



En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier

Présentée et soutenue par Mathieu ROUMIGUIE

Le 12 avril 2022

Caractérisation structurale et fonctionnelle du tissu adipeux périprostatique : implication dans le cancer de la prostate

Ecole doctorale : BSB - Biologie, Santé, Biotechnologies

Spécialité : CANCEROLOGIE

Unité de recherche : IPBS - Institut de Pharmacologie et Biologie Structurale

> Thèse dirigée par Catherine MULLER et Delphine MILHAS

> > Jury

Mme Sophie GIORGETTI-PERALDI, Rapporteure M. FREDERIC BOST, Rapporteur M. Alexandre DE LA TAILLE, Rapporteur Mme Catherine MULLER, Directrice de thèse Mme Delphine MILHAS, Co-directrice de thèse M. Philippe VALET, Président

I.	LIS	TE DES ABREVIATIONS	. 3			
II.	INT	RODUCTION	. 5			
А	. L	e cancer de la Prostate	. 5			
	1.	Épidémiologie du Cancer de la Prostate	. 5			
	2.	Les facteurs de risque du Cancer de la Prostate	.7			
	3.	Description anatomique et physiologique de la prostate	.9			
	4.	L'histologie du Cancer de la prostate	15			
	5.	Diagnostic du Cancer de la prostate	16			
	6.	Le Traitement du cancer de la prostate	19			
В	. L	e tissu adipeux	26			
	1.	Les tissus adipeux blancs	26			
	2.	Composition cellulaire du TA	28			
	3.	La matrice extra-cellulaire (MEC) du TA	34			
	4.	L'organisation vasculaire des tissus adipeux	40			
	5.	Les fonctions du TA :	41			
	6.	Les interactions réciproques entre les androgènes et le TA	48			
	7.	Les modifications du TA en situations physiologiques	52			
С	. L	e Tissu adipeux péri-prostatique : un nouvel acteur dans la progression du CaP	51			
	1.	Description anatomique du tissu adipeux péri-prostatique	51			
	2.	Rôle Paracrine du TAPP dans l'agressivité du CaP	53			
	3.	Effet de l'obésité sur les fonctions paracrines du TAPP :	58			
	4.	Cas particulier du TAPP abondant :	71			
III.	Rev	view: PPAT a heavy player in prostate cancer progression	30			
IV.	Res	ultats	37			
A ca	. L apaci	e tissu adipeux périprostatique présente un état d'hypoxie chronique qui limite ses tés à s'expandre	37			
B po	. L ourra	e remodelage de la matrice extra-cellulaire facilite l'expansion du TAPP abondant e it expliquer son rôle dans la progression du CaP14	et 40			
V.	DISCUSSION					
VI.	. CONCLUSION					
VII.	/II. REFERENCES					

I. LISTE DES ABREVIATIONS

AG Acides Gras

AGL Acides Gras Libres ATGL Adipose Triglyceride Lipase ASC cellules progénitrices CAAs Cancer-Associated Adipocytes CAF Cancer-Associated Fibroblasts CaP Cancer de la prostate CCL7 Chemokine [C-C motif] Ligand 7 CCR3 Chemokine [C-C motif] Receptor 3 CLS Crown-Like Structure CSMs Cellules souches mésenchymateuses ER Récepteurs aux oestrogènes FSH Follicle-stimulating hormone **GnRH Gonadotropin-Releasing Hormone** HBP Hypertrophie Bénigne de la Prostate HDL High Density Lipoprotein **HFD High Fat Diet** HIF-1 Hypoxia-Inducible Factor-1 HSL Hormone-Sensitive Lipase PCPT: prostate cancer prevention trial IESA Incidence estimée standardisée par l'âge IGF Insulin-like Growth Factor Index PHI: Prostate health Index Inhibiteurs de PARP Inhibiteur de poly(ADP-ribose) polymérase IMC Indice de Masse corporelle IRM Imagerie par Résonance Magnétique ISUP International society of Urological Pathology JAK2/STAT3 Janus Kinases/Signal Transducers and Activators of Transcription LHRH Luteinizing Hormone-Releasing Hormone LH Luteinizing hormone

LOX Lysyl Oxydase MAG Monoacylglycerol MAGL Monoacylglycerol lipase MAPK Mitogen-Activated Protein Kinases MCP1: Monocyte Chemotactic protein 1 **MEC Matrice Extracellulaire** MHO Metabolically Healthy Obese MMP Matrix Metalloprotease MUNW Metabolically Unhealthy Normal Weight NO Monoxide d'azote PI3K Phosphoinositide 3-Kinase PGs protéoglycanes PSA Prostatic Specific Antigen PTEN Phosphatase and Tensin Homolog Score PCA3 Score Prostate cancer Antigen 3 SVF Stroma-Vascular Fraction TA Tissu Adipeux TAPP Tissu adipeux périprostatique TG Triglycéride TNM Tumor, Nodes, Metastases VHL Von-Hippel Lindau

II. INTRODUCTION

A. Le cancer de la Prostate

1. Épidémiologie du Cancer de la Prostate

En France, le nombre de nouveaux cas de cancer de la prostate (CaP) diagnostiqués en 2018 est estimé à 50 430. Le CaP est le plus fréquent des cancers solides chez l'homme (25%). L'incidence du CaP a augmenté entre 1990 et 2005 suite à l'utilisation du dosage sanguin du PSA (Prostatic Specific Antigen) comme marqueur tumoral de détection. Par la suite le taux d'incidence a diminué jusqu'en 2015 et s'est stabilisée jusqu'à nos jours (figure 1). L'incidence du CaP varie avec l'âge des hommes. Avant 50 ans, l'incidence est faible avec un nombre de 46 CaP pour 100 000 hommes par an. Elle augmente progressivement pour atteindre son maximum dans la tranche d'âge 65-69 ans avec un nombre de 12083 (figure 2) (1). L'âge médian au diagnostic en 2018 est de 68 ans et le CaP survient dans environ 66% des cas après 65 ans (2)



Figure 1 : Évolution de l'incidence du cancer de la prostate de 1990 à 2020 (figure personnelle produite à partir des chiffres de l'INCA, https://www.e-cancer.fr)



Figure 2 : Taux d'incidence et de mortalité du Cancer de la Prostate selon la classe d'âge en France en 2015 (d'après l'INCA, https://www.e-cancer.fr)

Dans le monde, le CaP est la 2^{ème} tumeur solide la plus fréquente avec une incidence estimée standardisée par l'âge (IESA) de 23,6/100000 hommes, derrière le cancer du poumon (IESA 25.1). Il existe des grandes disparités entre les pays avec globalement une incidence très élevée dans les pays occidentaux. L'incidence la plus élevée est retrouvée en France dans le département de la Guadeloupe (183,6/100000) alors que la république de Bhutan a l'incidence la plus faible avec (0,9/100000) (IESA) (3) (figure 3).



Figure 3 : Représentation de l'incidence mondiale estimée standardisée par l'âge du Cancer de la Prostate en 2020 (d'après le site Globocan https://gco.iarc.fr)

En France, le nombre de patients décédés d'un CaP était de 8512 en 2015. Le CaP est la 3^{ème} cause de décès par cancer. L'âge de médian de décès par CaP est de 83 ans, et près de 79% des décès concernent des hommes de 75 ans et plus. Dans le monde, le nombre de décès rapportés au CaP était de 359000 en 2018. Responsable d'environ 7% des décès par cancer, le CaP est classé 4^{eme} cause de décès par cancer en 2018 derrière les cancers du poumon, du foie et de l'estomac chez l'homme (3).

La mortalité du CaP est en baisse constante depuis les années 1990 et concerne désormais toutes les tranches d'âge en France. La variation annuelle entre 2010 et 2015 est estimée à -3,7 (1). Cette baisse peut être attribué à plusieurs évolutions : tout d'abord l'utilisation du PSA a permis de diagnostiquer des tumeurs au stade localisé et donc accessible à un traitement curatif(4). De plus, l'émergence de nouvelles classes thérapeutiques a permis d'augmenter les possibilités de traitements et de prolonger la vie des patients métastatiques. Cela laisse une place importante, à un décès non spécifique chez ces patients qui ont une morbi-mortalité compétitive notamment cardiovasculaire très importante (5, 6).

2. Les facteurs de risque du Cancer de la Prostate

Les facteurs de risque de survenue d'un CaP reconnus sont (7, 8) :

- <u>L'âge :</u> Comme détaillé dans la partie épidémiologie, l'âge est un des facteurs de risque les plus important dans la survenue d'un CaP (3). D'ailleurs, il est acquis que la plupart des hommes présentent un CaP au moment de leur décès. En effet, des données issues d'autopsies d'hommes décédés de causes diverses ont révélé la présence de lésions cancéreuses chez 70 à 90% des hommes à l'âge de 80-90 ans (9).
- L'origine ethnique : Les populations de descendance Africaine ont un risque plus élevé de CaP. De nombreux mécanismes moléculaires sont étudiés pour tenter d'expliquer cette association (10). Par exemple, le taux sanguin de testostérone, le taux de mutations constitutionnelles et tumorales du récepteur aux androgènes ou les altérations du locus q24 répresseur de tumeur sur le chromosome 8 sont plus importants chez les hommes d'origine Afro Antillaise ayant un CaP (11-13). L'analyse génomique de tumeurs de patients d'origine Afro Américaine en comparaison avec une population de patient d'origine européenne, montre que les tumeurs sont

enrichies en cytokines pro-inflammatoires alors que l'activité du récepteur aux androgènes est diminuée (14).

- Les pesticides tel que la Chlordecone (Képone) utilisée en Guadeloupe et en Martinique dans les bananeraies est un facteur de risque environnemental du CaP. Il semblerait que la substance toxique altère les métabolites actifs du gène Glutathione S-Transferase genes T1 (GSTT1) et favorise le développement du CaP (15). De plus la Chlordecone est un perturbateur endocrinien qui interfère avec les récepteurs nucléaires alpha et ß aux œstrogènes (ER) (16, 17). Les récepteurs ER α favorise les effets néfastes des œstrogènes tels que la prolifération cellulaire, l'inflammation alors que les ER ß sont plus protecteurs contre le cancer avec des effets antiprolifératif et pro-apoptotique (18). L'interaction de la Chlordecone avec les ER entraine une activation des récepteurs α et un effet antagoniste sur les récepteurs B qui facilite la prolifération tumorale.
- Les antécédents familiaux et la transmission d'anomalie génétiques concernant les gènes de réparation de l'ADN sont aussi reconnus comme des facteurs de risque du CaP. Un homme présentant une mutation germinale du gène BRCA2 présente un risque multiplié par 2,64 de CaP, associé à une diminution de la survie sans récidive et spécifique(19, 20).

D'autres facteurs semblent être associés au CaP sans qu'ils soient encore clairement considérés comme des facteurs de risques mais plutôt des facteurs d'agressivité.

L'obésité : l'association entre obésité et CaP n'est pas clairement démontrée. Une méta analyse rapporte que l'obésité est associée d'une part à une diminution du risque de présenter un CaP localisé et d'autre part à une augmentation du risque de CaP de stade avancé (21). A l'inverse d'autres études infirment cette hypothèse du rôle de l'obésité dans le CaP (22, 23). Ce que l'on sait, c'est que l'obésité entraine une diminution du taux sanguin total du PSA. Ce marqueur tumoral est utilisé pour le diagnostic précoce du CaP avec d'ailleurs un seuil qui peut être adapté à l'âge, ou volume de la prostate (la densité du PSA) mais rarement à l'IMC (Indice de Masse Corporelle). Ainsi on peut supposer que les patients obèses ayant un taux de PSA plus faible ont des CaP diagnostiqués plus tardivement et donc à des stades plus agressifs (24). De façon similaire au cancer du sein, il est suggéré par des équipes que les variations de poids au cours de la vie pourraient être associé au CaP. En effet, l'obésité

d'un jeune adulte pourrait entrainer une diminution du risque de CaP alors qu'une prise de poids chez un adulte non obèse pourrait avoir l'effet inverse (25, 26).

Le syndrome métabolique est défini par la présence d'au moins 3 des signes_suivants : l'augmentation du périmètre abdominal (>100 cm chez l'homme) ; l'hyperglycémie ; l'hypertension artérielle ; une perturbation du bilan du Cholestérol par augmentation des triglycérides et/ou une baisse des HDL (High Density Lipoprotein) (27). Les résultats d'une méta analyse ont confirmé que l'hypertension et l'augmentation du périmètre abdominal étaient associés au risque de CaP. Néanmoins, dans cet article, le syndrome métabolique était un facteur de risque de CaP seulement lorsque les études européennes étaient prises en compte dans l'analyse (28). Ces résultats renforcent l'hypothèse d'une surexposition des populations occidentales à des perturbations endocriniennes dues au régime alimentaire et aux habitudes de vie (sédentarité, exposition au plastiques) qui sont le terreau des cancers hormono-dépendant tel que le CaP (29). Le lien entre le syndrome métabolique et le CaP existe également lors de l'évolution de la maladie vers un stade plus avancé lorsqu'une déprivation androgénique est nécessaire. Le castration chimique (bloquant l'axe hypothalamohypophysaire) et la castration chirurgicale favorisent l'apparition d'un syndrome métabolique (30).

3. Description anatomique et physiologique de la prostate

a) Description anatomique

La prostate est une glande annexée aux voies génitales, entourant le carrefour urogénital. Elle a la forme d'un cône aplati en avant avec une base supérieure. La base est divisée en 2 parties l'une antérieure en rapport avec la vessie et l'autre postérieure en rapports avec les vésicules séminales et les canaux éjaculateurs. L'apex est en rapport avec le sphincter de l'urètre et l'urètre. Sa forme est souvent comparée à une châtaigne. La configuration externe (figure 4) de la prostate est décrite par :

- D'une face antérieure, verticale et plane au contact d'une partie du tissu adipeux périprostatique (TAPP) antérieur.
- D'une face postérieure, convexe, présentant une gouttière verticale médiane (2 lobes latéraux) qui est palpable lors d'un toucher rectal.
- De 2 faces inféro-latérales, convexes, inclinées en bas et en dedans
- D'un apex (bec) où débouche urètre



Figure 4 : Configuration externe de la prostate (vue dorso-latérale gauche)

L'anatomopathologiste John McNeal a décrit après un long (estimé à 22 années à l'université de Stanford) et fastidieux (lecture et relecture de plus de 1000 pièces de prostatectomies) travail 4 zones anatomiques prostatiques distinctes (figure 5) :

- <u>La zone centrale</u> qui est postéro-médiane et supérieure, englobant les conduits éjaculateurs
- <u>La zone périphérique</u> qui est postéro-latérale et inférieure, le site du développement de 75 % des cancers
- <u>La zone de transition</u> située latéralement à l'urètre. La prostate connaît plusieurs phases de croissance au cours de la vie au dépend de la zone de transition. Si l'organe est

quasiment inexistant à la naissance, il est observé une première phase de croissance à l'âge de la puberté sous l'influence des androgènes. Après 40 ans, une 2^{ème} phase de croissance démarre entrainant chez plus de 50% des hommes entre 50 et 60 ans et 90% des hommes de plus de 80 ans une hypertrophie prostatique (31, 32). Lorsque cette hypertrophie n'est pas associée à un cancer, elle est appelée hypertrophie bénigne de la prostate (HBP). Elle peut entrainer des symptômes urinaires qui sont dus, entre autres, à la compression de l'urètre par une prostate devenue trop volumineuse.

- <u>La zone fibro-musculaire</u> qui est antérieure



Figure 5 : Anatomie Zonale de la prostate selon Mac Neal

La prostate est située très en profondeur dans la cavité pelvienne, au contact du plancher périnéal (figure 6). Ses rapports sont essentiellement :

- En avant : l'espace graisseux rétropubien avec les ligaments pubo-urétraux et plexus veineux prostatique (de Santorini).
- En arrière : le septum recto-vésical et le cap du rectum.
- En haut : le col de la vessie en avant et les vésicules séminales et canaux éjaculateurs en arrière.
- En latéral : les lames sacro-pubiennes, contenant les éléments vasculo-nerveux et en particulier les branches du plexus hypogastrique dont les nerfs caverneux (expliquant les conséquences sexuelles de la prostatectomie), du Tissu adipeux périprostatique (TAPP),

les muscles du plancher pelvien (élévateur de l'anus et fascia pelvien : diaphragme pelvien).

En bas : l'urètre membraneux avec le sphincter strié.

Ces rapports sont également retrouvés sur les coupes axiale et sagittale de l'IRM (imagerie par résonance magnétique) de la figure 7.



Figure 6 : Coupe sagittale médiane du petit bassin et du périnée chez l'homme (vue du segment droit de la coupe adapté d'après « Reins et voie Urinaires, Appareil génital masculin, Elsevier Masson 2021)



Figure 7 : Coupes Sagittale et axiale d'IRM pelvienne chez l'homme centrées sur la prostate (B : vessie, PS : symphyse pubienne, US : sphincter urétral, DF Fascia de Denovilliers, P Prostate, OM : muscles obturateurs, R : Rectum, PPAT : Tissu adipeux péri prostatique) adapté d'après Estève et al Current Opinion in Endocrine and Metabolic research, 2021

b) Description histologique

La prostate est formée de 30 à 40 lobules qui convergent par des canaux excréteurs vers la cavité urétrale. Chaque lobule est composé d'alvéoles (ou acinus) glandulaires entourés d'un stroma abondant (33). L'épithélium glandulaire qui compose ces acini est formé de 2 couches cellulaires (figure 8) :

- <u>La couche épithéliale luminale</u> (marqueur nucléaire p63–) : les cellules luminales sont différenciées et très nombreuses. Elles synthétisent le liquide prostatique et notamment la glycoprotéine kallicréine 3 appelée aussi antigène prostatique spécifique (PSA). Ces cellules entrent en apoptose lors d'une suppression androgénique, elles sont dites androgéno-dépendantes (34, 35).
- <u>La couche épithéliale basale</u> (marqueur nucléaire p63 +) est située en périphérie. Elle est composée de cellules souches (CD133+) et de cellules en cours de différenciation destinées à remplacer les cellules de la couche luminale. Très proche de la membrane basale, quelques rares cellules neuroendocrines (chromogramine A+) sont présentes pour assurer une bonne viabilité et croissance des cellules luminales. Les cellules basales sont androgéno-sensibles mais pas totalement androgéno-dépendantes car

elles survivent à la castration et sont ensuite capables de reformer un épithélium prostatique complet (34, 35).

