin Melli, Eliane Piaggio, Evridiki Sgouroudis, Ciriaco A. Piccirillo, Benoit L. Salomon, et Jeffrey A. Bluestone. 2008. « Central Role of Defective Interleukin-2 Production in the Triggering of Islet Autoimmune Destruction ». *Immunity* 28 (5):687-97. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.03.016>.
- Tang, Y., Z. Bian, L. Zhao, Y. Liu, S. Liang, Q. Wang, X. Han, et al. 2011. « Interleukin-17 Exacerbates Hepatic Steatosis and Inflammation in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease ». *Clinical and Experimental Immunology* 166 (2):281-90. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2011.04471.x>.
- Taouis, Mohammed, Carine Dagou, Céline Ster, Georges Durand, Michèle Pinault, et Jacques Delarue. 2002. « N-3 Polyunsaturated Fatty Acids Prevent the Defect of Insulin Receptor Signaling in Muscle ». *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 282 (3):E664-671. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00320.2001>.
- Tapia, Gladys, Rodrigo Valenzuela, Alejandra Espinosa, Pamela Romanque, Camila Dossi, Daniel Gonzalez-Mañán, Luis A. Videla, et Amanda D'Espessailles. 2014. « N-3 Long-Chain PUFA Supplementation Prevents High Fat Diet Induced Mouse Liver Steatosis and Inflammation in Relation to PPAR- α Upregulation and NF-KB DNA Binding Abrogation ». *Molecular Nutrition & Food Research* 58 (6):1333-41. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300458>.
- Tchkonina, Tamara, Yourka D. Tchoukalova, Nino Giorgadze, Tamar Pirtskhalava, Iordanes Karagiannides, R. Armour Forse, Ada Koo, et al. 2005. « Abundance of Two Human Preadipocyte Subtypes with Distinct Capacities for Replication, Adipogenesis, and Apoptosis Varies among Fat Depots ». *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 288 (1):E267-277. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00265.2004>.
- Tchoukalova, Y., C. Koutsari, et M. Jensen. 2007a. « Committed Subcutaneous Preadipocytes Are Reduced in Human Obesity ». *Diabetologia* 50 (1):151-57. <https://doi.org/10.1007/s00125-006-0496-9>.
- . 2007b. « Committed Subcutaneous Preadipocytes Are Reduced in Human Obesity ». *Diabetologia* 50 (1):151-57. <https://doi.org/10.1007/s00125-006-0496-9>.
- Tiemessen, Machteld M., Ann L. Jagger, Hayley G. Evans, Martijn J. C. van Herwijnen, Susan John, et Leonie S. Taams. 2007. « CD4+CD25+Foxp3+ Regulatory T Cells Induce Alternative Activation of Human Monocytes/Macrophages ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (49):19446-51. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706832104>.
- Todoric, J., M. Löffler, J. Huber, M. Bilban, M. Reimers, A. Kadl, M. Zeyda, W. Waldhäusl, et T. M. Stulnig. 2006. « Adipose Tissue Inflammation Induced by High-Fat Diet in Obese Diabetic Mice Is Prevented by n-3 Polyunsaturated Fatty Acids ». *Diabetologia* 49 (9):2109-19. <https://doi.org/10.1007/s00125-006-0300-x>.
- Touch, Sothea, Karine Clément, et Sébastien André. 2017. « T Cell Populations and Functions Are Altered in Human Obesity and Type 2 Diabetes ». *Current Diabetes Reports* 17 (9):81. <https://doi.org/10.1007/s11892-017-0900-5>.
- Tran, Thien T., Yuji Yamamoto, Stephane Gesta, et C. Ronald Kahn. 2008. « Beneficial Effects of Subcutaneous Fat Transplantation on Metabolism ». *Cell Metabolism* 7 (5):410-20. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.04.004>.
- Trayhurn, Paul. 2013. « Hypoxia and Adipose Tissue Function and Dysfunction in Obesity ». *Physiological Reviews* 93 (1):1-21. <https://doi.org/10.1152/physrev.00017.2012>.
- . 2014. « Hypoxia and Adipocyte Physiology: Implications for Adipose Tissue Dysfunction in Obesity ». *Annual Review of Nutrition* 34:207-36. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071812-161156>.
- Tressou, Jessica, Stéphane Pasteau, Solveig Darrigo Dartinet, Noémie Simon, et Céline Le Guillou. 2016. « Données récentes sur les apports en acides gras des Français ». *OCL* 23 (3):D303. <https://doi.org/10.1051/ocl/2016001>.

- Tschopp, Jurg, et Kate Schroder. 2010. « NLRP3 Inflammasome Activation: The Convergence of Multiple Signalling Pathways on ROS Production? » *Nature Reviews. Immunology* 10 (3):210-15. <https://doi.org/10.1038/nri2725>.
- Tse, William T., John D. Pendleton, Wendy M. Beyer, Matthew C. Egalka, et Eva C. Guinan. 2003. « Suppression of Allogeneic T-Cell Proliferation by Human Marrow Stromal Cells: Implications in Transplantation ». *Transplantation* 75 (3):389-97. <https://doi.org/10.1097/01.TP.0000045055.63901.A9>.
- Tsuboi, Hiroaki, Yukihiko Sugimoto, Takayuki Kainoh, et Atsushi Ichikawa. 2004. « Prostanoid EP4 Receptor Is Involved in Suppression of 3T3-L1 Adipocyte Differentiation ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 322 (3):1066-72. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.08.018>.
- Tull, Samantha P., Clara M. Yates, Benjamin H. Maskrey, Valerie B. O'Donnell, Jackie Madden, Robert F. Grimble, Philip C. Calder, Gerard B. Nash, et G. Ed Rainger. 2009. « Omega-3 Fatty Acids and Inflammation: Novel Interactions Reveal a New Step in Neutrophil Recruitment ». *PLoS Biology* 7 (8):e1000177. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000177>.
- Turk, Harmony F., et Robert S. Chapkin. 2013. « Membrane Lipid Raft Organization Is Uniquely Modified by N-3 Polyunsaturated Fatty Acids ». *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids* 88 (1):43-47. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2012.03.008>.
- Unoda, Kiichi, Yoshimitsu Doi, Hideto Nakajima, Kazushi Yamane, Takafumi Hosokawa, Shimon Ishida, Fumiharu Kimura, et Toshiaki Hanafusa. 2013. « Eicosapentaenoic Acid (EPA) Induces Peroxisome Proliferator-Activated Receptors and Ameliorates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis ». *Journal of Neuroimmunology* 256 (1-2):7-12. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2012.12.003>.
- Vandanmagsar, Bolormaa, Yun-Hee Youm, Anthony Ravussin, Jose E. Galgani, Krisztian Stadler, Randall L. Mynatt, Eric Ravussin, Jacqueline M. Stephens, et Vishwa Deep Dixit. 2011. « The NLRP3 Inflammasome Instigates Obesity-Induced Inflammation and Insulin Resistance ». *Nature Medicine* 17 (2):179-88. <https://doi.org/10.1038/nm.2279>.
- Vanden Berghe, Wim, Linda Vermeulen, Philippe Delerive, Karolien De Bosscher, Bart Staels, et Guy Haegeman. 2003. « A Paradigm for Gene Regulation: Inflammation, NF-KappaB and PPAR ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 544:181-96.
- Vansaun, Michael N. 2013. « Molecular Pathways: Adiponectin and Leptin Signaling in Cancer ». *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 19 (8):1926-32. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-0930>.
- Vasanthakumar, Ajithkumar, Kazuyo Moro, Annie Xin, Yang Liao, Renee Gloury, Shimpei Kawamoto, Sidonia Fagarasan, et al. 2015. « The Transcriptional Regulators IRF4, BATF and IL-33 Orchestrate Development and Maintenance of Adipose Tissue-Resident Regulatory T Cells ». *Nature Immunology* 16 (3):276-85. <https://doi.org/10.1038/ni.3085>.
- Vaure, Céline, et Yuanqing Liu. 2014. « A Comparative Review of Toll-Like Receptor 4 Expression and Functionality in Different Animal Species ». *Frontiers in Immunology* 5 (juillet). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00316>.
- Veldhoen, Marc, Richard J. Hocking, Richard A. Flavell, et Brigitta Stockinger. 2006. « Signals Mediated by Transforming Growth Factor-Beta Initiate Autoimmune Encephalomyelitis, but Chronic Inflammation Is Needed to Sustain Disease ». *Nature Immunology* 7 (11):1151-56. <https://doi.org/10.1038/ni1391>.
- Vidal, Christopher, Sandra Bermeo, Wei Li, Dao Huang, Richard Kremer, et Gustavo Duque. 2012. « Interferon Gamma Inhibits Adipogenesis in Vitro and Prevents Marrow Fat Infiltration in Oophorectomized Mice ». *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 30 (5):1042-48. <https://doi.org/10.1002/stem.1063>.
- Vila, Isabelle K., Pierre-Marie Badin, Marie-Adeline Marques, Laurent Monbrun, Corinne Lefort, Lucile Mir, Katie Louche, et al. 2014. « Immune Cell Toll-like Receptor 4 Mediates the Development of Obesity- and Endotoxemia-Associated Adipose Tissue Fibrosis ». *Cell Reports* 7 (4):1116-29. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.03.062>.
- Vizoso, Francisco J., Noemi Eiro, Sandra Cid, Jose Schneider, et Roman Perez-Fernandez. 2017. « Mesenchymal Stem Cell Secretome: Toward Cell-Free Therapeutic Strategies in Regenerative Medicine ». *International Journal of Molecular Sciences* 18 (9). <https://doi.org/10.3390/ijms18091852>.
- Wada, Masayuki, Cynthia J. DeLong, Yu H. Hong, Caroline J. Rieke, Inseok Song, Ranjinder S. Sidhu, Chong Yuan, et al. 2007. « Enzymes and Receptors of Prostaglandin Pathways with Arachidonic Acid-Derived versus Eicosapentaenoic Acid-Derived Substrates and Products ». *The Journal of Biological Chemistry* 282 (31):22254-66. <https://doi.org/10.1074/jbc.M703169200>.
- Wagner, Nana-Maria, Gunnar Brandhorst, Frauke Czepluch, Mareike Lankeit, Christoph Eberle, Sebastian Herzberg, Vivien Faustin, et al. 2013. « Circulating Regulatory T Cells Are Reduced in Obesity and May Identify Subjects at Increased Metabolic and Cardiovascular Risk ». *Obesity (Silver Spring, Md.)* 21 (3):461-68. <https://doi.org/10.1002/oby.20087>.