Les cellules glandulaires sont séparées du stroma fibro-musculaire par une membrane basale. Le stroma abondant forme des cloisons autour des lobules. Il est composé entre autres de fibroblastes, de myofibroblastes, de cellules musculaires lisses, de cellules immunitaires et de vaisseaux qui sécrètent un grand nombre de facteurs de croissances, cytokines et protéines de la matrice extracellulaire (36). La composition de ce stroma est dépendante des androgènes et varie avec l'âge. L'interaction stroma-épithélium est indispensable au développement physiologique de la prostate (37) mais il a été montré qu'elle joue aussi un rôle majeur dans le développement de pathologies prostatiques comment l'hypertrophie bénigne de la prostate et le cancer (38, 39).



Figure 8 : A/ Organisation histologique de la glande prostatique (extrait du site https://docpedagogie.umontpellier.fr/medecine/histologieLV/index.php?module=detail&subaction=desc&vue=2&itm=43& g=0&d=1); **B/** Schéma des différentes populations cellulaires et du stroma d'un acinus prostatique D'après Van Der Green D.J. et al, Cancer Research, 2008

c) Le rôle physiologique de la prostate

La prostate est une glande exocrine qui sécrète un liquide prostatique représentant environ 20% du liquide séminal. Les 80% restant sont sécrétés par les vésicules séminales.

Le liquide prostatique contient de nombreux ions, polyamines, protéines et enzymes qui permettent au sperme de ne pas coaguler. La prostate a un rôle essentiel dans la liquéfaction du liquide séminal. Une des enzymes majeures sécrétée par la prostate est la kallikréïne 3 ou PSA. Il s'agit d'une glycoprotéine (de 237 acides aminés, d'un poids de 34kDa) de la famille des sérines protéases régulée par les androgènes. Sécrétée à l'état inactive de Pro-PSA, le clivage de 7 acide aminées N terminaux permettra au PSA actif de cliver les séménogélines du coagulat séminal (40) (41).

4. L'histologie du Cancer de la prostate

Le cancer de la prostate est un adénocarcinome dans plus de 90% des cas. Le Pr Donald Gleason (1920-2008) a décrit au cours de sa carrière d'anatomopathologiste, un score histologique permettant de caractériser l'agressivité d'un CaP sur les biopsies ou sur la pièce opératoire de prostatectomie (42). Ce grade de Gleason représentait sur une échelle de 1 à 5 le degré de différenciation des cellules cancéreuses. Un grade de 1 correspond à des cellules très différenciées, proches des cellules prostatiques saines et en général peu agressives alors qu'un score de 5 correspond à des cellules indifférenciées avec une architecture désorganisée et une grande agressivité. Les tumeurs prostatiques étant hétérogènes, le Pr Gleason avait combiné les grades cellulaires les plus représentés ou agressifs selon le type de prélèvement histologique pour créer un score ; le score de Gleason (allant initialement de 2 à 10). Cette classification a été revue une première fois en 2005 pour pallier à quelques insuffisances et à la nécessité d'évoluer parallèlement à l'évolution des connaissances dans le CaP. En 2014, l'International Society of Urological Pathology (ISUP) a proposé une nouvelle classification en 5 groupes pronostiques (figure 9) (43). Le score ISUP permet notamment de faire la différence entre les tumeurs de score de Gleason 7 selon le grade majoritaire. Epstein et al ont confirmé la valeur pronostique de cette nouvelle classification dans une cohorte de plus de 20000 patients traités par prostatectomie totale et 5000 patients traités par radiothérapie. Le risque de récidive biologique à 5 ans du traitement initial variait avec le score ISUP, de 4% pour les scores ISUP 1 à 74 % pour les scores ISUP 5 (44).

	-	
Score ISUP	Score de Gleason	
Groupe 1	6 (3 + 3)	
Groupe 2	7 (3 majoritaire)	
Groupe 3	7 (4 majoritaire)	
Groupe 4	8 (4+4, 3+5, ou 5+3)	
Groupe 5	9 ou 10	



Figure 9. Tableau des Groupes pronostiques de la classification ISUP 2016 Figure des Aspects histologiques de l'adénocarcinome prostatique. Schéma original du Dr. Gleason (à gauche) et schéma modifié à l'occasion de la conférence ISUP de 2015 (à droite). D'après Epstein et al., American Journal of Surgical Pathology, 2016.

Le score de Gleason reste depuis plus de 60 ans, le critère pronostic le plus pertinent dans la prise en charge du CaP. Des tests (Oncotype, Prolaris et Décipher) basés sur différentes signatures moléculaires pourraient permettre de prédire l'agressivité du CaP et d'aider ainsi à la prise de décision thérapeutique. Néanmoins, les données de la littérature reposent sur des études de faible niveau de preuve faisant que ces biomarqueurs tissulaires restent encore en évaluation (45).

5. Diagnostic du Cancer de la prostate

Au stade localisé le CaP est une maladie très souvent asymptomatique. Ainsi une action de détection individuelle pour diagnostiquer le CaP à un stade utile pour le traitement est proposée par les sociétés savantes (7, 8). Les recommandations de l'Association Française d'Urologie proposent d'inclure les patients ayant une espérance de vie > 10 ans dans un processus de détection individuelle du CaP à partir de 50 ans. L'âge de début du programme de détection individuelle peut être adapté en cas de facteurs de risque du CaP. Les hommes ayant des antécédents familiaux de CaP ou étant de descendance Africaine seront invités à cette détection dès l'âge de 40-45 ans (8). Pendant longtemps la surveillance étant annuelle

mais récemment, un ajustement de la fréquence de la surveillance qui serait adaptée au niveau de risque de chaque individu, a été proposé. Les études Européennes rapportent qu'une surveillance tous les 2-4 ans pour la population générale pourrait être suffisante (46). De même, les hommes ayant un PSA < 1 ng/ml à 60 ans pourraient ne plus être surveillés (47). A contraire, les patients à haut risque de CaP ayant un PSA élevé par rapport à l'âge, des antécédents familiaux et/ou des mutation germinales des gènes de réparations de l'ADN (BRCA2), des origines Africaines doivent continuer un suivi régulier annuel.

La détection du CaP repose depuis longtemps sur le dosage du PSA et l'examen clinique de la prostate par le toucher rectal. Plus récemment l'IRM multiparamétrique de la prostate a confirmé son importance dans le chemin diagnostique du CaP.

a) L'examen clinique par le Toucher Rectal

Le toucher rectal est un examen décisif dans la détection du CaP. En effet, si une anomalie est palpée, il faut orienter le patient vers des investigations supplémentaires comprenant souvent des biopsies prostatiques. Il permet de rechercher les cancers de la zone périphérique mais sa valeur prédictive positive est faible et dépendante du taux de PSA (48). Les études rapportent des chiffres variant de 13% à 46%. (49, 50). Enfin, l'exactitude du toucher rectal est proportionnelle aux années d'expérience, ce qui explique les différences de valeurs prédictives positives entre les urologues, les médecins généralistes et les internes d'urologie (51).

b) Le dosage de l'antigène spécifique de la prostate, le PSA

En 1989, Stamey reconnaît le PSA comme marqueur tumoral du cancer de la prostate (52). Depuis, le taux de PSA est largement utilisé par les praticiens pour dépister les hommes à risque de CaP et les orienter vers la confirmation diagnostique histologique par les biopsies prostatiques. Le seuil de PSA habituellement utilisé, est de 4 ng/ml (53). Dans l'étude PCPT (Prostate Cancer Prevention Trial) (54), cette valeur seuil permet d'obtenir une sensibilité de 93% et spécificité de 24% (48). La valeur prédictive positive du PSA varie de 25% à 35% lorsqu'il est compris entre 4 et 10ng/ml et de 50-80% lorsqu'il est supérieur à 10ng/ml (55). Il existe de nombreux faux positifs, surtout chez les patients présentant une infection prostatique et chez 30-50% des patients ayant une hypertrophie bénigne prostatique. Ainsi, certains auteurs rapportent un taux de biopsie positive de seulement 25% lorsque le PSA est compris entre 4 et 10 ng/ml (56, 57). De même, dans la population de l'étude PCPT, Thompson et al montrent un taux significatif de faux négatifs avec 15,2% de CaP détectés, chez des hommes ayant un toucher rectal normal et un PSA< 4ng/ml (58). C'est ainsi que le PSA total a vu dans les séries modernes sa spécificité et sa sensibilité décroître, provoquant chez Stamey, son inventeur, des doutes quant à son utilisé diagnostique (59).

L'utilisation des différentes formes du PSA (la cinétique du PSA, le PSA lié à l'âge) permettrait d'estimer plus précisément le risque de CaP. Les dernières études sur la densité du PSA, calculée par le rapport PSA total/ volume prostatique, montrent une valeur plus discriminante de ce marqueur par rapport au PSA mais aussi une valeur ajoutée en association (60, 61). Des biomarqueurs sont à l'étude depuis plusieurs années dans la détection précoce du CaP. Jusqu'à aujourd'hui, beaucoup montrent des résultats intéressants comme l'index PHI (Prostate Health Index ; score tenant compte de la fraction libre du PSA), le score PCA3 (Prostate Cancer Antigen 3 ; analyse urinaire de l'expression ARNm du gène non codant DD3), le sélect MDX (expression urinaire des ARNm de 3 gènes (DLX1/KLK3 + HOXC6/KLK3) combinés dans un algorithme intégrant des données clinico-biologiques usuelles (PSA, toucher rectal, volume prostatique) sans pour autant pouvoir remplacer le PSA (62).

c) L'IRM multiparamétrique de la prostate

Comme détaillé dans les paragraphes précédents, le PSA et le toucher rectal manquent de précision pour indiquer la réalisation de biopsies. De la même façon, le toucher rectal et l'échographie ne permettent pas guider précisément les biopsies sur les lésions suspectes. En ce sens, l'IRM de la prostate utilisée depuis longtemps dans le bilan pré-thérapeutique a trouvé sa place dans le diagnostic du CaP. L'IRM prostatique est désormais recommandée avant la réalisation de biopsies prostatiques dans l'objectif premier de guider l'échantillonnage prostatique sur des cibles vues à l'IRM (8). Cet examen est dit multiparamétrique (IRMmp) car trois phases spécifiques (T2, Diffusion et perfusion) doivent être acquises selon les recommandations Européennes (63, 64). L'IRMmp apporte une information sur l'anatomie de la glande prostatique (volume, protrusion endovésicale) et sur l'existence de cible prostatique suspecte d'être un CaP. L'utilisation du score PIRADS (Prostate

18

Imaging Reporting and Data System), allant de 1 (risque faible) à 5 (risque élevé), est recommandée pour classer les lésions en fonction de leur niveau de risque de CaP (63). Ainsi l'utilisation récente de l'IRMmp de la prostate avant de réaliser des biopsies prostatiques a permis d'une part, de caractériser des lésions prostatiques et d'estimer avec précision le risque de cancer et d'autre part de guider les biopsies sur les zones suspectes. De plus, comme le score PIRADS est associé au score d'agressivité histologique (le score ISUP), l'IRMmp permet de diminuer le taux de détection des CaP non significatifs (ISUP=1) et d'augmenter le diagnostic des cancers significatifs (ISUP \geq 2) (65). Pour ces raisons l'IRMmp de la prostate est devenue un examen clé dans le diagnostic du CaP.

6. Le Traitement du cancer de la prostate

a) Groupes pronostiques

L'estimation du pronostic d'une maladie est une étape fondamentale avant d'envisager son traitement. Cela permet notamment d'évaluer le rapport entre les bénéfices et les risques d'un traitement. Cette étape est d'autant plus importante dans la prise en charge du CaP car le pronostic peut varier d'une maladie indolente ne nécessitant pas de traitement de première intention à une maladie agressive mettant pas en jeu le pronostic vital du patient. Pour estimer le pronostic d'un CaP supposé non métastatique, le score de Gleason, le taux de PSA sont des paramètres pertinents. De la même façon, le toucher rectal permet de renseigner le stade tumoral du CaP selon la classification du TNM (Tumor Node Metastasis) (tableau 1). Ces 3 éléments clinico-biologiques ont été combinés dans une classification a permis de créer 3 groupes pronostiques :

- Cancer à faible risque évolutif :
 - T1 T2a ET PSA \leq 10 ng/ml ET Gleason \leq 6
 - Survie sans récidive biologique supérieure à 75% à 5 ans après traitement
- Cancer à risque intermédiaire :
 - T2b OU PSA 10 20 ng/ml OU Gleason = 7
 - Survie sans récidive biologique entre 50 et 75% à 5 ans après traitement

- Cancer à haut risque évolutif :
 - T2c T3 OU PSA > 20 ng/ml OU Gleason ≥ 8
 - Survie sans récidive biologique inférieure à 50% à 5 ans après traitement

Cette classification est toujours largement utilisée de nos jours malgré ses limites comme par exemple :

-l'absence de différence faite entre les tumeurs ISUP 2 et 3.

-l'absence d'intégration des données de l'IRM et des biopsies ciblées malgré leurs valeurs ajoutée reconnues dans la stratification du risque (67).

Au cours des dernières années, d'autres classifications ont été proposées pour pallier aux manques de la classification de d'Amico. La plus connue, est celle de Zumsteg et al qui a introduit la notion de risque intermédiaire favorable et défavorable (68). Cette Classification créée à partir de patients traités par radiothérapie a été ensuite validé dans des cohortes de chirurgie (69). Dernièrement, une classification du risque d'évolution prenant en compte les informations des biopsies ciblées sur les lésions IRM a été rapportée (67).

En situation de maladie de risque intermédiaire ou de haut risque d'évolution, un bilan d'extension par une scintigraphie osseuse et une imagerie pelvienne à la recherche d'adénopathie pelviennes (IRM ou tomodensitométrie abdominale avec produit de contraste) doivent être réalisées. Les résultats de ces examens permettront de classer le CaP en maladie localisée : de faible, intermédiaire ou haut risque d'évolution ou en maladie localement avancée ou métastatique (stade NM du TNM) afin d'adapter la prise en charge en charge thérapeutique au pronostic.

Т	T0 : tumeur primitive non retrouvée				
Tumeur primitive	 T1 : tumeur ni palpable au toucher rectal (TR) ni visible en imagerie : T1a : tumeur occupant moins de 5 % du tissu réséqué avec un score de Gleason < 7 ou absence de grade 4 ou 5 ; T1b : tumeur occupant plus de 5 % du tissu réséqué ou un score de Gleason > 7 ou présence de grade 4 ou 5 ; T1c : tumeur découverte sur une biopsie prostatique en raison d'une élévation de la valeur du PSA T2 : tumeur limitée à la prostate : T2a : tumeur atteignant la moitié d'un lobe ou moins ; T2b : tumeur atteignant plus de la moitié d'un lobe mais sans atteindre les deux lobes ; T2c : tumeur atteignant les deux lobes T3 : extension au-delà de la prostate : T3a : extension extraprostatique uni- ou bilatérale ; T3b : extension aux vésicules séminales uni- ou bilatérale T4 : tumeur fixée ou atteignant d'autres structures que les vésicules séminales (sphincter externe, rectum, muscle élévateur de l'anus ou la paroi pelvienne) 				
N Ganglions régionaux	Nx : ganglions régionaux non évalués N0 : absence de métastase ganglionnaire régionale N1 : atteinte ganglionnaire régionale N1 mi : métastase ganglionnaire ≤ 0,2 cm (optionnel)				
M Métastases à distance	Mx : métastases à distance non évaluées M0 : absence de métastase à distance M1 : métastases à distance : M1a : atteinte des ganglions non régionaux ; M1b : atteinte osseuse M1c : autres sites avec ou sans atteinte osseuse				

Tableau 1 : Classification TNM 2016 du cancer de la prostate d'après les Recommandations françaises du

 Comité de Cancérologie de l'AFU — Actualisation 2018—2020 : cancer de la prostate (70)

b) Les traitements du cancer de la prostate

Les traitements disponibles pour les formes localisées en fonction du risque d'évolution sont résumés dans le tableau 2. Pour les maladies à faible risque d'évolution la surveillance active doit être privilégiée car elle permet d'éviter les effets secondaires des traitements tout en assurant des résultats oncologiques très favorables (0,5 à 3% de décès spécifique à 10 et 15 ans de suivi) (71). Pour les maladies de risque intermédiaire et de haut risque d'évolution un traitement curatif s'impose en général par chirurgie (prostatectomie totale) ou radiothérapie (interne par curiethérapie ou externe) pouvant être associée à une hormonothérapie. Bien sûr, des alternatives comme les traitements focaux par ultrasons de haute intensité existent mais sont encore en évaluation.

Classification		Risque Intermédiaire		
Pronostique de D'Amico	Risque Faible	ISUP 2	ISUP 3	Haut risque
Traitements	Surveillance Active Prostatectomie Radiothérapie externe Curiethérapie HIFU	Prostatectomie Radiothérapie Curiethérapie HIFU	Prostatectomie Radiothérapie+ Hormonothérapie 6 mois	Prostatectomie Radiothérapie+ Hormonothérapie 18 mois

 Tableau 2 : Liste des traitements disponibles pour chaque groupe pronostique de D'Amico selon le recommandations Françaises du CCAFU (8) (HIFU= High Intensity Focused Ultrasound)

Les traitements de formes métastatiques sont considérés comme des traitements palliatifs. Néanmoins, les progrès des dernières années dans cette prise en charge ont permis d'allonger l'espérance de vie des patients : à titre d'exemple, la survie des patients ayant un CaP métastatique résistant à la castration a progressé de 17 mois entre 2004 (19 mois) (72) et 2014 (36 mois) (73).

Les travaux de C. Huggins (prix Nobel en 1966) ont montré que le cancer de la prostate était hormono-dépendant et la suppression androgénique est devenue le principe fondamental du traitement des formes métastatiques (74). La castration chirurgicale par pulpectomie (ablation de la pulpe testiculaire qui produit plus de 90% de la testostérone circulante) permet d'abaisser le seuil de sécrétion de testostérone sous les 50 ug/ml qui est le seuil définissant la suppression androgénique.

En 1977, A Schally et R Guillemin (prix Nobel de médecine et Physiologie en 1977) ont synthétisé le premier analogue de la LHRH (Luteinizing Hormone-releasing Hormone) induisant une suppression androgénique. Depuis, d'autres molécules comme les antagonistes de la LHRH ou les anti-androgènes périphériques, sont disponibles pour reproduire chimiquement cet effet. Il s'agit de l'hormonothérapie de 1^{ère} génération. Malheureusement, les cellules prostatiques vont trouver une échappatoire à ce blocage hormonal.