- Wang, Chao, Nir Yosef, Jellert Gaublumme, Chuan Wu, Youjin Lee, Clary B. Clish, Jim Kaminski, et al. 2015. « CD5L/AIM Regulates Lipid Biosynthesis and Restrains Th17 Cell Pathogenicity ». *Cell* 163 (6):1413-27. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.068>.
- Wang, Ya C., Wen H. Kuo, Ching Y. Chen, Hsin Y. Lin, Hsin T. Wu, Bing H. Liu, Chia H. Chen, Harry J. Mersmann, King J. Chang, et Shih T. Ding. 2010. « Docosahexaenoic Acid Regulates Serum Amyloid A Protein to Promote Lipolysis through down Regulation of Perilipin ». *The Journal of Nutritional Biochemistry* 21 (4):317-24. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.01.004>.
- Wang, Youfa, Eric B. Rimm, Meir J. Stampfer, Walter C. Willett, et Frank B. Hu. 2005. « Comparison of Abdominal Adiposity and Overall Obesity in Predicting Risk of Type 2 Diabetes among Men ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 81 (3):555-63.
- Ward, Cw. 2015. « Lipolysis and lipogenesis (revision number 17) ». In *Diapedia*. Diapedia.org. <https://doi.org/10.14496/dia.51040851148.17>.
- Weatherill, Amy R., Joo Y. Lee, Ling Zhao, Danielle G. Lemay, Hyung S. Youn, et Daniel H. Hwang. 2005. « Saturated and Polyunsaturated Fatty Acids Reciprocally Modulate Dendritic Cell Functions Mediated through TLR4 ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 174 (9):5390-97.
- Weerd, Kim van der, Willem A. Dik, Benjamin Schrijver, Dave H. Schweitzer, Anton W. Langerak, Hemmo A. Drexhage, Rosalie M. Kiewiet, et al. 2012. « Morbidly Obese Human Subjects Have Increased Peripheral Blood CD4+ T Cells with Skewing toward a Treg- and Th2-Dominated Phenotype ». *Diabetes* 61 (2):401-8. <https://doi.org/10.2337/db11-1065>.
- Wei, Lai, Arian Laurence, Kevin M. Elias, et John J. O'Shea. 2007. « IL-21 Is Produced by Th17 Cells and Drives IL-17 Production in a STAT3-Dependent Manner ». *The Journal of Biological Chemistry* 282 (48):34605-10. <https://doi.org/10.1074/jbc.M705100200>.
- Weisberg, Stuart P., Daniel McCann, Manisha Desai, Michael Rosenbaum, Rudolph L. Leibel, et Anthony W. Ferrante. 2003. « Obesity Is Associated with Macrophage Accumulation in Adipose Tissue ». *The Journal of Clinical Investigation* 112 (12):1796-1808. <https://doi.org/10.1172/JCI19246>.
- Wen, Haitao, Denis Gris, Yu Lei, Sushmita Jha, Lu Zhang, Max Tze-Han Huang, Willie June Brickey, et Jenny P.-Y. Ting. 2011. « Fatty Acid-Induced NLRP3-ASC Inflammasome Activation Interferes with Insulin Signaling ». *Nature Immunology* 12 (5):408-15. <https://doi.org/10.1038/ni.2022>.
- White, Morris F. 2002. « IRS Proteins and the Common Path to Diabetes ». *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 283 (3):E413-422. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00514.2001>.
- White, Phillip J., Patricia L. Mitchell, Michael Schwab, Jocelyn Trottier, Jing X. Kang, Olivier Barbier, et André Marette. 2015. « Transgenic ω -3 PUFA Enrichment Alters Morphology and Gene Expression Profile in Adipose Tissue of Obese Mice: Potential Role for Protectins ». *Metabolism: Clinical and Experimental* 64 (6):666-76. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.01.017>.
- Winer, Shawn, Yin Chan, Geoffrey Paltser, Dorothy Truong, Hubert Tsui, Jasmine Bahrami, Ruslan Dorfman, et al. 2009. « Normalization of Obesity-Associated Insulin Resistance through Immunotherapy ». *Nature Medicine* 15 (8):921-29. <https://doi.org/10.1038/nm.2001>.
- Wójcik, Cezary, Kimberly Lohe, Chenzhong Kuang, Yan Xiao, Zeida Jouni, et Eduard Poels. 2014. « Modulation of Adipocyte Differentiation by Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Involves the Ubiquitin-Proteasome System ». *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 18 (4):590-99.
- Womack, Julie, Phyllis C. Tien, Joseph Feldman, Ja Hyun Shin, Kristopher Fennie, Kathryn Anastos, Mardge H. Cohen, Melanie C. Bacon, et Howard Minkoff. 2007. « Obesity and Immune Cell Counts in Women ». *Metabolism: Clinical and Experimental* 56 (7):998-1004. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2007.03.008>.
- Wong, Scott W., Myung-Ja Kwon, Augustine M. K. Choi, Hong-Pyo Kim, Kiichi Nakahira, et Daniel H. Hwang. 2009. « Fatty Acids Modulate Toll-like Receptor 4 Activation through Regulation of Receptor Dimerization and Recruitment into Lipid Rafts in a Reactive Oxygen Species-Dependent Manner ». *The Journal of Biological Chemistry* 284 (40):27384-92. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.044065>.
- Wu, Huaizhu, Sudip Ghosh, Xiaoyuan Dai Perrard, Lili Feng, Gabriela E. Garcia, Jerry L. Perrard, John F. Sweeney, et al. 2007. « T-Cell Accumulation and Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted Upregulation in Adipose Tissue in Obesity ». *Circulation* 115 (8):1029-38. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.638379>.
- Wynn, Thomas A., Ajay Chawla, et Jeffrey W. Pollard. 2013. « Macrophage Biology in Development, Homeostasis and Disease ». *Nature* 496 (7446):445-55. <https://doi.org/10.1038/nature12034>.
- Xu, Haiyan, Glenn T. Barnes, Qing Yang, Guo Tan, Daseng Yang, Chieh J. Chou, Jason Sole, et al. 2003. « Chronic Inflammation in Fat Plays a Crucial Role in the Development of Obesity-Related Insulin Resistance ». *The Journal of Clinical Investigation* 112 (12):1821-30. <https://doi.org/10.1172/JCI19451>.
- Xu, Sheng, Yanmei Han, Xiongfei Xu, Yan Bao, Minggang Zhang, et Xuetao Cao. 2010. « IL-17A-Producing Gammadelta T Cells Promote CTL Responses against *Listeria Monocytogenes* Infection by Enhancing Dendritic Cell

- Cross-Presentation ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 185 (10):5879-87. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001763>.
- Yan, Yiqing, Wei Jiang, Thibaud Spinetti, Aubry Tardivel, Rosa Castillo, Carole Bourquin, Greta Guarda, Zhigang Tian, Jurg Tschopp, et Rongbin Zhou. 2013. « Omega-3 Fatty Acids Prevent Inflammation and Metabolic Disorder through Inhibition of NLRP3 Inflammasome Activation ». *Immunity* 38 (6):1154-63. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.05.015>.
- Yañez, Rosa, María Luisa Lamana, Javier García-Castro, Isabel Colmenero, Manuel Ramírez, et Juan A. Bueren. 2006. « Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Have in Vivo Immunosuppressive Properties Applicable for the Control of the Graft-versus-Host Disease ». *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 24 (11):2582-91. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2006-0228>.
- Yang, Li, David E. Anderson, Clare Baecher-Allan, William D. Hastings, Estelle Bettelli, Mohamed Oukka, Vijay K. Kuchroo, et David A. Hafler. 2008. « IL-21 and TGF-Beta Are Required for Differentiation of Human T(H)17 Cells ». *Nature* 454 (7202):350-52. <https://doi.org/10.1038/nature07021>.
- Yang, Xuexian O., Athanasia D. Panopoulos, Roza Nurieva, Seon Hee Chang, Demin Wang, Stephanie S. Watowich, et Chen Dong. 2007. « STAT3 Regulates Cytokine-Mediated Generation of Inflammatory Helper T Cells ». *Journal of Biological Chemistry* 282 (13):9358-63. <https://doi.org/10.1074/jbc.C600321200>.
- Yao, Z., S. L. Painter, W. C. Fanslow, D. Ulrich, B. M. Macduff, M. K. Spriggs, et R. J. Armitage. 1995. « Human IL-17: A Novel Cytokine Derived from T Cells ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 155 (12):5483-86.
- Yates, Clara M., Philip C. Calder, et G. Ed Rainger. 2014a. « Pharmacology and Therapeutics of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Chronic Inflammatory Disease ». *Pharmacology & Therapeutics* 141 (3):272-82. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.10.010>.
- . 2014b. « Pharmacology and Therapeutics of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Chronic Inflammatory Disease ». *Pharmacology & Therapeutics* 141 (3):272-82. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.10.010>.
- Ye, Jianping, Zhanguo Gao, Jun Yin, et Qing He. 2007. « Hypoxia Is a Potential Risk Factor for Chronic Inflammation and Adiponectin Reduction in Adipose Tissue of Ob/Ob and Dietary Obese Mice ». *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 293 (4):E1118-1128. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00435.2007>.
- Ye, P., F. H. Rodriguez, S. Kanaly, K. L. Stocking, J. Schurr, P. Schwarzenberger, P. Oliver, et al. 2001. « Requirement of Interleukin 17 Receptor Signaling for Lung CXCL Chemokine and Granulocyte Colony-Stimulating Factor Expression, Neutrophil Recruitment, and Host Defense ». *The Journal of Experimental Medicine* 194 (4):519-27.
- Yeop Han, Chang, Atil Y. Kargi, Mohamed Omer, Christina K. Chan, Martin Wabitsch, Kevin D. O'Brien, Thomas N. Wight, et Alan Chait. 2010. « Differential Effect of Saturated and Unsaturated Free Fatty Acids on the Generation of Monocyte Adhesion and Chemotactic Factors by Adipocytes: Dissociation of Adipocyte Hypertrophy from Inflammation ». *Diabetes* 59 (2):386-96. <https://doi.org/10.2337/db09-0925>.
- Yoshida, Hiroki, Mako Nakaya, et Yoshiyuki Miyazaki. 2009. « Interleukin 27: A Double-Edged Sword for Offense and Defense ». *Journal of Leukocyte Biology* 86 (6):1295-1303. <https://doi.org/10.1189/jlb.0609445>.
- Yu, Gang, Xiyang Wu, Marilyn A. Dietrich, Paula Polk, L. Keith Scott, Andrey A. Ptsyn, et Jeffrey M. Gimble. 2010. « Yield and Characterization of Subcutaneous Human Adipose-Derived Stem Cells by Flow Cytometric and Adipogenic mRNA Analyzes ». *Cytotherapy* 12 (4):538-46. <https://doi.org/10.3109/14653241003649528>.
- Yu, Ji Hoon, Kyung Hwan Kim, et Hyeyoung Kim. 2008. « SOCS 3 and PPAR-Gamma Ligands Inhibit the Expression of IL-6 and TGF-Beta1 by Regulating JAK2/STAT3 Signaling in Pancreas ». *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 40 (4):677-88. <https://doi.org/10.1016/j.bioce.2007.10.007>.
- Yuan, Shaopeng, Shimeng Zhang, Yuanyuan Zhuang, He Zhang, Jinye Bai, et Qi Hou. 2015. « Interleukin-17 Stimulates STAT3-Mediated Endothelial Cell Activation for Neutrophil Recruitment ». *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology* 36 (6):2340-56. <https://doi.org/10.1159/000430197>.
- Yusuf, Erlangga, Rob G. Nelissen, Andreea Ioan-Facsinay, Vedrana Stojanovic-Susulic, Jeroen DeGroot, Gerjo van Osch, Saskia Middeldorp, Tom W. J. Huizinga, et Margreet Kloppenburg. 2010. « Association between Weight or Body Mass Index and Hand Osteoarthritis: A Systematic Review ». *Annals of the Rheumatic Diseases* 69 (4):761-65. <https://doi.org/10.1136/ard.2008.106930>.
- Zapata-Gonzalez, Fernando, Felix Rueda, Jordi Petriz, Pere Domingo, Francesc Villarroya, Julieta Diaz-Delfin, Maria A. de Madariaga, et Joan C. Domingo. 2008. « Human Dendritic Cell Activities Are Modulated by the Omega-3 Fatty Acid, Docosahexaenoic Acid, Mainly through PPAR(Gamma):RXR Heterodimers: Comparison with Other Polyunsaturated Fatty Acids ». *Journal of Leukocyte Biology* 84 (4):1172-82. <https://doi.org/10.1189/jlb.1007688>.