Dans ce contexte d'une progression clinique et/ou biologique malgré un blocage androgénique efficace, la maladie est considérée comme résistante à la castration. Plusieurs mécanismes moléculaires ont été décrits pour expliquer la résistance à la castration de la cellule prostatique. Le récepteur aux androgènes est souvent mis en cause soit parce qu'il subit une activation aberrante par des ligands tels que IGF ou par des voies de signalisation de survie ou prolifération cellulaire (MAPK, PI3K/AKT, STAT), soit à cause de mutation ou de variant d'épissage (AR-V7) qui entraine une dérégulation du récepteur (75). La synthèse d'androgène par les glandes surrénales ou les cellules prostatiques sont aussi un des mécanismes de résistance aux Hormonothérapies de 1^{ère} génération pouvant être ciblée spécifiquement par un inhibiteur du cytochrome P450 (75) qui est impliqué dans la synthèse des androgènes à partir du choléstérol.

Dans cette phase, la chimiothérapie par taxanes et les hormonothérapies de 2nd génération ciblant le récepteur des androgènes ou le CYP450 seront proposées (72, 73, 76). Prochainement les inhibiteurs de PARP (inhibiteurs de poly(ADP-ribose) polymérase) vont arriver sur le marché alors que les résultats sont peu concluants et immatures pour les immunothérapies par inhibiteur du check-point immunitaire (77, 78).

Au cours des dernières années, le concept d'optimisation de la première ligne de traitement, par combinaison des hormonothérapies de 1^{ère} génération + chimiothérapie ou hormonothérapie de 2nd génération, au stade métastatique hormono-sensible a permis d'améliorer encore les résultats oncologiques des patients (79, 80). La figure 10 détaille la séquence des traitements disponibles dans le CaP localement avancé ou métastatique.



Figure 10 : Séquences des traitements disponibles dans le CaP localement avancé ou métastatique (M0= non métastatique, G = génération)

En conclusion, le CaP est une maladie avec un pronostic très hétérogène permettant une surveillance active pour les formes de faible risque ou nécessitant une séquence de traitement systémiques palliatifs pour les maladies métastatiques.

Les enjeux majeurs de cette maladie sont :

-de pouvoir diagnostiquer précocement les formes à risque d'évolution péjoratives pour adapter la réponse thérapeutique. Ainsi, différentes pistes de facteurs pronostics ont été explorées comme les biomarqueurs sanguins (index PHI), urinaires (Score PCA3, MDX select) et tissulaires (Prolaris et Décipher) (45).

- de comprendre les mécanismes moléculaires permettant la promotion et la dissémination tumorale. Le rôle du microenvironnement tumoral avec la théorie de la « Graine et du Sol » de Paget en 1889 (« Seed and Soil ») semble primordial pour la prolifération, l'angiogenèse et l'invasion tumorale (81). Le microenvironnement semble également jouer un rôle majeur dans la réponse immunitaire anti tumorale en assurant un équilibre entre les effecteurs de l'immunité (82). Dans le cancer du sein, le rôle des Cancer-Associated Fibroblastes (CAAFs) dans la progression et prolifération tumorales a été observé dans plusieurs études (83). De par les similitudes importantes entre le cancer du sein et le CaP (hormonodépendance, richesse du Tissu adipeux dans le microenvironnement) il n'a pas était surprenant de retrouver des études rapportant l'existence de CAAFs dans le CaP (84), soulignant ainsi le rôle important du microenvironnement dans le CaP. Comme le Tissu adipeux est un élément prédominant du microenvironnement du CaP, nous allons, dans la suite de cette introduction, décrire le tissu adipeux en général, le tissu adipeux périprostatique (TAPP) et son implication potentielle dans le CaP.

B. Le tissu adipeux

Le terme de tissu adipeux (TA) regroupe différents tissus partageant des similitudes dans leur fonction, leur composition cellulaire ou leur organisation structurale. Au-delà des différentes couleurs de TA comme le TA blanc, le TA brun, qui se distinguent à la fois par leur localisation et par leur fonction, il existe de nombreuses différences au sein des TA considérés comme des TA blancs. Dans la suite de ce paragraphe, nous décrirons uniquement le tissu adipeux blanc.

1. Les tissus adipeux blancs

Les TA blancs représentent 15 à 20% du poids corporel chez l'homme et 20 à 25% chez la femme de poids normal. Ils sont localisés dans tout l'organisme représentant plus 85% de la masse grasse (figure 11). Il apparait au niveau de la tête à partir de la 14^{ème} semaine de grossesse tête et se développe vers les jambes jusqu'à la 23^{ème} semaine (85). Son développement présente des modulations physiologiques au cours de la vie : le rebond d'adiposité caractéristique de l'enfant de 6-8 ans, suivi par la répartition anatomique des masses adipeuses à la puberté.

Le TA est localisé en majorité dans la couche sous cutanée de la peau, l'hypoderme. Les principaux dépôts sous-cutanés sont les dépôts fémoral, glutéal, et l'abdominal ainsi que le TA mammaire chez la femme (86, 87). L'autre partie du TA blanc (5-10% chez les femmes et 10-20% chez les hommes normopondéraux), est intrapéritonéal. Appelé TA viscéral, il est situé à proximité des organes importants. Dans la cavité abdominale on retrouve ainsi les dépôts omental, ombilical et mésentérique (88), dans le médiastin le TA péricardique, le TA dans la moelle osseuse et dans le pelvis le TAPP .

La connaissance des fonctions du TA blanc a évolué au cours du temps suite au différents travaux conduits sur le TA sous cutanée et viscéral. Initialement décrit comme un tissu protégeant contre les chocs, son rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie énergétique par sa capacité à stocker les lipides en phase postprandiale et à les restituer sous forme d'acides gras libres en phase interprandiale a été rapporté. En effet, chaque dépôt de TA possède des caractéristiques lipolytiques, sécrétoires et des synthèses de triglycérides qui lui sont propres (89, 90). De même, la composition et la morphologie cellulaire, l'expression

26

génétique sont hétérogènes selon le type de dépôt et selon les facteurs physiologiques (sexe, âge, sédentarité, alimentation) ou pathologiques (diabète obésité) (91). De par la proximité du TA avec les organes, il pourrait être considérer au-delà d'un réservoir énergétique comme un régulateur de leur fonction appartenant au microenvironnement. Par exemple, l'étude du TA péricardique a permis de décrire son organisation et sa fonction spécifique. Le TA péricardique est composé de 2 feuillets entourant le cœur. Le premier est au contact du myocarde sous le feuillet viscéral du péricarde. Ce TA épicardique entoure les artères coronaires dans les sillons du cœur. Le deuxième feuillet est plus superficiel entre le feuillet pariétal et fibreux du péricarde (TA paracardiaque). Le TA péricardique (TA épicardique+ paracardiaque) peut représenter jusqu'à 20% du poids du cœur. En condition physiologique, ce TA assure le maintien de l'homéostasie autour du muscle cardiaque en régulant la température ou l'apport en énergie. Des travaux de recherche ont montré que les adipocytes de ce dépôt interagissaient avec les artères coronaires en utilisant leurs propriétés anticontractile et la sécrétion d'Adipokines vasoactives (92, 93). En condition d'obésité, l'accumulation de macrophages et la sécrétion de cytokines pro inflammatoires font perdre ces capacités au TA péricardique (94). L'étude du TA péricardique extrait lors de chirurgie de revascularisation coronarienne a montré un taux de médiateurs de l'inflammation plus important que dans le TA sous cutané du même sujet (95). L'accumulation de ce TA péricardique est associée à d'autres pathologies cardiovasculaires comme l'hypertrophie du ventricule gauche et des troubles de la conduction cardiaque (fibrillation atriale) (96).



 Figure 11 : Distribution des différents tissus adipeux blancs dans le corps humain source

 https://discovery.lifemapsc.com/library/images/human-fat-distribution

2. Composition cellulaire du TA

Le tissu adipeux blanc se compose d'adipocytes matures, regroupés en lobules soutenus par la matrice extracellulaire conjonctive et d'autres types cellulaires tels que les fibroblastes, les cellules endothéliales, les cellules immunitaires et les progéniteurs adipocytaires) composant la fraction stroma-vasculaire (SVF).

Les adipocytes :

L'adipocyte est une cellule sphérique d'environ 100 à 200 µm formée d'un noyau périphérique et d'une unique vacuole lipidique centrale aussi appelée la gouttelette lipidique qui occupe la vaste majorité du cytoplasme (figure 12). Celle-ci contient la majorité des lipides et repousse les autres organites cellulaires à la périphérie de la cellule (les mitochondries, le réticulum endoplasmique granuleux et lisse, l'appareil de Golgi). Cette vacuole lipidique est entourée par une monocouche lipidique où viennent s'ancrer des protéines structurelles et nécessaires

aux fonctions métaboliques des adipocytes et qui protégent la cellule de la lipotoxicité. La taille de la gouttelette lipidique varie de 30 à 150 µm selon sa charge lipidique (97). Les protéines spécifiques de la gouttelette lipidique les plus connues sont la périlipine et la cavéoline-1 (98, 99). L'adipocyte possède toute la machinerie nécessaire pour stocker les triglycérides et larguer les acides gras libres selon les besoins. Par ailleurs, l'adipocyte assure la fonction endocrine du TA par la sécrétion et la libération d'adipokines que nous détaillerons par la suite.

La SVF est composée de cellules d'aspect fibroblastique dont des pré-adipocytes, des progéniteurs, des cellules endothéliales et nerveuses qui forment le réseau neuro vasculaire et des cellules immunitaires.



Figure 12: Histologie du tissu adipeux sous-cutané normal. Les adipocytes et les noyaux sont facilement repérables par marquage à l'hématoxyline/éosine (A et B); C : L' anticorps spécifique des vaisseaux (le facteur de Von Willebrand) permet d'identifier les capillaires à proximité des adipocytes ; D : Les flèches pleines indiquent les macrophages marqués avec l'anticorps anti-CD68+ au sein du parenchyme adipeux d'après J. Tordjman (L'annotation en bas à droite de l'image correspond au grossissement)

Les pré-adipocytes et l'adipogenèse

Il est important de rappeler que les adipocytes matures ne peuvent pas se diviser et donc le TA a besoin de progéniteurs engagés dans la voie de l'adipogenèse pour maintenir son homéostasie et augmenter ses capacités de stockage lorsque les apports énergétiques sont plus importants que les besoins de l'organisme (100). Au sein de la SVF, des cellules souches mésenchymateuses sont présentes avec la capacité à se différencier en lignées cellulaires variées, y compris myogénique, chondrogénique, ostéogénique, ou endothéliales en fonction des conditions de culture (101-103).

La différenciation adipocytaire débute par la détermination des cellules souches mésenchymateuses (CSMs) vers les adipoblastes. Ensuite survient l'étape de différentiation des pré adipocytes en adipocytes matures qui est sous l'influence majeure de PPAR γ et des facteurs de transcription de la famille des C/EBP (figure 13). (104)



Figure 13 : Principaux régulateurs de l'adipogenèse : la différenciation des CSMs multipotentes en adipocytes matures implique une intégration complexe de modifications cyto-architecturales, de voies de signalisation et de facteurs transcriptionnels. Les CSMs se transforment en pré-adipocytes qui peuvent se différencier en adipocytes matures en fonction des stimuli adipogéniques tels que les glucocorticoïdes, l'insuline et l'adénosine monophosphate cyclique adapté d'après Cristancho and Lazar, 2011 L'origine des différents progéniteurs n'est pas clairement définie et semble être différente selon les types de dépôts. En effet, les TA du cou et de la face sont développés à partir de la crête neurale et n'ont pas d'origine mésodermique comme beaucoup des TA (105). Des équipes travaillent actuellement sur la caractérisation des progéniteurs adipocytaires notamment grâce à l'émergence des certaines techniques comme le séquençage single cell (88). L'études des populations progénitrices en cytométrie de flux dans le TA sous cutané ou viscéral (omentum) a permis de décrire 3 potentiels progéniteurs différemment représentés selon la localisation du TA et le statut pondéral.

- Les progéniteurs MSCA1+ sont engagés dans la voie de différenciation adipocytaire.
- Les progéniteurs MSCA1-/CD271- sont immatures comme en témoigne la surexpression des gènes impliqués dans la pluripotence des cellules souches embryonnaires.
- Les progéniteurs (MSCA1-/CD271+) présentant une surexpression des voies de signalisation myofibroblastique.

Par exemple, chez un sujet normo-pondéral, le TA sous cutané est composé majoritairement de progéniteurs MSCA1-/CD271- alors que les progéniteurs d'origine mésothéliale (MSCA1-/CD271+) sont plus nombreux dans le TA viscéral (106).

Les cellules immunitaires :

Les cellules immunitaires participent au maintien de l'homéostasie énergétique notamment par une connexion paracrine avec les adipocytes qui les entourent. Au-delà de leur interaction avec les adipocytes, elles modèlent le microenvironnement en interagissant avec toutes les cellules des TA. Les sécrétions des cellules immunitaires plus particulièrement en condition d'obésité vont également jouer un rôle dans la capacité sécrétoires des TA et ainsi réguler ou déréguler de façon systémique la fonction de l'organe plus ou moins distant. Les rôles physiologiques et patho-physiologiques du système immunitaire dans la régulation du métabolisme sont étudiés dans un nouveau domaine des maladies métaboliques : l'immunométabolisme (107). Les cellules immunitaires peuvent avoir en situation physiologique un rôle positif de remodelage du TA ou à l'inverse en condition d'obésité, la création d'un état inflammatoire chronique et néfaste pouvant être considéré comme co-responsable de nombreux désordres de l'organisme comme par exemple l'insulinorésistance et l'artériosclérose dans le syndrome métabolique(107). Des traductions cliniques de ces constatations ont été observées notamment dans la polyarthrite rhumatoïde lorsque le traitement par des antagonistes du TNF α a amélioré de façon fortuite la sensibilité à l'insuline des patients (108).

Chez des individus normopondéraux métaboliquement sains, la fraction immunitaire du TA est majoritairement composée de macrophages, de polynucléaires éosinophiles (système immunitaire inné) et de lymphocytes T (système immunitaire acquis).

Les macrophages peuvent représenter jusqu'à 10% de la SVF chez des individus normopondéraux. Les macrophages dérivent des monocytes produits dans la moelle osseuse et circulants dans le sang périphérique. Il se fixent et pénètrent la barrière endothéliale sous l'attraction des chémokines comme par exemple MCP-1, CCL5, CXCL14 (109, 110). Les cellules vont ensuite se différencier et se polariser selon 2 voies opposées :

- Sous l'influence des cytokines de type Th2, IL 4 et IL 13, les monocytes vont se différencier en macrophage M2 qui sont plutôt anti-inflammatoires : ces cellules expriment le marqueur de surface CD206 et sécrètent majoritairement de l'IL 10 et du TGFβ.
- A l'inverse les cytokines de type Th1 et INFγ conduisent les monocytes vers une différenciation en macrophages pro inflammatoires M1 caractérisés par la sécrétion de TNFα et l'expression de NOS (Nitrite Oxide Synthase).

Les macrophages résidents retrouvés dans le TA "sain" sont majoritairement antiinflammatoires, de type M2, et jouent un rôle crucial dans l'insulino-sensibilité via notamment la sécrétion d'IL 10. A l'inverse en condition d'obésité, les macrophage M1 sont recrutés dans le TA et entrainent une cascade inflammatoire initiée par la sécrétion de TNF α et relayée par l'implication des lymphocytes T et B, des adipokines (diminution de l'adiponectine) et même des récepteurs aux minéralo-corticoïdes (111).

En réalité, le microenvironnement serait probablement peuplé de formes mixtes entre ces 2 extrêmes, types M1 et M2, capables de repolarisation sous l'influence des cytokines vers un certain phénotype en fonction des circonstances (112, 113) (figure 14)



Figure 14 : Recrutement des monocytes de la moelle osseuse via la circulation sanguine périphérique vers le tissu adipeux. Différenciation des monocytes en macrophage guidée par l'influence du microenvironnement soit vers une population anti inflammatoire, fortement représentée en condition de non obésité, les macrophage M2. L'autre voie étant la voie inflammatoire sous l'influence de la baisse de l'adiponectine, de l'augmentation des cytokines pro inflammatoires (IL6 et TNFα par exemple). Cette population, très représentée en situation d'obésité, entraine une cascade de réactions en chaîne et crée un état inflammatoire chronique. D'après Dalmas et al., Trends in Immunology, 2011.

Les granulocytes (polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles) sont peu représentés dans la SVF du TA (114). Néanmoins, une étude a montré que les polynucléaires éosinophiles jouent un rôle majeur dans l'homéostasie du tissu adipeux sain. Chez les souris non obèses, les polynucléaires éosinophiles sécrètent de l'IL 4 qui provoque une activation des macrophages via STAT6 (signal transducer and activator of transcription 6), PPAR δ (peroxisome proliferator-activated receptor δ), PPAR γ et KLF4 (Kruppel-like factor 4). Les adipocytes phagocytés vont libérer de l'adiponectine qui bloquera cette activation. Par ce rétrocontrôle, l'activation intermittente des macrophages assurée entre autres par les polynucléaires neutrophiles permet de maintenir un bon équilibre de l'homéostasie dans le TA (111). D'ailleurs, l'absence de sécrétion d'IL 4 dans le TA de souris normopondérale provoque un switch de phénotype des macrophages M2 pour devenir majoritairement M1 ce qui entraîne un phénomène d'insulino-résistance (115).

Les lymphocytes T régulateurs (Tregs) Foxp3+ qui sont habituellement régulateurs de la réponse immunitaire et favorisent la tolérance du soi (111) sont plus représentés dans les TA en général et surtout dans les TA viscéral que dans les autres organes lymphoïdes comme les ganglions, la rate. Ces Tregs du TA ont un phénotype spécifique avec une surexpression d'IL 10 (116) et une expression inhabituelle PPARy (117), impliqués dans la voie de polarisation des macrophages M2. Ces résultats montrent que les cellules immunitaires du TA sain participent à l'homéostasie tissulaire et à la régulation du métabolisme. Cependant la compréhension des mécanismes impliqués dans cette régulation fait l'objet de beaucoup de travaux du fait de l'application potentielle en médecine comme par exemple en diabétologie.

Les cellules endothéliales :

Les cellules endothéliales présentes au sein de la SVF ont la capacité de s'organiser pour former un réseau vasculaire. Cette partie sera traitée dans le paragraphe « L'organisation vasculaire des tissus adipeux ».

3. La matrice extra-cellulaire (MEC) du TA

La Matrice Extracellulaire (MEC) est un réseau tridimensionnel de protéines apportant un support architectural et une résistance mécanique aux tissus. Cette structure longtemps considérée comme inerte est finalement très dynamique. Elle assure la régulation cellulaire grâce à des moyens de communications impliquant des signaux spécifiques et des récepteurs en réponse aux besoins de tissus. Ainsi, la composition et l'organisation de la MEC sont finement régulées pour permettre de conserver les caractéristiques architecturales et l'homéostasie spécifique à chaque tissu. Ainsi, la MEC des tissus conjonctifs lâches ou élastiques sera souple et fibreuse alors que la MEC du tissu osseux sera solide et minéralisée. Les cellules du TA (adipocytes et SVF) sont entourées d'une matrice extracellulaire constituée de protéines structurales, les collagènes, et de protéines d'adhésion dont les intégrines, la fibronectine et les protéoglyganes (118). La MEC ne fournit pas seulement un support physique aux cellules du TA, elle joue un rôle important dans la différenciation, le développement, la fonction et l'homéostasie des cellules. Ainsi, la MEC est un tissu très

dynamique en perpétuel remodelage par les protéases sous l'influence des conditions physiologiques et pathologiques des tissus (119, 120).

Les principaux composants de la Matrice extracellulaire

Les protéines structurales de la MEC, les collagènes sont des protéines à triple hélice qui forme des structures hautement organisées dans la MEC. Les molécules de collagène contenant chacune 3 chaines polypeptidiques (chaine α) s'assemblent pour former d'abord des fibrilles (20-100nm de diamètre) puis des fibres de collagènes (0.5-20 µm de diamètre). A ce jour, 28 collagènes différents ont été identifiés, codés par au minimum 44 gènes différents (121). Dans le TA, sont présents les collagènes fibrillaires de type I, III, V, XI, XII, XIV, XVI et les collagènes dit non fibrillaires : le IV de type membrane basale, le VIII de type courte chaine, le VI de type filament et les XV, XVIII de type multiplexines (122).

Le collagène VI (COL6) est un composant plus abondant de la MEC du TA que des autres tissus (foie, muscle, cœur) (123). En effet, COL6 est fortement exprimé par les adipocytes différenciés et subit des modifications importantes lors du remodelage de la MEC. Des études récentes ont montré que le taux de COL6 dans le TA était associé positivement à l'hyperglycémie et l'insulino-résistance suggérant que COL6 joue un rôle métabolique important au sein du TA (124, 125). Les travaux de Scherer et al ont par la suite identifié que le produit du clivage du domaine C terminal de la chaine α du COL6, appelé endotrophine (*cf paragraphe rôle de la MEC*), stimulait la fibrose, l'activation des cellules endothéliales et l'infiltration des macrophages au sein des tumeurs mammaires (126). La même équipe, a décrit l'endotrophine comme une adipokine ayant une influence majeure sur le TA qui est impliquée dans une augmentation de sécrétion des cytokines pro inflammatoires et l'insulino-résistance (127, 128). Une coloration au rouge picrosirius du TA permet d'identifier les fibres de collagènes qui entourent les lobules (figure 15)(129).



Figure 15 : Aspect microscopique des dépôts de fibrose marqués au rouge picrosirius dans le tissu adipeux d'un sujet non obèse (T : travée) d'après J. Tordjman et al., Obes., 2013.

L'élastine est une protéine de la MEC souvent associée à la plasticité tissulaire. C'est une protéine d'environ 68kDa et codée par le gène ELN. Son abondance dans la MEC est variable selon les tissus : 2% dans la peau à 57 % dans l'aorte. Dans le TA, l'élastine pourrait représentée environ 12% du tissu. L'élastine assure l'intégrité des tissus en leur permettant de revenir à leur état d'origine après étirement (130, 131).

La MEC est également constituée <u>d'autres protéines</u> qui permettent de renforcer l'architecture de la MEC et sont nécessaires aux rôles joués par la MEC dans le TA. <u>Les</u> <u>Protéoglycanes</u> (PG) sont formés d'une protéine appelée « core protein » sur laquelle sont fixées des chaines polyosidiques dénommées glycosaminoglycanes. Par cette composition mixte, les PG ont une grande capacité d'interaction avec les cellules ou les éléments de la matrice extracellulaire. Ainsi les PG participent à différentes fonctions comme l'assemblage de la matrice au niveau tissulaire, la prolifération-différenciation-migration au niveau cellulaire (132). Les PG sont aussi capables de neutraliser ou de maintenir l'activité des cytokines par séquestration (133, 134). <u>La fibronectine, la laminine</u> connectent également les cellules avec la MEC (135).

Les intégrines sont des récepteurs transmembranaires qui permettent l'adhésion cellulaire. Leur extrémité externe interagit avec les protéines de la MEC, l'extrémité intracellulaire communique avec des molécules intracellulaires comme des facteurs de signalisation qui influencent la migration, la survie, la prolifération et la différenciation (136). En ce sens, les changements de la MEC sont communiqués à la cellule par les intégrines, qui en réponse, modifie l'organisation de son cytosquelette. L'organisation du cytosquelette influençant directement l'expression de certains gènes, cela explique comment la modification de la MEC
peut impacter le fonctionnement cellulaire. Les intégrines sont donc des régulateurs de la MEC (137).

Enfin certaines protéines n'ont pas de rôle structurel mais influencent l'organisation et la composition de la MEC; elles sont décrites par Paul Bornstein comme « protéines Matricielles » (138). Nous décrirons particulièrement, les SPARC et les Thrombospondines (TSP) qui pourraient être particulièrement impliquées dans la fibrose et l'angiogenèse du TA. La Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) est une glycoprotéine principalement sécrétée par les adipocytes dans le TA. Cette protéine est connue pour inhiber la différenciation adipocytaire en bloquant les signaux inducteurs de C/EBP et PPAR γ . De plus, l'expression de SPARC favoriserait la fibrose par l'augmentation de production de collagène et son interaction avec les métalloprotéinases de le MEC (139, 140). L'expression de SPARC serait augmentée dans les TA fibrotiques de sujets obèses (141).

La famille des <u>Thrombospondines (TSP)</u> comporte 5 glycoprotéines TSP-1 à TSP-5. Chez la souris, TSP-1 pourrait favoriser la différenciation adipocytaire, l'absorption de triglycérides et l'inflammation dans le TA (142). Chez l'Homme, la TSP-1 est augmentée chez les sujets obèses, insulino-résistant et corrélé avec l'inflammation. Dans le tissu cardiaque, les TSP-1 et 2 pourraient avoir un rôle d'inhibition de l'angiogenèse (143)

L'organisation de la MEC :

Dans le TA, chaque adipocyte est entouré d'une fine lame basale composée de collagène IV associé à la laminine et l'héparine sulfate (144). La structure fibrillaire la plus abondante est la fibre triple hélice de molécule de Collagène I qui entourent plusieurs adipocytes et forment l'architecture en lobules du TA. Les molécules de collagène de type V et VI constituent des ponts de microfibres entre les fibres de collagène I mais aussi entre la cellule et les fibres de collagènes I. La fibronectine située très proche des fibres de collagène I agit sur la forme cellulaire et la contraction du tissu. Les autres protéines comme SPARC ou la thrombospondine régulent entre autres la formation de collagène I (145) (figure 16).



Figure 16. La matrice extra cellulaire d'un adipocyte. (SPARC = Secreted protein, acidic and rich in cysteine). D'après Chun, Adipocyte 2012.

Le remodelage de la MEC

La dégradation de la MEC par les diverses protéases est essentielle pour maintenir la dynamique de remodelage du TA. Plusieurs protéases sont retrouvées dans le TA dont les MMP (matrix metalloproteinases), les ADAMTS (A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs), les serine protéases et les cathepsines (146).

Les MMP constituent une famille d'enzyme qui assurent la dégradation de la MEC. Ces enzymes sont sécrétées sous formes inactives soit dans l'espace extra cellulaire, soit en situation transmembranaire. Le clivage d'un peptide situé sur leur partie N-terminale permet l'activation des enzymes extra cellulaires. La famille de MMP comportent 23 enzymes soit classées numériquement par ordre de découverte soit selon le substrat préférentiel de l'enzyme. Par exemple, les MMP-1, -8, -13 et -18 qui dégradent les collagènes fibrillaires (I, II, III) sont appelées collagénases alors que les MMP-2 et -9 qui clivent les collagènes IV, V, XI sont appelées gélatinases (147). Ces dernières ont récemment été décrites comme impliquées dans la formation d'endotrophine (148, 149).

Dans le TA, la MMP-14 est la matrixine prédominante et son taux augmente avec l'obésité(150). De façon, intéressante, certains travaux ont observé que le taux de MMP-14 régulait la transcription de HIF-1 α suggérant que le rôle des MMP ne semble pas se limiter au remodelage de la MEC (151). Ces enzymes seraient aussi impliquées dans d'autres processus biologiques comme l'angiogenèse, l'invasion tumorale, l'immunité et l'inflammation (152). Concernant l'angiogenèse, il est décrit que les produits du clivage des fibres de collagènes par

les MMP peuvent inhiber ou favoriser l'angiogenèse. C'est le cas de la MMP-9 qui provoque une libération de VEGF après le clivage du collagène IV et stimule l'angiogenèse dans un modèle de tumeur pancréatique (153). L'activité des MMP est régulée par la famille des TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases).

Les ADAMTS constituent une famille de 19 protéases actives qui clivent les PGs de la MEC. Ces enzymes seraient impliquées dans d'autres fonctions biologiques, par exemple ADAMTS9 produit par les cellules endothéliales pourrait inhiber l'angiogenèse tumorale (154).

Le rôle de la MEC

Au-delà du rôle de support important pour les adipocytes, la MEC intervient dans d'autres processus biologiques comme la différenciation adipocytaire, la libération de facteurs de croissance ou de matrikines et l'adaptation du tissu à l'environnement.

Tout d'abord la MEC joue un rôle crucial dans l'adipogenèse car la différenciation adipocytaire nécessite un remaniement spécifique du collagène. Au cours de la différenciation des adipocytes, les collagènes fibrillaires et éparses I et III vont être remplacés par des fibres plus épaisses et cohésives de collagène V et VI. La synthèse de collagène IV forme la membrane basale autour de l'adipocyte (155). Une étude chez les bovins a rapporté que l'inhibition de la synthèse des collagènes V et VI empêche le processus de différenciation adipocytaire (156). De même, la différenciation des adipocytes en 3D est dépendante des MMP qui dirigent les interactions dynamiques entre les adipocytes et l'ECM (157). Ces deux exemples rappellent ainsi le rôle essentiel de la MEC dans le développement du TA

La MEC joue également le rôle de réservoir de facteurs de croissance. Les protéines de la MEC peuvent se lier à plusieurs facteurs de croissance, les protégeant ainsi de la dégradation et les stockant pour être libérés grâce à l'action de protéases. Par exemple, le FGF-2 (basic Fibroblast Growth Factor) qui est stabilisé par sa liaison à l'héparane sulfate va former des tétramères en stabilisant deux récepteurs au FGF liés à deux molécules de FGF-2, permettant ainsi l'action de ce facteur de croissance (158, 159). De même, le facteur de croissance proangiogénique VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) est sous le contrôle des protéases car il est séquestré dans la MEC, sous forme liée à l'héparane sulfate (160).

La MEC est un réservoir de peptides issus de macromolécules de la MEC qui régulent également les fonctions cellulaires (161). Ces matrikines et matricryptines (peptides inactifs

nécessitant une protéolyse pour être activés (162) ont surtout été étudiées dans le TA en condition d'obésité. Par exemple, le taux de Elastine-Derived Peptides (EDP), qui est augmenté dans un contexte d'obésité, entraine l'augmentation de PPARy et des enzymes de la lipogenèse et favorise ainsi l'apparition de l'insulino-résistance et de l'hypertrophie adipocytaire (163). L'endostatine est un fragment de clivage du collagène XVIII inhibiteur de l'angiogenèse qui a montré des effets de réduction de poids par une régulation de la masse grasse chez des souris obèses (164). Enfin, nous avons vu précédemment le rôle de l'endotrophine, fragment de clivage du collagène VI qui, dans un contexte d'obésité, amplifie les phénomènes de fibrose, d'angiogenèse et d'inflammation à travers le recrutement de macrophages et de cellules endothéliales dans le TA (127) et favorise la progression tumorale du cancer du sein (126).

Enfin la MEC communique avec l'adipocyte par l'intermédiaires de senseurs comme les intégrines. Les intégrines ont un rôle de mécanorécepteur capable de transformer un signal physique en réponse biologique (165). Ces récepteurs transmembranaires peuvent capter les modifications physiques de la MEC via la partie extra cellulaire du récepteur et modifier les facteurs de transcription de certaines voies (ex : NO, MAPK) au sein du cytoplasme. Par exemple, la perte des intégrines ß1 favorise la dissémination des cellules tumorales alors que l'intégrine α 1,2 contrôle l'angiogenèse tumorale (166, 167).

4. L'organisation vasculaire des tissus adipeux

Comme beaucoup d'autre tissus, le tissu adipeux est richement vascularisé. L'organisation du réseau vasculaire est assez bien décrite dans le tissu adipeux où chaque adipocyte est entouré par un capillaire sanguin (168, 169). Les cellules endothéliales (exprimant CD34 et CD31) de la SVF ont la capacité de s'auto-organiser en structures tubaires pour former un réseau vasculaire. Néanmoins, l'intervention de la fraction stromale non endothéliale de la SVF semble nécessaire pour finir de transformer ce réseau en un système vasculaire mature et fonctionnel (170). Par exemple, la production protéines de connexion comme le collagène IV dans le microenvironnement, qui peut être augmenté dans des situations particulières comme la blessure, permet un développement plus rapide des structures endothéliales en forme de tubes (171). De plus, l'augmentation du taux de lactate (produit de la glycolyse dans les adipocytes et les pré adipocytes), la libération d'adénosine et d'interleukine IL 8 (par les

macrophages dans l'espace extracellulaire) stimulent l'angiogenèse à partir des cellules souches mésenchymateuses et les cellules endothéliales (172).

Ainsi, les cellules endothéliales de la SVF permettent une angiogenèse et un remodelage du réseau vasculaire ajustés aux besoins métabolique et fonctionnel du TA sous l'influence de divers facteurs de croissance, cytokines et adipokines (173). Dans le TA, ce remodelage vasculaire peut se faire soit sous la forme de développement d'une néo vascularisation (lors de l'hyperplasie adipocytaire) ou par dilatation des capillaires existants (lors de l'hypertrophie adipocytaire) (174).

L'interaction intime entre les compartiments vasculaire et adipeux semble exister plus en amont lors de l'adipogénèse. Des travaux ont montré que les cellules situées dans la paroi vasculaire, fournissent des cellules précurseurs issus des péricytes qui se différencient finalement en préadipocytes et en adipocytes (175, 176). Au-delà de ce switch adipocytecellules endothéliales, il a été observé une augmentation des facteurs angiogéniques, comme FGF-2, VEGF, lors des différentes étapes de l'adipogenèse (177). Cela renforce l'hypothèse de l'origine endothéliale et péri-vasculaire des pré-adipocytes confirmant que l'angiogenèse, l'adipogenèse et le remodelage du TA sont régulés de manière étroite et coordonnée.

5. Les fonctions du TA :

Le rôle principal du TA est d'équilibrer la balance énergétique de l'organisme en fonction des apports et des besoins. Pour ce faire, le TA va faire des réserves énergétiques en stockant les acides gras (AG) libres apportés par l'alimentation. Lorsque les organes auront besoin d'énergie, alors le TA libérera des AG dans la circulation. Plus récemment, le TA a été décrit comme un organe endocrine capable de sécréter des nombreuses adipokines (178).

La lipogenèse : le stockage lipidique

La lipogenèse désigne l'ensemble des étapes biochimiques qui permettent la synthèse de lipide et notamment d'acides gras pour constituer les réserves énergétiques des adipocytes (figure 17). Les substrats de la lipogenèse proviennent essentiellement de l'alimentation, avec les acides gras, la triglycérides (TG), les glucides (lipogenèse de novo). La lipogenèse a lieu dans le foie et dans le tissu adipeux et est régulée par les catécholamines, l'hormone de croissance, la leptine mais surtout par l'insuline.

Le tissu adipeux représente la plus grande réserve d'énergie de l'organisme. Les acides gras (AG) sont stockés sous forme de triglycérides formés d'une molécule de glycérol sur laquelle sont estérifiés trois acides gras (179).

Le stockage des lipides dans l'adipocyte se fait par 2 voies (figure 17) :

- La première voie, qui est prépondérante dans le TA, correspond à la capture directe des TG associés aux chylomicrons et aux lipoprotéines de très faible densité (VLDL : very low density lipoprotein). Les VLDL proviennent d'une synthèse de novo à partir du glucose dans le foie (lipogenèse de novo hépatique). Les lipoprotéines sont hydrolysées au niveau des capillaires sanguin du tissu adipeux par la Lipoprotein Lipase (LPL). La LPL est sécrétée par les adipocytes, fixée aux cellules endothéliales par un PG, l'héparane sulfate (180, 181) et serait présentée vers la face luminale de l'endothélium par GPIHBP1 (glycosylphosphophatidylinositol-anchored high density lipoprotein binding protein 1) (182). Ensuite les AG non estérifiés vont migrer de l'espace extracellulaire au cytoplasme de l'adipocyte. Le passage de la membrane plasmique des adipocytes se fait principalement grâce à des transporteurs comme CD36 (aussi appelé Fatty Acid Translocase (FAT)) (183). Les acides gras non estérifiés sont activés alors en Acyl-CoA par l'enzyme l'acyl-coA synthase-1. Ils seront ré-estérifiés en TGs dans le réticulum endoplasmique en présence de glycérol. La première étape d'estérification nécessite la présence d'une molécule de glycérol-3-phosphate (G3P) dont la bio disponibilité régule la lipogenèse dans le TA (179).
- La deuxième voie de lipogenèse de l'adipocyte est appelée la lipogenèse de novo car les AG sont synthétisés de novo à partir du glucose. Brièvement, le glucose est acheminé dans l'adipocyte par les transporteurs du glucose (GLUT-1 et 4). Il est ensuite dégradé en pyruvate par le processus de la glycolyse et puis transformé en AG par l'acétyl-CoA carboxylase (ACC). Selon le procédé précédemment décrit, ces acides gras sont ensuite estérifiés pour donner les TG (179).



Figure 17 : Voie de la lipogenèse dans l'adipocyte. (GLUT : Transporteur du Glucose ; TG : Triglycérides ; AGNE : Acide gras non estérifié ; LPL : Lipoprotéine lipase ; VLDL : very low density lipoprotein.Les flèches rouges représentent la voie de la Glycolyse. La flèche verte représente la voie de la lipogenèse de novo simplifiée (les étapes de transformation du Pyruvate en Acétyl CoA, de l'Acétyl CoA en Malonyl-CoA par l'acétyl Coenzyme A (CoA) carboxylase et du Malonyl-CoA en palmitate par la fatty acid synthase ne sont que partiellement représentées).