- Zappia, Emanuela, Simona Casazza, Enrico Pedemonte, Federica Benvenuto, Ivan Bonanni, Ezio Gerdoni, Debora Giunti, et al. 2005. « Mesenchymal Stem Cells Ameliorate Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Inducing T-Cell Anergy ». *Blood* 106 (5):1755-61. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-04-1496>.
- Zaragosi, Laure-Emmanuelle, Brigitte Wdziekonski, Phi Villageois, Mayoura Keophiphath, Marie Maumus, Tamara Tchkonja, Virginie Bourlier, et al. 2010. « Activin a Plays a Critical Role in Proliferation and Differentiation of Human Adipose Progenitors ». *Diabetes* 59 (10):2513-21. <https://doi.org/10.2337/db10-0013>.
- Zeng, Chun, Xiaoyun Shi, Baojun Zhang, He Liu, Lianjun Zhang, Wenjun Ding, et Yong Zhao. 2012. « The Imbalance of Th17/Th1/Tregs in Patients with Type 2 Diabetes: Relationship with Metabolic Factors and Complications ». *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)* 90 (2):175-86. <https://doi.org/10.1007/s00109-011-0816-5>.
- Zepp, Jarod A., Caini Liu, Wen Qian, Ling Wu, Muhammet F. Gulen, Zizhen Kang, et Xiaoxia Li. 2012. « Cutting Edge: TNF Receptor-Associated Factor 4 Restricts IL-17-Mediated Pathology and Signaling Processes ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 189 (1):33-37. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1200470>.
- Zeyda, M., D. Farmer, J. Todoric, O. Aszmann, M. Speiser, G. Györi, G. J. Zlabinger, et T. M. Stulnig. 2007. « Human Adipose Tissue Macrophages Are of an Anti-Inflammatory Phenotype but Capable of Excessive pro-Inflammatory Mediator Production ». *International Journal of Obesity (2005)* 31 (9):1420-28. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803632>.
- Zhang, Li, Xiao-Yan Wang, Peng-Jun Zhou, Zhe He, Hai-Zhao Yan, Dan-Dan Xu, Ying Wang, et al. 2017. « Use of Immune Modulation by Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells to Treat Experimental Arthritis in Mice ». *American Journal of Translational Research* 9 (5):2595-2607.
- Zhang, Ping, Wooki Kim, Lan Zhou, Naisyin Wang, Lan H. Ly, David N. McMurray, et Robert S. Chapkin. 2006. « Dietary Fish Oil Inhibits Antigen-Specific Murine Th1 Cell Development by Suppression of Clonal Expansion ». *The Journal of Nutrition* 136 (9):2391-98.
- Zhang, Y., R. Proenca, M. Maffei, M. Barone, L. Leopold, et J. M. Friedman. 1994. « Positional Cloning of the Mouse Obese Gene and Its Human Homologue ». *Nature* 372 (6505):425-32. <https://doi.org/10.1038/372425a0>.
- Zhong, Bo, Xikui Liu, Xiaohu Wang, Seon Hee Chang, Xindong Liu, Aibo Wang, Joseph M. Reynolds, et Chen Dong. 2012. « Negative Regulation of IL-17-Mediated Signaling and Inflammation by the Ubiquitin-Specific Protease USP25 ». *Nature Immunology* 13 (11):1110-17. <https://doi.org/10.1038/ni.2427>.
- Zhou, Liang, Ivaylo I. Ivanov, Rosanne Spolski, Roy Min, Kevin Shenderov, Takeshi Egawa, David E. Levy, Warren J. Leonard, et Dan R. Littman. 2007. « IL-6 Programs T(H)-17 Cell Differentiation by Promoting Sequential Engagement of the IL-21 and IL-23 Pathways ». *Nature Immunology* 8 (9):967-74. <https://doi.org/10.1038/ni1488>.
- Zhou, Yixuan, Jingdong Yuan, Bin Zhou, Austin J. Lee, Albert J. Lee, Maher Ghawji, et Tai June Yoo. 2011. « The Therapeutic Efficacy of Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells on Experimental Autoimmune Hearing Loss in Mice ». *Immunology* 133 (1):133-40. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2011.03421.x>.
- Zhu, Shu, Wen Pan, Peiqing Shi, Hanchao Gao, Fang Zhao, Xinyang Song, Yan Liu, et al. 2010. « Modulation of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis through TRAF3-Mediated Suppression of Interleukin 17 Receptor Signaling ». *The Journal of Experimental Medicine* 207 (12):2647-62. <https://doi.org/10.1084/jem.20100703>.
- Zhu, Shu, Wen Pan, Xinyang Song, Yan Liu, Xinrui Shao, Yuanjia Tang, Dong Liang, et al. 2012. « The MicroRNA MiR-23b Suppresses IL-17-Associated Autoimmune Inflammation by Targeting TAB2, TAB3 and IKK- α ». *Nature Medicine* 18 (7):1077-86. <https://doi.org/10.1038/nm.2815>.
- Zuk, P. A., M. Zhu, H. Mizuno, J. Huang, J. W. Futrell, A. J. Katz, P. Benhaim, H. P. Lorenz, et M. H. Hedrick. 2001. « Multilineage Cells from Human Adipose Tissue: Implications for Cell-Based Therapies ». *Tissue Engineering* 7 (2):211-28. <https://doi.org/10.1089/107632701300062859>.
- Zuk, Patricia A., Min Zhu, Peter Ashjian, Daniel A. De Ugarte, Jerry I. Huang, Hiroshi Mizuno, Zeni C. Alfonso, John K. Fraser, Prosper Benhaim, et Marc H. Hedrick. 2002. « Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells ». *Molecular Biology of the Cell* 13 (12):4279-95. <https://doi.org/10.1091/mbc.E02-02-0105>.
- Zúñiga, Luis A., Wen-Jun Shen, Barbara Joyce-Shaikh, Ekaterina A. Pyatnova, Andrew G. Richards, Colin Thom, Sofia M. Andrade, Daniel J. Cua, Fredric B. Kraemer, et Eugene C. Butcher. 2010a. « IL-17 Regulates Adipogenesis, Glucose Homeostasis, and Obesity ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 185 (11):6947-59. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001269>.
- . 2010b. « IL-17 Regulates Adipogenesis, Glucose Homeostasis, and Obesity ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 185 (11):6947-59. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001269>.

Annexe : Revue 2

Beneficial Effects of Fasting on White Adipose Tissue Inflammation and Metabolic Syndrome in Obese Subjects: Review

Abstract

Obesity, a worldwide public health problem is often associated with the metabolic syndrome. Indeed, infiltration of immune cells within obese adipose tissues participates to the establishment of a chronic sub-inflammatory environment leading to insulin resistance. As in various inflammatory disorders, fasting regimens have demonstrated their beneficial effects in reducing obesity and its subsequent metabolic syndrome, through reduction of inflammation in white adipose tissues. In this review, we will highlight how caloric restriction can be protective against obesity associated inflammation and metabolic syndrome.

Background: Obesity is dependent on genetic factors, lifestyle, and diet. Increased incidence of obesity and its subsequent complications, such as type 2 diabetes (T2D), are a worldwide public health problem, as one third of the population in some developed countries is obese, i.e: having a body mass index (BMI) more than 30 kg/m². Interconnection of obesity with metabolic alterations or diseases, such as T2D, dyslipidemia, hypertension, and atherosclerosis is widely recognized, as the metabolic syndrome [1]. Moreover, obesity is also known to be a risk factor of systemic or organ inflammation.

Keywords: Obesity; White adipose tissue inflammation; Caloric restriction; Fasting; Th17 cells; IL-17A; Metabolic syndrome

Review Article

Volume 4 Issue 6 - 2017

Marwa Chehimi¹ and Assia Eljaafari^{1,2*}

¹Univ-Lyon, CarMeN laboratory, , Université Claude Bernard Lyon 1, France

²Clinical Research Department, Hospices civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon-Sud, France

***Corresponding author:** Assia Eljaafari, Inserm U1060-CarMeN, 165 chemin du grand Revoyet, 69310 Pierre Bénite, France, Email: assia.eljaafari@univ-lyon1.fr

Received: April 14, 2017 | **Published:** June 12, 2017

Abbreviations: TD: Type 2 Diabetes; BMI: Body Mass Index; WAT: White Adipose Tissue; SVF: Stromal Vascular Fractions; TLR-4: Toll-Like-Receptor 4; MI: Myocardial Infarction