La mobilisation des lipides : la lipolyse :

La lipolyse est la dégradation des triglycérides stockés dans les vacuoles lipidiques de l'adipocytes en acides gras non estérifiés et en glycérol permettant de libérer les 3AG de leur squelette carboné de glycérol. La première étape de la lipolyse est le clivage des TG en diacylglycérol par l'enzyme ATGL (Adipose Triacyglycerol Lipase). Ensuite les diglycérides seront clivés en monoglycérides par la lipase hormono-sensible (LHS). Enfin les monoglycérides seront dégradés en glycérol relargué dans la circulation et en acides gras non estérifiés par la lipase des monoglycérides, MAGL (Monoacylglycerol Lipase) (184). Les AGNE qui sont toxiques et insolubles dans le cytosol seront soit pris en charge par des protéines de transport appelées FABP (Fatty Acid Binding Protein) 4 et 5 et libérés dans la circulation soit estérifiés de nouveau et stockés dans la vacuole lipidique (185, 186).

Dans le passé, la disponibilité de la LHS était considérée comme l'élément limitant de la lipolyse (187). La LHS est une Sérine protéase qui va migrer vers la vacuole lipidique lorsqu'elle sera activée par phosphorylation secondaire à l'activité des voie GMPc ou AMPc. Néanmoins, les travaux portant sur les souris déficientes en LHS ont observé que la lipolyse était maintenue et l'absence de développement d'obésité. Ces résultats ont confirmé que d'autres enzymes (Adipose Triglyceride Lipase *ATGL*, Ca2⁺-independent phospolipase-A2, *iPLA2*) que la LHS étaient impliquées dans l'hydrolyse des TG (184, 188).

Le tableau 4 rapporte les effets des hormones et autres messagers dans la régulation de la LHS et de la lipolyse (186, 189).

Activateurs de la Lipolyse	Inhibiteurs de la lipolyse
Peptide natriurétique Atrial	Insuline
Peptide natriurétique Cérébral	Adrénaline (α_{2A})
Noradrénaline	Adénosine
Adrénaline (récepteurs ß _{1 et} ß ₂₎	Prostaglandines
Parathormone	Neuropeptide Y/peptide
	Acide nicotinique

Tableau 3 : Éléments assurant la régulation de l'activité lipolytique de l'adipocyte

La fonction sécrétoire du Tissu adipeux : rôle endocrine

Le TA est reconnu comme un organe capable de synthétiser et de sécréter de nombreux facteurs, appelés Adipokines (178). Depuis la découverte de la première Adipokines, la leptine (190), les travaux de recherches ont permis d'identifier pas moins de 700 protéines distinctes. Les Adipokines régulent de nombreux processus biologiques dans l'organisme comme par exemple, la fonction endocrine du pancréas, les systèmes immunitaire et cardiovasculaire (figure 18). Ces Adipokines sont d'autant plus importantes car elles pourraient expliquer le retentissement métabolique (syndrôme métabolique par exemple) de l'obésité sur l'organisme (191, 192). Les Adipokines sont sécrétées soit par les adipocytes (la leptine ou

l'adiponectine) soit par les autres lignées cellulaires comme lles cellules immunes qui sécrètent les facteurs IL-1 β , IL-6 et TNF- α .



Figure 18 : Présentation des différentes fonctions biologique de l'organisme qui sont régulées par les Adipokines du tissu adipeux d'après B Fève et al., Annales d'endocrinologie, 2016.

Dans la suite de ce paragraphe nous décrirons quelques adipokines d'intérêts pour nos travaux.

La leptine (du grec leptos qui veut dire mince) est une hormone du type peptidique composée de 167 acides aminés dont le gène codant est situé sur le chromosome 7 chez l'Homme (193). La leptine est synthétisée exclusivement par les adipocytes du TA mais est retrouvée dans la majorité des organes où de différentes lignées cellulaires (cellules immunes, neurones..) expriment son récepteur (194). La leptine régule l'homéostasie énergétique et la fonction neuroendocrinienne au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire. En effet, lorsque la masse adipeuse augmente, l'augmentation de la leptinémie va transmettre des signaux aboutissant à une réduction de la prise alimentaire (effet anorexigène) et à une stimulation de la sécrétion des hormones thyroïdiennes, de l'hormone de croissance, du cortisol, des stéroïdes sexuels et de l'insuline. En effet, la leptine joue un rôle important dans la régulation de la prolifération cellulaire en agissant sur des voies de signalisation bien décrites en oncologie comme JAK2/STAT3 (Janus Kinases/Signal Tranducers and Activators of Transcription), MAPK et PI3K/Akt (196). Elle participe à d'autres mécanismes potentiellement impliqués dans

l'oncogenèse comme l'angiogenèse par la sécrétion de VEGF, l'inflammation par la production de cytokines inflammatoires telles que l'IL (interleukine) -1, l'IL-6 et le TNF α .

Depuis les années 2000, des travaux cliniques suggèrent une association entre leptine et cancer. Ces derniers rapportaient une augmentation de la leptine et de ses récepteurs chez les femmes ayant un cancer du sein métastatique en comparaison à des maladies de meilleur pronostic ou à des sujets non malades (197). Ainsi fût développée l'hypothèse que la leptine augmentait la production et la sensibilité locale des œstrogènes (198, 199).

Dans le cancer de la prostate, le taux de leptine circulante est deux fois plus élevé chez les patients ayant un CaP par rapport aux sujets sains (200). In vitro, l'exposition des cellules tumorales prostatiques hormono-dépendante ou -indépendante à la leptine favorise la prolifération tumorale (201-203). In vivo, des récents travaux ont montré l'efficacité d'un antagoniste ciblant le récepteur de la leptine (Allo-aca) sur la progression du cancer de la prostate résistant à la castration (204).

L'Adiponectine est une protéine de 244 acides aminés dont le gène est situé sur le chromosome 3 humain (205). L'adiponectine est produite par les adipocytes mais aussi par d'autres cellules comme les cellules endothéliales, les cellules musculaires striées, les ostéoblastes. Les récepteurs de l'adiponectine connus, AdipoR1 et AdipoR2 activent plusieurs voies de signalisation telles que PPARα, AMPK et p38 MAPK. L'adiponectine est considérée comme une adipokine majeure de l'homéostasie énergétique. De nombreuses études ont observé une relation inverse entre les concentrations circulantes d'adiponectine et la résistance à l'insuline (206, 207). L'adiponectine augmente l'insulino-sensibilité des muscles et du foie en augmentant la β -oxydation et diminuant la production hépatique de glucose (178). Enfin dans les tissus, l'adiponectine qui permet le maintien d'un microenvironnement anti-inflammatoire par la sécrétion d'IL 10 par les macrophages, pourrait avoir un rôle anti tumoral (208). Une méta-analyse a montré que les concentrations d'adiponectine circulante étaient plus faibles chez les patients atteints de divers cancers que chez les témoins (209). D'autres travaux rapportent également une hypo-adiponectinémie dans divers cancers : endomètre, poumon (non à petites cellules), pancréas, foie, estomac, colon, thyroïde, carcinome à cellules rénales (210-212). En ce qui concerne le CaP les résultats sont controversés, notamment suite à la dernière méta analyse publiée qui ne retrouvait pas d'association évidente entre le risque de CaP et le taux d'adiponectine circulant (213). Par contre, le taux d'adiponectine pourrait être inversement associé à l'agressivité du CaP. In vitro les résultats des différentes études n'étaient pas très concluants mais ils confirmaient l'expression des récepteurs de l'Adiponectine par les lignées cellulaires prostatiques tumorales et non tumorales (203). Par contre, in vivo le traitement par un agoniste du récepteur de l'adiponectine, appelé ADP355, a permis d'inhiber la croissance des tumeurs prostatique. L'analyse transcriptomique des tumeurs et de leur microenvironnement ont montré que ADP35 entrainait une altération des voies de signalisation AMPK et Pi3K/AKT ainsi qu'une modification du phénotype inflammatoire du microenvironnement tumoral (diminution de l'IL-6, TNF- α) (214).

Le Tumor necrosis factor α (TNF α) est une cytokine pro-inflammatoire sécrétée essentiellement par les lymphocytes et les macrophages et qui est impliquée dans la survie, la prolifération, la différenciation et la mort cellulaire (215). TNF α intervient également dans la coordination et la structuration de la réponse immunitaire aux agressions (216). Par sa capacité à provoquer la mort cellulaire, la voie de TNF α est ciblée par certains drogues notamment en cancérologie (217). Dans le cancer de la prostate, le taux circulant de TNF α est corrélé à l'agressivité (Score de Gleason) et l'extension du CaP (maladie localisée versus métastatique)(218, 219). De même, un taux élevé de TNF α à l'introduction d'une hormonothérapie était associé un délai plus court d'apparition de l'hormono-résistance et une diminution de la survie globale (220).En effet, in vitro, un traitement par du TNF α active la voie de signalisation de NF-KB connue pour initier les mécanismes de résistance du récepteur aux androgènes (221).

<u>L'interleukine IL-6</u> est une cytokine pro-inflammatoire synthétisée par différentes lignées cellulaires comme les lymphocytes B, T, les macrophages, sous la régulation du TNF α et d'IL-1. IL-6 provoque une activation des voies de signalisations JAK/STATS qui régulent la prolifération cellulaire et l'apoptose (222, 223). Une augmentation du taux circulant d'IL-6 est associée à de nombreuses maladies dont le diabète de type 2, les maladies cardiovasculaires (224, 225). L'IL-6 semble jouer un rôle double dans le cancer en créant une inflammation chronique du microenvironnement et en jouant le rôle de facteur de croissance cellulaire pour les cellules tumorales vésicales, colorectales, rénales et lymphatiques (226-228). Dans le cancer de la prostate, un taux élevé d'IL-6 est également associé à l'agressivité et l'extension

47

du CaP (218, 219). L'effet pro-prolifératif d'IL-6 sur les lignées cellulaires tumorales prostatiques a été confirmé in vitro et in vivo. Les mécanismes moléculaires identifiés seraient une activation du récepteur aux androgènes par l'IL-6 via les voies JAK, STATs et MAPK indépendamment de la présence d'androgène (229, 230).

PAI-1 (plasminogen activator inhibitor 1) appartient à la famille des inhibiteurs des Sérine Protéase. PAI-1 est une protéine inhibitrice des activateurs du plasminogène et par voie de conséquence de la fibrinolyse. Les travaux sur les souris déficientes pour PAI-1 et chez l'homme ont mis en évidence son implication dans de nombreux désordres biologiques incluant par exemple les maladies cardio-vasculaires, neuro dégénératives, l'inflammation, la fibrose et le cancer (231). C'est également le cas dans le cancer de la prostate, les études retrouvent que le taux de PAI-1 est associé au pronostic du CaP comme par exemple au risque de récidive biologique après prostatectomie (232, 233).

6. Les interactions réciproques entre les androgènes et le TA

Le CaP étant hormonodépendant d'une part et entouré de TA d'autre part, il parait intéressant dans la suite de ce paragraphe de rappeler le rôle des androgènes circulants sur le tissu adipeux et le rôle du tissus adipeux dans la synthèse et la biodisponibilité des androgènes.

Les Androgènes ont été découverts en 1936 et constituent une famille de composés qui stimulent le développement des caractères sexuels mâle primaires et secondaires. Les androgènes sont synthétisés majoritairement par les cellules de Leydig testiculaires et les glandes surrénales à partir du cholestérol. Cette synthèse est régulée par l'axe hypothalamohypophysaire via la sécrétion de GnRH (Gonadotropin-releasing hormone), LH (luteinizing hormone) et FSH (follicle-stimulating hormone). La testostérone est le produit fini d'un processus de synthèse comprenant de nombreuses étapes intermédiaires et effectuées dans différents compartiments cellulaires (figure 19) (234). La testostérone sera transformée par la 5α réductase en Di-hydrotéstostérone (DHT) qui sera active sur les cellules prostatiques. Sous l'action de l'aromatase, la testostérone sera transformée en œstradiol (235).



Figure 19 : Voie de synthèse des stéroïdes sexuels dans les cellules testiculaires de Leydig et dans la glande surrénale. (P450SCC : side-chain cleavage enzyme, P450 C17: Cytochrome 17 P450 ; 3β-HSD: 3β-hydroxysteroid dehydrogenase, 17β-HSD: 17b-hydroxysteroid dehydrogenase: 17 OHase : 17α Hydroxylase) d'après Tchernof et al., Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology 2015, et http://www.embryology.ch/francais/ugenital/molec05.html)

Le rôle des androgènes sur le TA

Les androgènes sont des régulateurs de la masse grasse de l'organisme. La corrélation entre un faible taux de testostérone circulante et l'augmentation du dépôt adipeux abdominal et viscéral est rapportée dans de nombreux travaux (236, 237). Par exemple, rétablir un taux normal de testostérone chez un sujet hypogonadique entraine une réduction du dépôt adipeux abdominal (238-240). Même si les résultats de la littérature sont contradictoires, trois mécanismes d'action des androgènes sur le TA sont décrits :

- La testostérone diminue l'activité de la lipoprotéine Lipase (LPL) et donc l'absorption de TG entrainant une diminution de la lipogenèse dans le TA (241-243). Concernant la lipolyse, les études sont discordantes mais il semblerait que la testostérone stimule la dégradation des TG en ciblant la voie d'activation des catécholamines (244, 245). L'hypothèse d'une participation du récepteur aux androgènes n'est pas exclue car cet effet est inhibé par le flutamide. Le flutamide est un traitement anti androgène pur non stéroïdien qui bloque les récepteurs androgéniques prostatiques (246).
- La testostérone et la DHT ont un effet inhibiteur sur la prolifération des pré-adipocytes (237).

La testostérone provoque une diminution de la production des adipokines et des cytokines. Une baisse des taux d'adiponectine et de leptine est observée en cas de supplémentation par testostérone. Le même effet de la testostérone est observé sur les taux plasmatiques de TNFα, IL-1ß et IL 10 (247-249).

Les androgènes modifient également la sensibilité à l'insuline. Chez la femme, une augmentation des androgènes circulant favorise l'insulino-résistance comme constaté dans le syndrome des ovaires poly-kystiques (250). A l'inverse, 25 à 33% des hommes atteints de diabète de type II présentent une hypo-testostéronémie (251, 252). Ce taux de testostérone diminuée est associé à une augmentation du risque d'obésité, d'insulino-résistance et de déminéralisation osseuse. Les mécanismes permettant d'expliquer ces effets de la testostérone sur l'insulino sensibilité ne sont pas clairement établis mais la relation de cause à effet semble évidente (253). Pour autre exemple, l'inhibition de la 5 α réductase pour les traitements de l'hypertrophie bénigne de la prostate est associée à une prise de poids, un risque de syndrome métabolique et d'insulino-résistance (241).

Cependant, il est important de souligner que les mécanismes d'action des androgènes sur le TA ont souvent des effets opposés en fonction du sexe et des dépôts adipeux comme illustré dans la figure 20 (254).



Figure 20 : Schéma des fonctions adipocytaires ciblées par les androgènes en fonction du sexe et des dépôts adipeux : SAT (subcutaneous AT) and VAT (Visceral AT) ; (AQP ; aquaporines) d'après Wawrzkiewicz-Jałowiecka et al., Int. J. Mol. Sci, 2021.

L'influence du TA sur la sécrétion des androgènes

Le TA est décrit depuis longtemps comme un réservoir de stéroïdes sexuels et un site de conversion enzymatique. En 1985, des travaux ont montré la présence de testostérone, DHEA-S, DHEA, androsténedione, androstenediol, estrone et estradiol dans le tissu adipeux avec un gradient positif de concentration entre le plasma et le TA était retrouvé (255). De plus, la machinerie enzymatique nécessaire à la production des androgènes était présente au sein du TA. Par exemple l'aromatase et la 17 ß-HSD sont retrouvées dans le tissus adipeux viscéral (255). L'aromatase qui transforme, dans le TA, la 5-dihydrotestosterone (DHT) en œstrogène pourrait être impliquée dans des désordres biologiques comme le syndrome métabolique et l'obésité (256-258). Si en situation physiologique, les estrogènes sont plutôt anti-adipogénique, leurs effets sont néfastes lorsque la sécrétion n'est plus régulée. Par exemple, la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires IL-6, TNF α entraine des remaniements du TA et l'augmentation de l'activité de l'aromatase. En conséquence, la testostérone est transformée en œstrogènes qui entrainent (259) :

- Un retro contrôle négatif sur l'axe hypothalamo hypophysaire
- Une diminution de la testostérone disponible
- Une phagocytose des cellules de Leydig chargées de la sécrétion de testostérone.

Ainsi dans un contexte inflammatoire, le TA diminue la production de testostérone.

Les sécrétions d'adipokines par le TA peuvent également influencer la sécrétion hormonale. Il semble que leptine régule la sécrétion d'hormones stéroïdiennes par son influence sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Cela a initialement été observé lorsque les souris déficientes pour le gène de la leptine présentaient une insuffisance hypothalamo-hypophysaire associée à un faible taux d'hormones stéroïdes circulantes. La supplémentation en leptine corrigeait cette carence (260, 261). En revanche, un taux trop élevé de leptine semblerait bloquer la sécrétion pulsatile de la GnRH entrainant une diminution de la testostérone circulante (262). Par ailleurs, la leptine a un effet délétère sur les cellules de Leydig (263). Ainsi, la leptine semble réguler la sécrétion des androgènes par son action simultanée sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et sur les cellules de Leydig.

Ensuite, il est reconnu que la testostérone circule dans le plasma, liée à l'albumine (43 % à 63%) ou au SHBG (sex hormone-binding globulin 35% à 55%) ou sous forme libre qui est la forme bio-disponible active (2%) (264). Ainsi la disponibilité des ligands qui est diminuée en condition d'obésité et d'insulino-résistance fait varier la quantité de testostérone circulante bio-active (265).

Nous venons de voir dans ce paragraphe que le TA régule par différents mécanismes in situ ou à distance, dont certains encore méconnus, la disponibilité des androgènes circulants (266).

7. Les modifications du TA en situations physiologiques

Certaines situations entrainent des modifications de l'organisation et des sécrétions du TA qui peuvent devenir délétères pour l'organisme. La situation la plus fréquente est l'obésité mais nous détaillerons également l'effet du vieillissement sur le TA et les caractéristiques des dépôts ectopiques de TA.

Les modifications du TA en situation d'obésité

L'obésité correspond à une surcharge pondérale induite par une accumulation excessive de masse grasse et un dysfonctionnement du TA qui peut avoir des conséquences sur la santé. L'obésité est définie par un indice de masse corporelle (IMC= Poids [kg]/ taille ²[m]) supérieur ou égal à 30 kg/m² (267). Il est désormais reconnu que cet indice est un bon indicateur pour mesurer la masse adipeuse, mais manque de précision dans certains cas particuliers comme le sportif par exemple. L'ajout de différents critères comme le périmètre abdominal ou le taux de lipides circulants semblerait être plus pertinents pour évaluer l'association de l'obésité avec les maladies systémiques comme le diabète (268).

En condition d'obésité, on observe initialement une expansion du TA qui est une adaptation nécessaire au stockage du surplus énergétique. Cette expansion peut se faire en théorie par 2 mécanismes : l'hypertrophie adipocytaire qui correspond à une augmentation de taille des adipocytes et l'hyperplasie adipocytaire qui est l'augmentation du nombre d'adipocytes dans le TA (269). Si les raisons pouvant expliquer l'implication préférentielle d'une voie plus que l'autre dans l'expansion du TA ne sont pas évidentes, il semblerait que les facteurs environnementaux, génétiques, la localisation des dépôts soient décisifs (270).Par exemple, la voie de l'hyperplasie reconnue comme étant très efficace pour le stockage de l'énergie serait privilégiée par le TA sous cutané. Concernant l'hypertrophie des adipocytes, elle entraine une dysfonction du TA avec une augmentation de la sécrétion de cytokines proinflammatoires, telles que le TNF α , l'IL-6 ou la chimiokine MCP1 (monocyte chemotactic protein 1) (271, 272).

Lorsque l'état d'obésité devient chronique, ce TA subit un important remodelage irréversible secondaire à une incapacité à continuer son expansion et à un environnement cellulaire et sécrétoire très inflammatoire. Ce TA dysfonctionnel peut être impliqué dans différents processus pathologiques comme l'insulino-résistance.

Nous détaillerons dans la suite de ce paragraphe les 3 mécanismes principaux impliqués dans ce remodelage chronique du TA : l'état inflammatoire, l'hypoxie et la réponse angiogénique et la fibrose.

L'état inflammatoire :

Comme décrit précédemment, l'hypertrophie des adipocytes s'accompagne d'une augmentation de la sécrétion de nombreuses cytokines pro inflammatoires (TNF α , l'IL-6) et de chémokines comme MCP1. Ces facteurs contribuent à augmenter l'état inflammatoire du TA mais surtout favorisent la chimio-attraction par la voie MCP-1/CCR2, des Macrophages M1 pro inflammatoires dans le TA (273, 274). Les adipocytes hypertrophiés par leur surcharge en toxiques lipidiques voient leur morphologie se modifier (dilatation des organelles, rupture de la membrane plasmique). Dans ces conditions, ces adipocytes dégénératifs sont repérés, entourés par les macrophages formant les « Crown-like structure » et sont phagocytés (275, 276). Cela provoque un relargage de molécules appelées les damage-associated molecular patterns (DAMPs) comme des acides nucléiques, de l'ATP, des Protéines S100 qui entretiennent l'état inflammatoire par la libération de médiateurs tels que IL-1 β , TNF α et participent au développement de maladies métaboliques comme, entre autres, le diabète ou l'hypertension (277). La population lymphocytaire est également modifiée dans le TA du sujet obèse avec augmentation des lymphocytes T CD8+ cytotoxiques au dépend d'une diminution du nombre de CD4+ ou T régulateurs. Ces Lymphocytes maintiennent un état inflammatoire chronique par l'augmentation des sécrétions de cytokines Th-1 pro-inflammatoires et la diminution des sécrétions de cytokines Th-2 anti-inflammatoires (278, 279) (figure 21).



Figure 21 : Modifications du profil de cellules immunitaires dans le tissu adipeux dans un contexte d'obésité. D'après Schipper et al., Trends in Endocrinology & Metabolism, 2012.

L'hypoxie et la réponse angiogénique

De nombreux travaux rapportent que le TA devient hypoxique en situation d'obésité et de vieillissement (280-284). La pression en O_2 d'un TA en situation d'obésité serait de 15mm Hg, alors qu'elle est mesurée à 45-50mm Hg en conditions physiologiques (285). L'origine de l'hypoxie n'est pas clairement définie mais il est certain que plusieurs mécanismes sont impliqués. L'hypertrophie de l'adipocyte pourrait être la cause initiale de l'hypoxie du TA. La croissance en taille de l'adipocyte (pouvant dépasser les 150-200 µm diamètre) l'éloigne du réseau capillaire à une distance supérieure au pouvoir de diffusion de l' O_2 , créant des zones moins oxygénées (286, 287). L'autre hypothèse serait que dans ce tissu dysfonctionnel, la rapide croissance en taille de l'adipocyte et la croissance vasculaire ne soient plus coordonnées entrainant une angiogenèse insuffisante par rapport à la consommation d'oxygène des adipocytes et de fait un état d'hypoxie (288). L'hypoxie a des répercussions directes sur le TA en perturbant la maturation des pré-adipocytes par une régulation des voies C/EBP-alpha et PPAR γ (289). Cela a des conséquences directes sur l'organisation du TA avec une augmentation de l'angiogenèse car les pré-adipocytes sécrètent un facteur pro-angiogénique, le β -FGF (290).

De plus, il semblerait qu'en situation d'obésité la réponse du TA à l'hypoxie ne soit pas aussi adaptée qu'en situation physiologique. L'exemple le plus marquant est celui de HIF-1 α (hypoxia- inducible-factor 1 alpha). L'état hypoxique combiné à l'inflammation du TA provoque une uprégulation de la voie de HIF-1 α notamment par la voie du NO (monoxyde d'azote) activée par les macrophages (291). HIF est un complexe protéique composé de 2 sous-unités : une sous-unité α (HIF-1 α , 2 α ou 3 α) et une sous unité β (HIF-1 β). En normoxie, la sous unité α est instable. Elle est hydroxylée par un complexe dépendant du fer et de l'oxygène ce qui lui permet de fixer VHL (Von-Hippel Lindau) puis d'être ubiquitinylée et enfin dégradée par le protéasome. En hypoxie la sous unité α de HIF n'est pas hydroxylée donc ne fixe pas VHL. Elle est alors transloquée dans le noyau s'associe à la sous-unité β (constitutivement présente) et des cofacteurs (P300/CBP) pour activer la transcription de gènes cibles de l'hypoxie impliqués dans le métabolisme du glucose, la prolifération cellulaire, le métabolisme du fer, le remodelage de la matrice et l'angiogenèse (292). Dans le TA le rôle angiogénique de HIF n'est pas si clairement décrit alors que des travaux sur son activité profibrotique sont rapportés. Par exemple, chez les souris transformées pour une chaine de HIF- 1α non dégradable, la réponse à l'hypoxie n'est pas une augmentation de sécrétion de VEGF ou d'un autre facteur de croissance vasculaire, mais une uprégulation de la Lysyl Oxidase (LOX) impliquée dans la réponse fibrotique (293). De même, ces souris ne développent pas d'insulino-résistance ni d'état inflammatoire en réponse à l'alimentation hypercalorique. En revanche, les mêmes modèles inactivés pour HIF-2 α développeront un état inflammatoire suggérant que cette unité de HIF protège le TA des modifications induites par l'alimentation hypercalorique (294).

En conclusion, L'hypoxie entraine un dérèglement de l'homéostasie sécrétoire du TA avec, entre autre, une augmentation de sécrétion de leptine, des cytokines pro-inflammatoires (par exemple PAI-1, IL-6)et une diminution de la sécrétion de l'adiponectine (295) (figure 22).



Figure 22 : Présentation des gènes dont l'expression est augmentée (flèche verte) ou diminuée (flèche rouge) en réponse à l'état hypoxique dans le TA (les gènes sont présentés par le nom de leur protéine par souci de cohérence avec le texte) P. Trayhurnet al ., Biology Physiological reviews, 2013.

La réponse fibrotique

En condition d'obésité, le cercle vicieux de l'inflammation entraine un remaniement de la MEC avec une augmentation de la production de fibres de collagènes fibrillaires. Dans le TA obèse, ces fibres forment des amas denses autour des adipocytes qui pourraient ainsi être limités dans leur expansion. Le collagène de type VI (Col6) semble être impliqué dans le processus fibrotique limitant l'expansion du TA. En effet, en l'absence de Collagène VI chez la souris, le TA n'est plus limité dans son expansion et présente un état moins inflammatoire que le TA des souris sauvages (123). Chez l'Homme, l'expression des gènes codants pour des protéines de la MEC comme le collagène de type I alpha 1(COL1A1), le collagène type VI alpha 3(COL6A3), le lumican (LUM), et la tenascine C (TNC) est augmentée dans un contexte d'obésité. Aussi, en condition d'obésité l'activation de toll-like receptor 4 (TLR4) par les acides gras saturés joue un rôle important dans le développement de la fibrose en stimulant les macrophages qui sécrètent à leur tour du TGFß1 impliqué dans la voie pro-fibrotique (296, 297).

Ces constatations confirment le rôle clé des macrophages dans le remodelage du TA en condition d'obésité en induisant l'inflammation et la fibrose. La figure 23 représente les modifications décrites dans ce paragraphe conduisant à des dysfonctions de l'organisme.



Figure 23 : Représentation des différentes étapes du remodelage du TA au cours du développement et de la chronicisation de l'obésité. Ce remodelage conduit à un TA dysfonctionnel favorisant l'apparition de désordres métaboliques systémiques tels que la stéatose hépatique, une diminution des capacités insulino-sécrétoire par les îlots ß du pancréas, des dysfonctions cardiaques d'après Marcelin et al., Médecine/Sciences, 2018.

Les modifications du TA au cours du vieillissement

Avec l'âge, la distribution, la quantité et la fonction du TA, qu'il soit blanc ou brun, sont modifiées. Certaines théories placent le TA blanc comme principal responsable de l'état inflammatoire chronique lié à au vieillissement (298), appelé « inflammageing ». D'autres considèrent le TA blanc comme un acteur majeur du développement de la fragilité du sujet âgé, des maladies neurodégénératives et des maladies cardio- et neuro-vasculaires (299, 300). Au cours du vieillissement, une perte de masse maigre qui correspond à la sarcopénie est observée de façon concomitante à une augmentation du TA dans l'organisme (301). L'augmentation du TA ne se fait pas selon les mêmes règles de distribution que le sujet jeune. Chez le sujet âgé, en raison d'un TA sous cutané dysfonctionnel pour le métabolisme lipidique, l'accumulation d'acides gras pour constituer les réserves énergétiques est surtout abdominale et au sein de dépôts ectopiques comme au sein du foie, pancréas, cœur ou rein par exemple (302). L'organisation du TA se modifie avec l'âge ce qui conduit à sa dysfonction.

Tout d'abord, dans le TA du sujet âgé les pré-adipocytes sont dysfonctionnels ce qui bloque leur différenciation en adipocytes matures (303). Différents mécanismes semblent être responsables de ce blocage comme la sécrétion de TNF α et l'augmentation du stress oxydatif qui bloquent la synthèse des facteurs C/EBP α et PPAR γ indispensables à l'adipogenèse (304, 305). Potentiellement HIF1 α sécrété en réponse à l'hypoxie ou à la sécrétion de NO par les macrophages pourraient bloquer également cette différenciation (291).

La fonction sécrétoire du TA est également modifiée avec le vieillissement. In vitro, les adipocytes de sujets âgés produisent plus de cytokines pro-inflammatoires comme IL-6, MCP-1 (306). D'autre part, le taux de leptine est augmenté chez le sujet âgé par rapport au sujet jeune mais sa biodisponibilité est moindre faisant suspecter un possible syndrome de résistance à la leptine avec le vieillissement (307-309).

La population des cellules immunitaires est modifiée dans le TA du sujet âgé selon les mêmes caractéristiques que le sujet obèse. Il est observé une augmentation du ratio Macrophage proinflammatoire M1/ Macrophage anti-inflammatoire M2, une accumulation de lymphocytes CD8+ qui entretiennent comme décrit précédemment le cercle vicieux de l'inflammation (310, 311).

58

Une augmentation de la fibrose au sein de la matrice extracellulaire et une diminution de la densité vasculaire responsable d'hypoxie sont également observées dans les TA de sujets âgés (284).

Enfin, un des éléments assez spécifiques du remodelage du TA au cours du vieillissement est l'accumulation de cellules sénescentes (312). Il a été observé chez les vieux rats une augmentation du nombre de pré adipocytes et adipocytes sénescents (313). Ces cellules sont connues pour présenter un phénotype spécifique, appelé Senescence Associated Secretory Phenotype (SASP), qui favorise la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, de chimiokines, de facteurs de croissance et de métallo-protéase de la MEC. Ces cellules dysfonctionnelles sont repérées et phagocytées par les cellules immunitaires, ce qui maintient l'état inflammatoire du TA (313-315).

Les dépôts ectopiques

L'accumulation de TA dans des zones inhabituelles de stockage comme au contact des différents organes (foie, muscle squelettique, cœur, pancréas) et au niveau abdominal a fait naitre le concept de TA ectopique (316). Pendant longtemps, l'unique théorie pour expliquer ces dépôts était celle du débordement du stockage des lipides par le TA sous cutanée. Ces dépôts ectopiques étaient systématiquement considérés comme responsable des pathologies ou dysfonctionnement des organes adjacents. Récemment, cette théorie est remise en question suite à des constatations très simples, comme par exemple l'existence d'un TA péricardiaque (décrit dans le chapitre B.1) abondant chez un sujet ayant un IMC normal (317), la coexistence plus que la relation de cause à effet observée entre dépôt péri cardiaque et pathologie cardio vasculaire (318). Un autre argument important est le possible rôle joué par les dépôts ectopiques pour maintenir l'homéostasie des organes adjacents ; comme par exemple le rôle majeur des adipocytes dans la régénération des cardiomyocytes (319). Finalement, est-ce l'accumulation d'un TA ectopique dysfonctionnel qui est responsable de la défaillance de l'organe ou la dysfonction organique qui provoque l'accumulation du dépôt ectopique ? la réponse n'est pas évidente (320).

Les dépôts ectopiques peuvent être classées en 2 groupes selon leurs localisations et leurs implications potentielles dans des désordres locaux ou systémiques (figure 24). Les dépôts de TA abdominal, intra hépatique ou musculaire entrainent des conséquences systémiques

59

comme l'insulino-résistance et le syndrome métabolique : ils sont dits à effets systémiques. A l'inverse, les dépôts ectopiques péri cardiaque, péri vasculaire, rénaux ont une répercussion locale sur les organes adjacents (321).



Figure 24 : Les dépôts ectopiques de TA selon leurs localisations et leurs potentiels effets locaux ou systémiques sur l'organisme d'après Britton et al., Circulation, 2011

Cas particulier d'un dépôt ectopique de TA à effet systémique avec IMC normal

Un profil de sujet normo pondéré ayant une accumulation de dépôt ectopique associé à des répercussions sur le fonctionnement des organes a été décrit par le terme de « Metabolically Unhealthy Normal Weight ». Ces personnes présentent un phénotype de TA dysfonctionnel, appelé « lipodystrophy-like » qui est caractérisé au niveau moléculaire par l'implication d'au moins 10 voies de signalisation (RS1, GRB14, ARL15, PPARγ, PEPD, ANKRD55/MAP3K1, PDGFC, LYPLAL1, RSPO3 AM13A1) (322, 323). Concernant d'organisation tissulaire, ce phénotype semble être associé à une accumulation plus importante de macrophages, une adipogenèse diminuée et une inflammation (324). Ce phénotype entraine des répercussions directes sur l'organisme avec entre autres une insulino-résistance, une diminution du TA sous cutané des jambes et un risque accru de cancer colo-rectal (figure 25) (325).



Figure 25 : Description du phénotype et des déterminants génétiques du syndrome de "Metabolically Unhealthy Normal Weight" (cIMT : Carotid intima-media thickness), d'après Stephan et al., Cell Metabolism Perspective, 2017.

C. Le Tissu adipeux péri-prostatique : un nouvel acteur dans la progression du CaP

Le tissu adipeux péri prostatique (TAPP) est un tissu adipeux blanc entourant la prostate. Dans ce paragraphe, nous allons décrire les caractéristiques de ce TA et l'implication potentielle de ce tissu dans le développement et la progression du cancer de la prostate

1. Description anatomique du tissu adipeux péri-prostatique

Le tissu adipeux qui entoure la prostate est situé dans l'espace sous péritonéal, limité en avant par la symphyse pubienne, en arrière par le fascia recto-prostatique et latéralement par les muscles obturateurs (326, 327). D'importants progrès dans la définition anatomique de ce tissu ont été faits grâce au développement de l'IRM multiparamétrique de la prostate (figure 26). Il est séparé de la prostate par un feuillet fibro-musculaire, la capsule prostatique, présent sur les faces latérales de la glande prostatique. La zone antérieure de la prostate étant dépourvue de capsule, dans cette région spécifique, le TAPP est en contact direct avec la prostate. Au sein du TAPP postéro-latéral cheminent les pédicules vasculo-nerveux dont les branches terminales sont destinées à la fonction érectile du pénis (figure 27).



Figure 26 : Coupes Axiale et sagittale pelviennes décrivant le tissu adipeux péri prostatique (PPAT : Peri Prostatic adipose tissue) entourant la prostate (P), limité latéralement par les muscles obturateurs (OM), en arrière par le fascia recto-prostatique de Denonvilliers et en avant par la symphyse pubienne (PS) d'après Estève et al., Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research, 2020.



Figure 27 : Coupes histologiques colorée à l'Hématoxyline Eosine d'un prélèvement prostatique montrant la proximité entre le tissu adipeux périprostatique (TAPP) et la prostate ainsi que les vaisseaux cheminant au sein du TAPP (CaP: cancer de la prostate P : prostate; V: vaisseaux; TAPP : tissu adipeux périprostatique)) d'après Estève et al., Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research, 2020.

Les caractéristiques biologiques spécifiques du TAPP ont été peu décrites dans la littérature. Comme rapporté précédemment, chaque TA a des caractéristiques morphologiques et fonctionnelles différentes, ce qui a justifié la partie expérimentale de mon travail. Selon les quelques résultats disponibles, les adipocytes du TAPP sont plus petits que ceux du TASC, présentent une lipolyse basale similaire, mais semblent plus sensibles à la lipolyse induite par l'isoprotérénol que les adipocytes du TASC (328, 329). De plus, une étude réalisée sur des patients présentant une hypertrophie bénigne de la prostate montre que le TAPP contient plus de précurseurs adipocytaires que le TA viscéral (330). Concernant son développement, sa proximité étroite avec la prostate suggère que l'accumulation du TAPP pourrait être coordonnée avec la croissance de la prostate qui évolue à partir de la puberté sous l'influence des hormones stéroïdiennes. Un lien entre androgènes et accumulation du TAPP a été montré chez des patients exposés ou non à un traitement par inhibiteur de la 5 α réductase, qui bloque la transformation de la testostérone en DHT. Chez les patients traités, on observe une diminution à la fois du volume de la prostate et du TAPP chez les patients traités (331). Nous verrons dans la partie expérimentale de mon travail que nous avons pu montrer que l'accumulation du TAPP est étroitement lié à la taille de la prostate, renforçant cette hypothèse. De plus comme nous le verrons plus loin, de nombreuses études ont montré que l'accumulation du TAPP est indépendante de l'IMC ce qui en fait un tissu adipeux dont la régulation de l'accumulation est très spécifique (332) Indépendamment de ces spécificités, comme tous les autres dépôts adipeux blancs, le TAPP possède des activités sécrétoires et métaboliques pouvant jouer un rôle sur le tissu prostatique à proximité en particulier.