Introduction

White Adipose Tissue (WAT) inflammation is considered as the causal event leading to insulin resistance, and T2D [2]. Indeed, obese WAT becomes heavily infiltrated by a variety of immune cells [3], with macrophage infiltration occurring at an advanced stage and driving inflammation [4]. In contrast, T cells are likely to play a regulatory role [5], since lean AT are infiltrated by anti-inflammatory CD4⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells (Tregs) and Th2 cells, secreting both IL-10, a cytokine known to improve adipocyte insulin sensitivity [6]. In contrast, CD8⁺ T cell accumulation in AT from obese subjects is known to precede macrophage infiltration, and contribute to WAT inflammation through macrophage recruitment [7]. Besides their function as fat repositories, adipocytes can also be considered as endocrine cells that secrete numerous adipokines involved in the regulation of metabolic homeostasis, with IL-6 and leptin being pro-inflammatory while adiponectin is anti-inflammatory [8]. Therefore, a crosstalk between adipocytes and immune cells that infiltrate WAT may govern homeostasis under physiological conditions, but contribute to the establishment of a chronic sub-clinical inflammation, a prerequisite for insulin resistance,

during obesity. A recently discovered T-cell lineage playing a central role in WAT inflammation corresponds to the T-helper 17 (Th17) cell subset [9], which mainly secretes IL-17A and IL-17F pro-inflammatory cytokines [10]. IL-17A/F play a crucial role against extracellular bacterial or fungi infections but also induce secretion of other pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β and IL-6, by a variety of immune and non-immune cells, including monocytes, stromal cells, adipocytes and stem cells, which all express IL-17A/F receptors [11]. Th17 cells have been implicated in the pathogenesis of various autoimmune diseases, such as psoriasis, multiple sclerosis and/or rheumatoid arthritis [12,13]. Interestingly, IL-17A secretion was demonstrated to be increased not only in the periphery of obese patients [14], but also within their WAT [15]. IL-17A has also been suggested to favor the development of insulin resistance, through down-regulation of multiple pro-adipogenic transcription factor expression, such as PPAR γ , C/EBP α , leading to inhibition of adipogenesis [16]. Recently, we have reported that adipose stem cells (ASC) from obese, but not lean donors, contribute to Th17 promotion through contact-dependent interactions and soluble factor secretion [17]. ASC-mediated IL-17A secretion was associated with increased secretion of IL-1 β by monocytes and IL-6 by ASC (Figure 1A). Interestingly, IL-17A secretion was also found to be increased in the stromal vascular fractions (SVF) of obese, but not lean subjects [17,18].

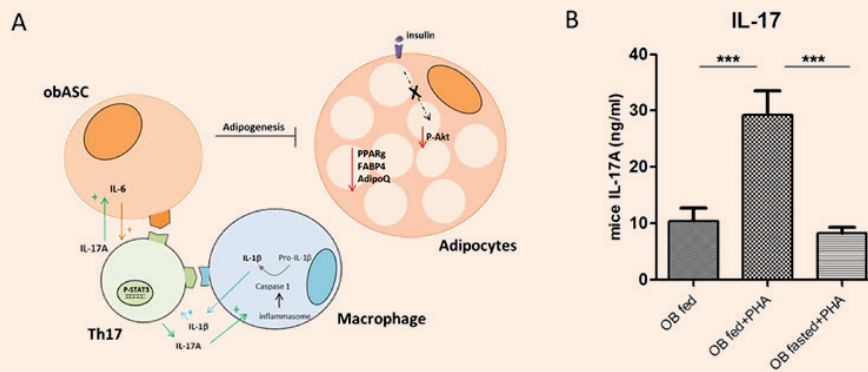


Figure 1: T helper cell (Th)17 activation in obese adipose tissue (AT) is reversed by short-term fasting. (A) Obese adipose stem cells (ASC) polarize AT-infiltrating CD4+ T cells towards IL-17A-secreting Th17 cells and increase IL-1 β secretion by monocytes, which amplify IL-17A secretion. In turn, IL-6 secretion is increased in ASC, together with increased resistance to insulin, and inhibition of adipogenesis (from Eljaafari et al model). (B) ob/ob mice were fed or fasted overnight and IL-17A secretion was evaluated in stromal vascular fraction derived from visceral AT after phytohemagglutinin (PHA) activation during 48 hours. Short-term fasting mice markedly suppressed pro-inflammatory IL-17A secretion.

Dietary Restrictions and Inflammation

Systemic Effects

Caloric restriction (CR) is an effective intervention in the management of inflammatory, and or auto-immune diseases. Indeed, fasting appears to play a role in reducing inflammation, likely resulting from different mechanisms. The possible antioxidative effect of fasting was evaluated by Faris, in 50 Ramadan fasters avoiding food for almost 12 hours per day during a 28-day period [19]. Systemic pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α , were measured 7-d, 21-d, and 1-month after Ramadan fasting. Reduced IL-1 β , IL-6, and TNF- α levels were observed after 21 day fasting and decreased IL-6 levels were maintained 1 month after Ramadan fasting, indicating sustained effects of fasting on systemic inflammation. Supporting these results, another study by Dogan et al. demonstrated, that intermittent CR in rodents resulted in decreasing serum IL-6 and TNF- α levels by 24-fold, and 11-fold lower, respectively, as compared to ad-libitum fed mice, together with reducing IGF-I and leptin levels [20]. Moreover, a positive correlation between IL-6 /TNF- α levels and body weights was observed, suggesting that beneficial effects of CR may be related to regulation of pro-inflammatory cytokine pathways. Heat-generated advanced glycation end products (AGE) can also contribute to induction of inflammation in multiple organs, such as pancreas, heart, vessels, kidney and/or retina. They can be induced by dietary glycotoxins, but diet restriction was demonstrated to suppress their induction [21]. The reduction of inflammatory markers under CR might reduce metabolic syndrome linked to obesity and overfeeding. Finally, besides its effects on chemotherapy toxicity [22] - by reducing IGF-I, insulin, glucose levels, and increasing ketone body levels - fasting appears to protect against oxidative stress-induced DNA damage and carcinogenesis [23].

Effects of fasting on organ inflammation

Obesity leading to metabolic syndrome is a risk factor for several diseases as liver, heart diseases, rheumatoid arthritis (RA)

and stroke. In liver, alternate day food restrictions were shown to suppress the expression levels of Toll-like-receptor 4 (TLR-4) and nuclear factor κ B (NF- κ B) protein in the liver and pro-inflammatory genes, such as IL-1 β , TNF- α , and serum amyloid A (SAA) [24].

Similar results were obtained in heart, using an animal model of myocardial infarction (MI), where intermittent fasting was tested. The size of the ischemic infarct 24-h following permanent ligation of a coronary artery was significantly smaller and markers of inflammation, i.e. infiltration of leukocytes in the area at risk and plasmatic IL-6 levels, were reduced in intermittent fasted rats compared to controls [25]. Moreover, intermittent fasting resulted in increased levels of circulating adiponectin after MI, with adiponectin being considered as an anti-inflammatory adipokine.