2. Rôle Paracrine du TAPP dans l'agressivité du CaP

Différentes approches ont été utilisés pour montrer l'implication du TAPP dans la progression du CaP : i) l'analyse des modifications globales du TAPP chez les patients atteints de CaP ; ii) l'étude de l'expression de certaines adipokines dans les TAPP en les reliant à l'agressivité des CaP et iii) des études *in vitro* montrant l'impact de la coculture entre adipocytes (soit obtenus à partir de lignées différenciées in vitro ou d'adipocytes isolés) ou progéniteurs adipocytaires et des cellules tumorales prostatiques. Ces données obtenues in vitro permettant l'identification de mécanismes moléculaires ont dans certaines études été validées chez la souris. L'ensemble des données obtenues sont résumées dans la revue générale que j'ai écrite lors de ma thèse avec les autres membres de l'équipe travaillant sur le CaP (333) et qui est présentée juste après cette introduction. Je reprendrais donc ici les principaux points.

Des modifications globales du TAPP chez les patients atteints de cancer sont observées. Ainsi, le profil d'expression génique du TAPP chez des patients atteints de CaP par rapport à des patients atteints d'HBP montre des caractéristiques d'hypercellularité et une baisse de l'immuno-surveillance, potentiellement favorables à la progression tumorale **comme montré dans la figure 28** (334). Ces caractéristiques sont aussi modifiées par la nature des tumeurs. Une caractérisation du transcriptome du TAPP montre que parmi les gènes différentiellement exprimés dans le TAPP de patients avec un cancer de haut risque *versus* faible risque, les gènes impliqués dans l'inflammation et/ou les réponses immunitaires prédominent (335). Nous allons maintenant voir que certains acteurs impliqués dans le dialogue TAPP/cancer ont été identifiées de façon plus précise.



PERIPROSTATIC ADIPOSE TISSUE

Figure 28 : Modifications géniques du TAPP dans un contexte de cancer de la prostate. Les gènes dont l'expression est modifiée provoquent la prolifération et la croissance cellulaire, la différenciation cellulaire, un échappement immunitaire, une diminution de l'apoptose. Cela conduit à une hypercellularité et une diminution de l'immuno-surveillance. D'après Ribeiro et al., BMC Medicine, 2012.

Implication de facteurs solubles sécrétées par le TAPP (adipocytes et cellules de la fraction SVF)

Bien que la leptine et l'adiponectine aient un effet sur la migration et la prolifération de lignées prostatiques in vitro (333), concernant les facteurs solubles impliqués, les résultats les plus intéressants ont été obtenus avec les cytokines pro-inflammatoires. Le taux de sécrétion de l'IL-6 dans le TAPP est largement supérieur au taux circulant sanguin et est associé à l'agressivité du CaP définie par le score de Gleason (273). Des résultats similaires ont été observés par Zhang et al qui montrent que l'intensité de l'expression de l'IL-6 dans les adipocytes du TAPP est associée à l'agressivité du PCa (336). Il est intéressant de noter que l'IL-6 active le récepteur aux androgènes et facilite leur synthèse locale, ces deux mécanismes étant fortement impliqués dans la prolifération tumorale prostatique (337). D'autres cytokines pro-inflammatoires tels que le TNF α (Tumor Necrosis Factor α) sont surexprimées par les adipocytes du TAPP et son niveau d'expression est corrélé à l'apparition de CaP de haut grade (338).

Les adipocytes du TAAP sécrète également des chimiokines, dont au moins 2 semblent être directement impliquées dans le dialogue entre le tissu adipeux et les cellules cancéreuses prostatiques. Notre équipe a montré que la sécrétion de C-C motif ligand 7 (CCL7) par les adipocytes entrainait la migration dirigée des cellules tumorales prostatiques exprimant le récepteur CCR-3 *in vitro* et *in vivo*. L'expression de CCR3 chez les patients atteints de CaP est associée au risque de maladies agressives et de récidive biologique (339). L'autre chimiokine d'intérêt est CCL2 ou MCP1 que nous avons précédemment décrite dans le chapitre « Les modifications du TA en situations physiologiques ». In vitro, CCL2, sécrétée par les adipocytes du TAPP, permet aux cellules tumorales d'acquérir des capacités d'invasion par l'intermédiaire de la métalloprotéase 2 (MMP2) activée par l'expression du récepteur CCR2 (340).

D'autres facteurs solubles ont été impliqués dans la réponse à la thérapie. En effet une étude récente a montré que le milieu conditionné d'adipocytes différenciées in vitro à partie de la fraction SVF du TAPP favorise la résistance au Docétaxel (341). Le mécanisme évoqué pour expliquer cet effet serait que la sécrétion d'IGF-1 par ces adipocytes active une voie de signalisation BCL-2/ BCL-xL/ TUBB2B (B-cell lymphoma-2 ; B-cell lymphoma extra-large; β-tubulin isoform 2B) au sein de la cellule tumorale provoquant une résistance au Docétaxel (341). Cette étude a donc réussi à faire la relation entre IGF-1 dont l'association avec

65

l'agressivité du CaP est largement rapportée (342, 343) et l'expression de TUBB2B, isoforme de β-tubulin décrits précédemment comme favorisant la résistance au Docétaxel (344).

Les cellules progénitrices ou ASC sont elles aussi capables de sécréter des facteurs solubles impliqués dans l'agressivité du CaP. Les cellules tumorales prostatiques, grâce à leur capacité à sécréter les chemokines CXCL1 et CXCL8, favorisent la migration des ASC du TAPP vers les tumeurs in vivo de manière dépendante de CXCR1/CXCR2 (345). Les ASC recrutés stimulent la vascularisation et la croissance des tumeurs (345). D'autres expériences de coculture ont démontré que les ASC humaines favorisaient la transition épithéliale-mésenchymateuse (EMT), l'augmentation de la migration/invasion et la chimiorésistance des cellules CaP au cisplatine et aux taxanes (346). L'ablation des ASC diminue la résistance au cisplatine ainsi que la dissémination locale du CaP *in vivo* (346).

Effet des médiateurs lipidiques dans le dialogue TAPP /cancer

Un autre aspect important du dialogue entre TAPP et cellules cancéreuses est l'implication de médiateurs lipidiques. Des études in vitro ont montré l'effet pro-prolifératif et pro-invasif des adipocytes sur les cellules tumorales (347, 348). Mon équipe d'accueil a été une des premières à montrer que les adipocytes péri tumoraux présentent un phénotype spécifique, ces adipocytes modifiés ont été nommés « Cancer-Associated Adipocytes » ou CAAs (349). Au contact des cellules cancéreuses, les CAAs présentent une diminution de leur taille et de leur contenu lipidique et un phénotype « activé » avec une modification importante de leur profil sécrétoire à la faveur entre autres de cytokines pro-inflammatoires (349). En retour, les CAAs favorisent la progression tumorale en sécrétant des facteurs solubles, matriciels et lipidiques (349-351). En effet, il est maintenant établi qu'un des aspects majeurs et spécifiques de l'effet délétère des adipocytes sur la progression tumorale dépend du dialogue métabolique qui s'instaure entre adipocytes et cellules tumorales (352). Comme dans les autres tumeurs solides (352), mon équipe a montré que les cellules tumorales prostatiques sont capables d'induire une lipolyse dans les adipocytes matures humains isolés de TAPP (353). Les AGL libres libérés par les adipocytes sont transférés dans les cellules tumorales où ils contribuent à augmenter le stress oxydatif ce qui favorise leurs capacités invasives (353). Les voies de signalisation décrites impliquent NOX5, une isoforme de l'enzyme pro-oxydante NADPH oxydase, qui régule l'expression de MMP14 via la production de ROS et la stabilisation du facteur de transcription HIF-1. L'expression de NOX5 et de MMP14 est plus élevée au niveau du front invasif des tumeurs humaines, où les cellules cancéreuses se trouvent à proximité des adipocytes par rapport à celle du centre de la tumeur (353). Ainsi, ces travaux montrent que le TAPP serait un réservoir d'énergie facilement disponible pour les cellules cancéreuses profitant de cet environnement lipidique pour leurs prolifération, survie et capacité d'invasion (353, 354). Comme nous l'avons vu, les cellules tumorales sont capables de capter les lipides et de les stocker sous forme de gouttelettes lipidiques similaire à celles des adipocytes. Pour mobiliser ces lipides, les cellules peuvent activer le processus de lipophagie (355). C'est d'ailleurs un mécanisme de survie des cellules LNCaP androgèno-dépendantes lorsqu'elles sont privées d'androgènes (356). De façon, intéressante, Fontaine et al ont rapporté que l'activité lipophagique des cellules tumorales était associée à l'agressivité des tumeurs et à l'envahissement du tissu adipeux extraprostatique (357). Des expériences de coculture entre des cellules PC3 (lignée androgéno-indépendante) et des adipocytes, ont montré que les adipocytes participaient au stockage des gouttes lipidiques par les cellules tumorales et à l'activation de lipophagie (357). Cela n'était pas le cas dans les lignées cellulaires androgèno-dépendantes (357).

Comme nous le voyons cet ensemble de données montre que le TAPP agit sur la progression tumorale par de nombreux médiateurs sécrétés à la fois par les adipocytes et les progéniteurs adipocytaires. Ces données sont résumées **dans la figure 29** ainsi que dans la figure de la revue générale que nous avons écrite.



Figure 29 : Figure présentant comment le Tissu Adipeux péri prostatique (TAPP) pourrait favoriser l'agressivité du CaP. L'intéraction réciproque entre les adipocytes et les cellules tumorales entrainent une reprogrammation adipocytaire en cancer-associated adipocytes (CAAs). A leur tour, les CAAs sécrètent des adipokines, cytokines, hormones, enzymes et facteurs de croissance qui facilitent la croissance tumorale et la dissémination métastatique. Cela permet également un transfert de « Fatty acid » du TAPP vers la tumeur qui seront une source énergie importante pour la croissance tumorale d'après Nassar et al., BJU International, 2018.

3. Effet de l'obésité sur les fonctions paracrines du TAPP :

Comme nous l'avons vu initialement, l'obésité est un facteur d'agressivité du cancer de la prostate augmentant les risques de rechute après traitements locaux mais également raccourcit le délai d'apparition de la maladie hormonorésistante (358, 359). Ainsi plusieurs études se sont intéressées aux modifications du TAPP dans un contexte d'obésité et leurs effets sur la progression du CaP.

Chez les patients obèses, on trouve des macrophages dans des structures spécifiques appelées « Crown like Structures » (CLS) entourant les adipocytes nécrotiques. Dans une grande série de 170 patients, les CLS ont été détectées dans la moitié des échantillons et associées à un BMI et à un grade de Gleason plus élevés (360). Il est intéressant de noter que la relation entre l'inflammation des TAPP et un grade de Gleason élevé est reste significative après ajustement de l'IMC (360), ce qui montre que le TAPP présente un état inflammatoire basal. Les sécrétions de la leptine, de l'IL-6, et de la MMP9 sont également augmentées dans ces tissus issus de patients obèses (348). Les travaux de Ribeiro *et al* précédemment cités permettent de constater les différences entre le TAPP du sujet obèse et non obèse chez des patients atteints de CaP. Les voies particulièrement exprimées dans le TAPP d'obèse sont le métabolisme glycéro-lipidique, l'immunité, l'inflammation, la prolifération cellulaire, l'apoptose et l'angiogenèse. Selon les auteurs, la surexpression de LEP et ANGPT1 dans le TAPP des sujets obèses, qui codent respectivement pour la leptine et l'angiopoïétine 1, pourraient représenter des cibles importantes impliqués dans la progression du cancer (334).

Comme nous l'avons vu précédemment, notre équipe a montré que les adipocytes du TAPP produit la chimiokine CCL7 qui attire les cellules tumorales prostatiques via le récepteur CCR3 vers le compartiment extra prostatique (339). L'expression de CCL7 est régulée par l'obésité chez l'homme et l'invalidation de CCR3 dans des lignées tumorales prostatiques diminue la progression tumorale dans des souris soumises à un régime High Fat Diet (339). Dans une étude récente, une autre chimiokine CXCL12, a été retrouvée surexprimée spécifiquement dans les progéniteurs adipocytaires du TAPP de souris obèses (361). L'activation de deux de ces récepteurs CXCR4 et CXCR7 favorisent l'invasion des cellules prostatiques *in vitro* et *in vivo* (361). Une étude ultérieure chez des patients a confirmé ces résultats montrant que l'expression de CXCL12 par le stroma adipeux péritumoral est accrue dans l'obésité, et que l'augmentation de l'expression de cellules stromales exprimant le PDGFR (Platelet derived growth factor) et CXCL12 dans la tumeur est associée à une survie sans progression plus courte (figure 30)(362).

69



Figure 30 : Rôle des chimiokines sécrétées par le TA en condition d'obésité dans la prolifération tumorale A/ Rôle de l'axe CCL7-CCR3 dans la migration extra prostatique des cellules tumorale d'après Laurent V et al., Nature Com, 2016. B/ Rôle de l'axe CXCL12-CXCR4 dans l'activation des voies de signalisation impliquées dans la progression tumorale d'après Su, F et al., NPJ Precision Oncology, 2021.

Outre les résultats très intéressants obtenus avec les chimiokines, mon équipe a montré que le transfert de lipides entre adipocytes du TAPP et les cellules tumorales était amplifié en condition d'obésité ce qui conduit à une amplification de la signalisation NOX5/HIF-1a/MMP4 identifié en condition non obèse (353).

En conclusion, en condition d'obésité, le TAPP présente un état inflammatoire associé à une augmentation de sécrétion d'adipokines (en particulier des chimiokines) et à une augmentation de la source de lipides (liées aux adipocytes hypertrophiques) qui facilite la migration et prolifération des cellules tumorales prostatiques (ces résultats sont résumés dans **la figure 31**).



Figure 31 : Modifications géniques du TAPP dans un contexte d'obésité. L'expression génique modifiée provoque une un état inflammatoire chronique et une source d'énergie susceptibles de favoriser la progression tumorale. Les gènes dont l'expression est diminuée sont indiqués en vert, ceux qui sont augmentés sont représentés en rouge. ASC = Adipose-derived Stem Cells; EMT = Epithelial-to-Mesenchymal Transition. D'après Ribeiro et al., BMC Medicine, 2012.

4. Cas particulier du TAPP abondant :

Bien que l'obésité entraine des modifications fonctionnelles du TAPP (333), de nombreuses études ont rapporté l'absence de corrélation entre l'accumulation de TAPP et l'IMC, contrairement à tous les autres TA viscéraux (363-365). Cette accumulation de TAPP, finalement très variable entre les individus, est d'autant plus intéressante que de nombreuses études ont démontré une corrélation positive entre l'accumulation de TAPP et l'agressivité du CaP (332) définit par des scores de Gleason élevés, des maladies localement avancées (363-367). Ainsi, la mesure du TAPP pourrait avoir une implication dans le management des patients ayant un CaP tant l'abondance peut prédire d'une part l'agressivité du CaP des patients traités par prostatectomie totale pour CaP localisé (329, 368) ou alors une survie sans progression raccourcie chez les hommes en surveillance active pour un CaP de faible risque d'évolution (369). Dans la maladie avancé, l'abondance du TAPP a également été proposée comme un facteur prédictif de la résistance à la castration (370, 371). Bien que les méthodes de mesure pour définir l'abondance soient très variées, les résultats constants qui montrent un lien entre l'abondance du TAPP et différents critères d'agressivité connus du CaP sont rapportés dans le tableau 4.

Si les résultats de ces études cliniques suggèrent que l'abondance du TAPP pourrait être un facteur majeur et bien plus important que l'obésité dans la progression et l'évolution du CaP, ce concept est pour l'instant corrélatif et les modifications biologiques du TAPP permettant cette accumulation et impliquées dans la progression tumorale ne sont pas connus. Cet aspect sera abordé dans la deuxième partie de mon travail de thèse.