RA is a chronic inflammatory disease where synovium inflammation plays a predominant role. Obesity leading to metabolic syndrome is a risk factor of RA, since obese RA patients displayed more active and severe RA disease than lean RA patients [26,27]. In RA patients, synovial levels of IL-6 are high. IL-6 has a preponderant role in regulating the acute phase response, activation of T-cells, and proliferation of synovial fibroblasts. A 7-day fasting in 10 patients with RA, significantly reduced serum IL-6 and CRP levels, resulting in significant decrease of TNF- α in synoviocytes [28]. In another study, 8-day fasting was clinically evaluated in RA patients and resulted in decreased disease activity scores [29].

In stroke, pro-inflammatory cytokines and chemokines, are quickly produced by neuronal, glial and endothelial cells following an ischemic event, due to the presence of high levels of intracellular Ca²⁺ and ROS, in addition to a low oxygen environment in the brain (hypoxia). CR was shown to protect and improve neuronal survival from glutamate toxicity in rodent models through increasing neurotrophic factors such as BDNF and β -FGF resulting in the activation of transcription factor cyclic AMP response element binding (CREB) protein [30].

Effects of fasting on adipose tissue inflammation and metabolic syndrome

AT responds dynamically to changes in nutrient availability, through triglyceride stockage or lipolysis. Thus overfeeding reduces lipolysis, and dyslipidemic subjects have larger subcutaneous adipocytes than controls [31]. Food restriction appears able to (i) increase lipolysis resulting in reduction of adipocyte size, (ii) increase adiponectin secretion, and (iii) reduce leptin, IL-1 β , IL-6, VEGF- α , MCP-1 and CD-68 expression in WAT [32]. Accordingly, insulin sensitivity was improved, together with decreased blood glucose levels, in a 6 months twice-weekly CR diet [33]. IL-17A secretion is also increased in obese WAT, as reported by us and others [10,14,15,17,18]. Therefore, using our previously experimental model able to promote Th17 cell activation in obese WAT [17], we analyzed the effects of overnight fasting in genetically modified ob/ob mice and observed a marked reduction in IL-17A secretion (Figure 1B), suggesting that short-term fasting can be sufficient enough to inhibit Th17 cell activation in WAT. Finally, CR seems also able to reduce WAT inflammation even in non-obese individuals, as assessed by sterile inflammation models, where the effects of fasting on WAT inflammation have been tested in stressed rat. Indeed, fasting reduced visceral WAT TNF- α , and subcutaneous WAT IL-1 β , as well as plasmatic insulin and leptin levels [34].

Altogether these studies indicate that dietary restrictions may be useful for reducing the risk of acute or chronic inflammatory diseases, notably in obese individuals. Indeed, human and animal models as well, have enabled the demonstration that fasting regimens can modulate systemic, and/or tissue inflammatory processes, and improve metabolic markers.

References

- Despres JP, Lemieux I (2006) Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature* 444(7121): 881-887.
- Donath MY, Shoelson SE (2011) Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat rev Immunol* 444(7121): 881-887.
- Osborn O, Olefsky JM (2012) The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nature medicine* 18(3): 363-374.
- Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, et al. (2003) Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 112(12): 1796-808.
- Lumeng CN, Maillard I, Saultel AR (2009) T-ing up inflammation in fat. *Nat med* 15(8): 846-847.
- Feuerer M, Herrero L, Cipolletta D, Naaz A, Wong J, et al. (2009) Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nat med* 15(8): 930-939.
- Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, et al. (2009) CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat med* 15(8): 914-920.
- Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh K (2003) Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin lipidol* 14(6): 561-566.
- Fouser LA, Wright JF, Dunussi-Joannopoulos K, Collins M (2008) Th17 cytokines and their emerging roles in inflammation and autoimmunity. *Immunol rev* 226: 87-102.
- Ahmed M, Gaffen SL (2010) IL-17 in obesity and adipogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 21(6): 449-453.
- Gaffen SL (2011) Recent advances in the IL-17 cytokine family. *Curr Opin Immunol* 23(5): 613-619.
- Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y (2008) The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity* 28(4): 454-467.
- Eljaafari A, Miossec P (2013) Cellular sides of acquired immunity (T cells). Chapter in *Oxford Textbook of Rheumatology* (4th end), Oxford University Press, USA.
- Sumarac-Dumanovic M, Stevanovic D, Ljubic A, Jorga J, Simic M, et al. (2009) Increased activity of interleukin-23/interleukin-17 proinflammatory axis in obese women. *Int J Obes (Lond)* 33(1): 151-156.
- Fabbrini E, Cella M, McCartney SA, Fuchs A, Abumrad NA, et al. (2013) Association between specific adipose tissue CD4+ T-cell populations and insulin resistance in obese individuals. *Gastroenterology* 145(2): 366-374.e1-e3.
- Ahmed M, Gaffen SL (2013) IL-17 inhibits adipogenesis in part via C/EBP α , PPAR γ and Krüppel-like factors. *Cytokine* 61(3): 898-905.
- Eljaafari A, Robert M, Chehimi M, Chanon S, Durand C, et al. (2015) Adipose Tissue-Derived Stem Cells From Obese Subjects Contribute to Inflammation and Reduced Insulin Response in Adipocytes Through Differential Regulation of the Th1/Th17 Balance and Monocyte Activation. *Diabetes* 64(7): 2477-2488.
- Chehimi M, Robert M, Bechwaty ME, Vial G, Rieusset J, et al. (2016) Adipocytes, like their progenitors, contribute to inflammation of adipose tissues through promotion of Th-17 cells and activation of monocytes, in obese subjects. *Adipocyte* 5(3): 275-282.
- Faris MA, Kacimi S, Al-Kurd RA, Fararjeh MA, Bustanji YK, et al. (2012) Intermittent fasting during Ramadan attenuates proinflammatory cytokines and immune cells in healthy subjects. *Nutr Res* 32(12): 947-955.
- Dogan S, Ray A, Cleary MP (2017) The influence of different calorie restriction protocols on serum pro-inflammatory cytokines, adipokines and IGF-I levels in female C57BL6 mice: short term and long term diet effects. *Meta Gene* 12: 22-32.
- Vlassara H, Cai W, Crandall J, Goldberg T, Oberstein R, et al. (2002) Inflammatory mediators are induced by dietary glycotoxins, a major risk factor for diabetic angiopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(24): 15596-15601.
- Raffaghello L, Lee C, Safdie FM, Wei M, Madia F, et al. (2008) Starvation-dependent differential stress resistance protects normal but not cancer cells against high-dose chemotherapy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(24): 8215-8220.
- Longo VD, Mattson MP (2014) Fasting: molecular mechanisms and clinical applications. *Cell Metab* 19(2): 181-192.
- Yang W, Cao M, Mao X, Wei X, Li X, et al. (2016) Alternate-day fasting protects the livers of mice against high-fat diet-induced inflammation associated with the suppression of Toll-like receptor 4/nuclear factor κ B signaling. *Nutr Res* 36(6): 586-593.
- Wan R, Ahmet I, Brown M, Cheng A, Kamimura N, et al. (2010) Cardioprotective effect of intermittent fasting is associated with an elevation of adiponectin levels in rats. *J Nutr Biochem* 21(5): 413-417.
- Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Koutedakis Y, Kitas GD (2011) Obesity in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 50(3): 450-462.

27. Jhun JY, Yoon BY, Park MK, Oh HJ, Byun JK, et al. (2012) Obesity aggravates the joint inflammation in a collagen-induced arthritis model through deviation to th17 differentiation. *Exp Mol Med* 44(7): 424-431.
28. Fraser DA, Thoen J, Djøseland O, Førre O, Kjeldsen-Kragh J (2000). Serum levels of interleukin-6 and dehydroepiandrosterone sulphate in response to either fasting or a ketogenic diet in rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol* 18(3): 357-262.
29. Michalsen A, Riegert M, Lüdtke R, Bäcker M, Langhorst J, et al. (2005) Mediterranean diet or extended fasting's influence on changing the intestinal microflora, immunoglobulin A secretion and clinical outcome in patients with rheumatoid arthritis and fibromyalgia: an observational study. *BMC Complement Altern Med* 5: 22.
30. Fann DY, Ng GY, Poh L, Arumugam TV (2017) Positive effects of intermittent fasting in ischemic stroke. *Exp Gerontol* (89): 93-102.
31. Varady KA, Roohk DJ, Loe YC, McEvoy-Hein BK, Hellerstein MK, et al. (2007). Effects of modified alternate-day fasting regimens on adipocyte size, triglyceride metabolism, and plasma adiponectin levels in mice. *J Lipid Res* 48(10): 2212-2219.
32. Romero Mdel M, Fernández-López JA, Esteve M, Alemany M (2009) Different modulation by dietary restriction of adipokine expression in white adipose tissue sites in the rat. *Cardiovasc Diabetol* 8: 42.
33. Harvie MN, Pegington M, Mattson MP, Frystyk J, Dillon B, et al. (2011) The effects of intermittent or continuous energy restriction on weight loss and metabolic disease risk markers: a randomized trial in young overweight women. *Int J Obes (Lond)* 35(5): 714-727.
34. Speaker KJ, Paton MM, Cox SS, Fleshner M (2016) A Single Bout of Fasting (24h) Reduces Basal Cytokine Expression and Minimally Impacts the Sterile Inflammatory Response in the White Adipose Tissue of Normal Weight F344 Rats. *Mediators of Inflammation* 2016(2016): 13.

Régulations fonctionnelles des lymphocytes T par les cellules souches adipocytaires : implication dans l'inflammation chronique et l'insulino-résistance du tissu adipeux du sujet obèse

En condition d'obésité, le tissu adipeux est le théâtre d'infiltration et d'accumulation de cellules immunitaires dont les lymphocytes Th17, impliqués dans de nombreuses maladies inflammatoires chroniques et auto-immunes. Les mécanismes d'activation et de prolifération des Th17 au sein du tissu adipeux ne sont pas connus. Nous avons suggéré un rôle des cellules souches adipocytaires (CSA) dans l'induction de l'inflammation médiée par les Th17. Nos résultats montrent, pour la première fois, et grâce à un modèle de co-culture combinant les CSA du tissu adipeux obèse avec des cellules mononucléées du sang circulant, que seules les CSA issues de sujets obèses, et non pas de sujets minces, sont capables d'induire l'activation des Th17 et des monocytes, qui en retour activent la sécrétion d'IL-6 par les CSA. L'environnement inflammatoire, induit par cette interaction, est à l'origine de l'inhibition de l'adipogenèse et de la réduction de la sensibilité à l'insuline des adipocytes. De plus, tout comme les CSA, les adipocytes issus de sujets obèses induisent le même phénotype inflammatoire. Enfin, une étude en cours nous a permis de montrer que les acides gras polyinsaturés de type ω -3, inhibent spécifiquement l'activation des Th17 mais n'ont aucun impact sur les monocytes inflammatoires, dans notre modèle, possiblement lié à une inhibition de l'expression d'ICAM-1. En conclusion, une triade inflammatoire constituée de CSA ou d'adipocytes issus de sujets obèses combinés avec des monocytes et des Th17, forme un cercle vicieux où l'inflammation est maintenue et amplifiée.

Mots clés : obésité, cellules souches adipocytaires, inflammation, Th17, monocytes, oméga-3, métabolisme

Regulation of T lymphocytes by adipose stem cells: impact on chronic inflammation and insulin-resistance in obese adipose tissue

In obesity, adipose tissue is massively infiltrated by a panel of inflammatory immune cells such as IL-17-secreting Th17 lymphocytes. The mechanisms by which Th17 cells are induced are less understood. We postulated that adipose stem cells (ASC), which are known to play immunomodulatory functions in contact with immune cells, might be involved in Th17 activation. By using an *in-vitro* co-culture model, we demonstrated for the first time, that ASC issued from obese, but not lean AT were able to activate IL-17 secretion from Th17 cells, and IL-1 β secretion from monocytes. In turn, such an interaction led to increased secretion of IL-6 from ASC. The inflammatory environment generated from this interaction was then able to inhibit adipogenesis and adipocyte insulin-sensitivity. We also showed that adipocytes harvested from obese adipose tissue were able to promote Th17 cell and monocyte activation. Finally, we demonstrated that polyunsaturated fatty acids omega-3 presented anti-inflammatory properties towards Th17 cells, while they had no effect on monocytes in our co-culture model (manuscript in preparation), which was related to decrease of ICAM-1 expression. In conclusion, we highlight herein a crosstalk between ASC, monocytes and Th17 cells in obese adipose tissue, which leads to a vicious circle of pro-inflammatory cytokine secretion.

Keywords: obesity, adipose stem cells, inflammation, Th17 cells, monocytes, omega-3, metabolism