•
Etude	Examen de	Traitement	Mesure	Modalités de mesure	Résultats	Lien avec IMC
	référence			sur l'imagerie		
Zhai T-S et al	Curage	chirurgie	Aire de TAPP	Coupes axiales d'IRM	Association entre	
China 2021	ganglionnaire		Ratio TAPP/ aire	T2 Mesure du volume	l'aire du TAPP et le	
N=179 (367)	pelvien		prostatique	sur coupes	ratio des aires du	
				successives de la	TAPP/ prostate avec	
				base à l'apex de la	l'envahissement	
				prostate.	ganglionnaire	
				Mesure de l'aire sur		
				la coupe axiale en		
				regard de la		
				symphyse pubienne		
Zhai T-S et al	Biopsies	DM	Aire de TAPP	Coupes axiales d'IRM	Aire de TAPP	Aire de TAPP ou aire
China 2020	prostatiques		Ratio TAPP/ aire	T2. Mesure du	normalisée par le	TAPP normalisée par
N=660 (372)			prostatique	volume sur coupes	volume prostatique	aire prostatique ne
				successives de la	est un facteur de	sont pas associées à
				base à l'apex de la	risque indépendant	l'IMC
				prostate.	de CaP (OR 1.05	
					(1.03-1.07) p≤ 0.001	

				Mesure de l'aire sur		
				la coupe axiale en		
				regard de la		
				symphyse pubienne		
Zhai L et al	Prostatectomie	chirurgie	Aire antérieure	Coupes axiales d'IRM	Association entre	
China 2018			du TAPP	T2 Mesure en regard	l'aire de TAPP	
N=56 (368)			Aire postérieure	de la partie	antérieure et le	
			du TAPP	supérieure de la	risque d'upgrading	
			Aire Totale TAPP	symphyse pubienne	des cancers ISUP 1	
			Epaisseur du tissu		biopsiques sur	
			adipeux sous		pièces de	
			cutané		prostatectomie	
Dahran et al	Biopsies	chirurgie	Volume de TAPP	Coupes axiales d'IRM	Corrélation entre le	NON
UK 2017	prostatiques &		normalisé /	pré-opératoire T2	NPFV et le score de	
N = 162 (329)	Prostatectomie		prostate	successives (de la	Gleason pré et post-	
	totale		(NPFV)	base à l'apex de la	opératoire et le	
			épaisseur TAsc et	prostate) et	stade pT (TAPP chez	
			aire TAV	segmentation semi-	pT2 < pT3)	
				automatique +		

				normalisation /		
				volume prostatique		
Salji et al	Réponse au	ADT	Volume de TAPP	Coupes axiales d'IRM	Volume de TAPP	
Scotland 2017	traitement		Volume TAPP/ vol	pré-opératoire T2	est augmenté chez	
N = 61 (370)	(ADT)		prostatique	successives (de la	les patients ayant	
				base à l'apex de la	développé un CRPC	
				prostate) et	- CCR3 / TAPP élevé	
				segmentation semi-	associé à une	
				automatique +	mauvaise réponse	
				normalisation /	au traitement (N =	
				volume prostatique	18)	
Cao et al	Biopsies		Epaisseur de	Coupe axiale d'IRM	La quantité de TAPP	NON
China 2017	prostatiques		TAPP et de TAsc	au niveau du plan	est un facteur	
N = 683				sagittal médian :	prédictif de la	
(dont 371 CaP)				distance la plus	détection de CaP et	
(étude				courte entre la	de CaP agressifs	
d'INCIDENCE)				symphyse pubienne		
(373)				et la prostate (TAPP)		
				et entre la symphyse		
		1		1	1	1

				pubienne et la paroi		
				abdominale (TAsc)		
Tan et al.	Biopsies		Volume de TAPP	Coupes axiales d'IRM	Le volume et le ratio	NON
USA 2016	prostatiques		Volume TAPP /	pré-opératoire T2	de TAPP sont	
N = 234 (dont 145			volume prostate	successives (de la	corrélés à des SG	
CaP) (365)			(ratio de TAPP)	base à l'apex de la	biopsiques plus	
				prostate) et	élevés	
				segmentation semi-		
				automatique +		
				normalisation /		
				volume prostatique		
Woo et al.	Prostatectomie	Chirurgie	Epaisseurs des	Coupe sagittale	Corrélation positive	NON
Corée 2015	radicale		TAsc et TAPP	d'IRM pré-opératoire	entre l'épaisseur du	
N = 190 (364)				T2. Mesure de la	TAPP et le SG post-	
				perpendiculaire la	opératoire	
				plus courte entre		
				la prostate et l'os		
				pubien (sur le plan		
				sagittal médian)		

Zhang et al.	Prostatectomie	Chirurgie	Aire de TAPP	Coupe transversale	Corrélation entre	
China 2014	radicale		Epaisseur de TAsc	d'IRM au niveau de la	l'aire de TAPP et le	
N = 184 (363)				tête fémorale et du	score de d'Amico	
				grand trochanter		
Bhindi et al.	Biopsies	DM	Epaisseur de	Echographie	La quantité de TAPP	OUI très faible
Canada 2012	prostatiques		ТАРР	transrectale : mesure	est un facteur	(Spearman R =0,08)
N = 931 (374)				de la perpendiculaire	prédictif de la	
				la plus courte entre	détection de CaP et	
				l'os pubien et la	de CaP agressifs	
				prostate		
Roermund et al.	Biopsies	Radiothérapie	Aire de TAPP	Coupe transversale	Corrélation positive	
Pays-Bas 2010	prostatiques	externe (N = 311)	(cm2)	de scanner. Le TAPP	entre la densité de	
N = 932 (366)		et brachythérapie	Epaisseur du TAsc	est identifié dans la	TAPP et les cancers à	
		(N = 621)		loge prostatique par	haut risque (score	
				des densités entre -	de Ash)	
				190 et -30UH. La		
				densité de graisse (%)		
				correspond à l'aire de		
				TAPP divisée par		
				l'aire totale de la loge		

			prostatique		
			(contourée)		
Biopsies	Curiethérapie	Aire de TAPP	Coupe transversale	L'aire et la densité	OUI
prostatiques		(cm2)	de scanner à 2	du TAPP ne sont pas	(Spearman R= 0,36)
		Epaisseur du TAsc	niveaux. Le TAPP est	corrélés à	
			identifié dans la loge	l'agressivité du	
			prostatique par des	cancer de la prostate	
			densités entre -190	(haut grade de	
			et -30UH. La densité	d'Amico ou Ash)	
			de graisse (%)		
			correspond à l'aire de		
			TAPP divisée par		
			l'aire totale de la loge		
			prostatique		
			(contourée)		
	Biopsies prostatiques	Biopsies Curiethérapie prostatiques	Biopsies Curiethérapie Aire de TAPP prostatiques (cm2) Epaisseur du TAsc	PiopeProstatique (contourée)BiopsiesCuriethérapieAire de TAPPCoupe transversale de scanner à 2prostatiques(cm2)Epaisseur du TAscniveaux. Le TAPP est identifié dans la loge prostatique par des densités entre -190 et -30UH. La densité de graisse (%) correspond à l'aire de TAPP divisée par l'aire totale de la loge prostatique (contourée)	Biopsies Curiethérapie Aire de TAPP Coupe transversale L'aire et la densité prostatiques Curiethérapie Aire de TAPP Coupe transversale L'aire et la densité prostatiques (cm2) de scanner à 2 du TAPP ne sont pas Epaisseur du TAsc niveaux. Le TAPP est corrélés à identifié dans la loge l'agressivité du prostatique par des cancer de la prostate densités entre -190 (haut grade de et -30UH. La densité d'Amico ou Ash) de graisse (%) correspond à l'aire de TAPP divisée par l'aire totale de la loge prostatique (contourée)

Tableau 4 : Lien entre l'abondance du TAPP et l'agressivité du cancer de la prostate.

Abréviations : TAPP = tissu adipeux périprostatique ; SG = score de Gleason ; TAsc = tissu adipeux sous-cutané ; TAV = tissu adipeux viscéral ; UH = unités de Hounsfield ; DM

= données manquantes ; CRPC = Castration-Resistant Prostate Cancer ; ADT = Androgen Deprivation Therapy ; IMC = Indice de Masse Corporelle ; CaP = Cancer de la

Prostate ; OR= Odds rat

En conclusion, le TAPP semble être un des composants majeurs du microenvironnement du CaP mais les caractéristiques structurelles et fonctionnelles de ce tissu restent très mal connues. Son rôle dans la progression tumorale est amplifié en conditions d'obésité et chez les patients présentant un TAPP abondant. Mon travail de thèse a donc consisté en la rédaction d'une revue de synthèse sur les connaissances actuelles du rôle du TAPP dans le CaP puis en la description structurale et fonctionnelle du TAPP en comparaison à un TA contrôle, se comportant comme un TA sous cutané. Dans une deuxième partie, nous avons étudiés les caractéristiques biologiques et fonctionnelles du TAPP abondant pour comprendre comment ce tissu pourrait être impliquer dans la progression et l'évolution du CaP.

Review: PPAT a heavy player in prostate cancer progression 111.



Reviews

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Endocrine and Metabolic Research

Current Opinion in

Periprostatic adipose tissue: A heavy player in prostate cancer progression

David Estève¹, Mathieu Roumiguié^{1,2}, Cécile Manceau^{1,2}, Delphine Milhas¹ and Catherine Muller¹

Abstract

Prostate is surrounded by a specific fat depot called periprostatic adipose tissue (PPAT) that contributes through paracrine mechanisms to prostate cancer (PCa) progression. Like other white adipose tissues, PPAT stores lipids and is an endocrine organ. However, PPAT is still poorly characterized. Nevertheless, current evidence highlights that soluble factors secreted from PPAT might promote PCa aggressiveness and local dissemination. In addition, the ability of adipocytes to provide lipids to tumor cells participates in tumor aggressiveness. The secretory and metabolic profile of PPAT is modified by obesity, a state associated with greater occurrences of aggressive diseases. Beyond obesity, the excessive accumulation of PPAT, independently of the ponderal status of the patients, is an emerging risk factor in aggressive diseases. Characterization of the role of human PPAT on PCa progression will undoubtedly provide, in the near future, new therapeutic strategies and new risk stratification factors in PCa.

Addresses ¹ Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale (IPBS), Université de Toulouse, CNRS, UPS, 31077, Toulouse, France ² Département d'Urologie, CHU de Toulouse, IUCT-Oncopole 31059 Toulouse Cedex 9, France

Corresponding author: Muller, Catherine (muller@ipbs.fr)

Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research 2020, 10:29-35

This review comes from a themed issue on Prostate cancer Edited by Zoran Culig

For a complete overview see the Issue and the Editorial

Available online 19 February 2020

https://doi.org/10.1016/j.coemr.2020.02.007

2451-9650/@ 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords

Prostate cancer, Periprostatic adipose tissue, Obesity, Adipokines, Cytokines, Chemokines.

The periprostatic adipose tissue: a specific fat depot?

White adipose tissue (WAT), and its different cellular components, has recently emerged as key actors in solid tumor progression, including prostate cancer (PCa) [1called periprostatic adipose tissue (PPAT) and is located in the subperitoneal area and delimited by the anterior pubic symphysis, lateral obturator muscles and posterior rectoprostatic fascia [4] (see Figure 1). Vascularization of the prostate crosses PPAT and favors molecular exchanges between PPAT and cancer cells (see Figure 2). The prostate and adjacent PPAT are separated by a fibromuscular sheet of varying thickness, commonly called prostate fascia or "capsule", however, nearly onethird of the anterior surface of the glandular tissue is in direct contact with the PPAT [4] (Figure 2). Additionally, extraprostatic extension into PPAT is a major clinical negative prognosis factor [5]. It is therefore arguable, from these observations, that PPAT plays a role in PCa progression from prostate-confined tumors to locally disseminated cancers.

3]. The prostate gland is surrounded by a fat depot

Hitherto, very few data are available on the characterization of PPAT at tissue and cellular levels. WAT is specialized in storing energy and is an important endocrine organ which secretes many factors including hormones, cytokines, chemokines and growth factors, termed adipokines [6]. WAT is composed of the metabolically active adipocytes, stroma vascular cells including adipose progenitors (comprising adipose stem cells [ASC] and preadipocytes), immune and endothelial cells which orchestrate AT homeostasis [7]. Although WAT have common features, recent data pinpoint the specificity of each WAT in terms of morphology, metabolic and secretory properties, as shown for example with the differences between visceral adipose tissues (VAT) within the abdominal cavity and subcutaneous adipose tissues (SAT) [8]. While some consider PPAT as a VAT, despite that PPAT is not within the peritoneal cavity (see Figure 1), no extensive comparison between these two fat depots has been performed to date. A higher content of adipose derived stem cells in PPAT, as compared to paired VAT, has been reported, highlighting that differences do exist [9]. Results obtained by cocultivating PCa cells with WAT (or isolated components) from other sources than PPAT must be interpreted with caution because they do not take into account its potential metabolic and/or secretory specificity. In addition, isolated adipocytes are not viable for more than 16-24 h in 2D culture and are

Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research 2020, 10:29-35



Periprostatic adipose tissue surrounds the prostate. Sagittal and axial MRI sections of midbody part in men. The PPAT wraps the prostate (P). The upper and lower anatomical limits of PPAT are the bladder (B) and urethral sphincter (US), respectively. The forward and backward limits are the pubic symphysis (PS, blue dotted line) and Denonvilliers' fascia (DF, purple dotted line), respectively, and side limits are obturator muscles (OM, see axial sections). DF separates PPAT and rectum (R). SAT and VAT, respectively, are indicated to highlight the anatomical distance between these fat depots and the prostate. MRI, magnetic resonance imaging.

Figure 2

Figure 1





through the PPAT that could enhance the dialog between the tumor cells and PPAT. Scale bar = 500 µm.

only viable for longer times when embedded in 3D matrixes (for an extensive review on models see Ref. [10]. For feasibility reasons, the most common *in vitro* models used are the murine preadipocyte cell lines 3T3-L1 and 3T3-F442A cells that can be differentiated *in vitro* into adipocytes, although the differentiation remains "incomplete" [10]. Despite these limitations, we and others have observed that *in vitro*—differentiated 3T3-F442A adipocytes, cocultivated with

breast and PCa cells, mimic changes observed in adipocytes at the invasive front of tumors in breast and prostate cancers [11,12] underlining their interest as a "first-step model" in cancer studies. In mice, the prostate is not a single anatomical structure, but an organ comprised of four lobes located circumferentially around the urethra, situated inside the peritoneal cavity with the largest proximal WAT being the so-called "perigonadal fat" [13]. Following this description of PPAT

Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research 2020, 10:29-35

www.sciencedirect.com

Role of periprostatic fat in cancer progression Estève et al. 33

through metabolic remodeling [32,33]. Lipids could also be delivered to tumor cells by extracellular vesicles secreted by adipocytes [34]. The importance of lipid metabolism in PCa is supported by in vitro and in vivo data. Absence of identification of PCa by ¹⁸F-deoxyglucose positron emission tomography highlights that glucose is not for PCa, unlike other types of tumors, a dominant energetic substrate [35]. PCa exhibit increased lipogenesis as well as increased fatty acid (FA) uptake [36]. Inhibition of the FA transporter CD36 by blocking antibodies slows disease progression in PCa mouse and human preclinical models (organoids) [37]. PPAT could be a preeminent source of FA for cancer cells and in fact PCa cells are able to induce lipolysis in human mature adipocytes isolated from PPAT, this process being amplified in obesity [12]. The transferred FA contributes to increase oxidative stress in cancer cells which in turn promotes their invasive capacities [12]. The depicted signaling pathways involve NOX5, one isoform of the pro-oxidant NADPH oxidase enzyme, that leads to MMP14 expression via the production of reactive oxygen species. The expression of NOX5 and MMP14 is upregulated at the invasive front of human tumors where cancer cells are in close proximity to adipocytes, a characteristic amplified in obese patients, underlining the clinical relevance of these results [12]. In a genetically modified mice strain prone to develop PCa, adipocyte-specific inactivation of the signaling adaptor p62 decreased the use of nutrients essential to sustain adipogenesis in AT but activated energy utilization in PCa that favor tumorigenesis and metastases development [38]. This effect is mediated by an increase in osteopontin, a protein involved in inflammation and immune responses, released by adipocytes [38]. The increased expression of osteopontin by human PPAT upon PCa-CM treatment was reported earlier [15]. The impact of PPAT on PCa metabolism is clearly emerging as a major aspect of paracrine role of this adipose depot on PCa progression (see Figure 3) and offers new therapeutic opportunities.

Specific effect of adipose stromal cells

The stroma of PPAT is richer than VAT in ASCs characterized as CD31-/CD34+/CD45-/CD146+ cells [9]. This local enrichment in ASCs is also observed in PCa patients as compared to patients with BPH and contributes to increase ASCs in circulating blood [9]. PCa cells, through their ability to secrete CXCL1 and CXCL8, favor the homing of PPAT ASCs to tumors *in vivo* in a CXCR1/CXCR2-dependent manner [39]. The recruited ASCs stimulate tumor vascularization and growth, an effect that is positively regulated by obesity [39]. Further coculture experiments demonstrated that human ASC favored epithelial to mesenchymal transition, increased migration/invasion and chemoresistance in PCa cells [40]. Ablation of ASC decreased cisplatin resistance as well as local dissemination of PCa *in vivo* [40]. Therefore, convincing experimental evidences supports a role for ASC in PCa progression and provides new therapeutic strategies.

Another important cellular compartment of AT stroma is the immune cells. AT-infiltrated immune cells increase with obesity and are associated with the onset of chronic low-grade inflammation and profound dysregulation of AT homeostasis [41]. In obese patients, AT macrophages are found in specific structures called crown-like structures (CLS) surrounding dving adipocytes. In a large series of 169 patients, CLS were detected in half of the samples and associated with higher body mass index (BMI) and higher Gleason grade [42]. Interestingly, the relationship between PPAT inflammation and high Gleason grade remained significant after adjusting for BMI [42]. PPAT inflammation, as seen above for the secretion of proinflammatory cytokines, emerges as a key factor contributing to PCa progression not necessarily only in obese conditions. PPAT from patients with PCa exhibit an enriched expression of genes related to inflammation compared to the patients with BPH [24]. Unbiased characterization of PPAT transcriptome highlighted that among the genes differentially expressed in PPAT from patients with high-risk and lowrisk PCa, the genes involved in inflammation and/or immune responses predominated [43]. Inflammation may be downregulated by interventional strategies such as caloric restriction and treatment with the antidiabetic drug pioglitazone in mice [44,45].

Beyond obesity: abundant PPAT as a new factor contributing to the occurrence of aggressive PCa

Several modifications occur in PPAT with obesity that might amplify the deleterious crosstalk established between this fat depot and PCa, such as increased production, chemokine proinflammatory cytokine secretion and increased metabolic symbiosis (see Figure 3). As stated before, although obesity is associated with more frequent occurrences in the development of advanced and high-grade disease, the association between obesity and long-term oncologic outcome after radical treatments is still unclear [14]. Recently, a new factor contributing to PCa aggressiveness has emerged, the abundance of PPAT independent of BMI (for review see Ref. [46]). Conversely to other fat depots, several studies demonstrated that quantitative analysis of PPAT, measured on computerized tomography scan or magnetic resonance imaging, is not associated with ponderal status of the patients (for review see Ref. [46]). Although the measurement methods varied, consistent results show a link between the abundance of PPAT and parameters that define the aggressiveness of PCa such as Ash, D'Amico scores [47,48] or Gleason score on prostatectomy pieces [49,50]. All the studies only correlate

Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research 2020, 10:29-35

www.sciencedirect.com

chemoattractant protein 1), secreted by *in vitro*-differentiated adipocytes promoted the invasive capacities of PCa cell lines through the activation of metalloprotease 2 (MMP2) and by increasing CCR2 expression [30]. Thus, PPAT secrete several chemokines that play a proven role on *in vivo* prostate PCa dissemination. All the secretions emanated from PPAT and playing a role in PCa progression are depicted in Figure 3.

Figure 3

Tumor-surrounding adipocytes as lipid providers

Adipocytes are cells dedicated to storing and releasing lipids depending on energy demands, a process known as lipolysis [31]. In breast and ovarian cancers, cancer cells are able to induce lipolysis in tumor-surrounding adipocytes [32,33]. The liberated free fatty acids are taken up by tumor cells and promote tumor aggressiveness



Bidirectional crosstalk between PPAT and tumor cells promotes prostate cancer progression: a process amplified in obesity. PPAT is composed of different cell types including adipocytes, adipose stem cells and macrophages. These macrophages surround dying adipocytes and are organized in crown-like structures. Secretions emanating from PPAT (blue squares) are able to modify cancer cell behavior and promote tumor progression. The effect of some secretions (chemokines, proinflammatory cytokines) or the released lipids has been validated using coculture between human PPAT and cancer cells, animal models and/or human samples (solid arrows) while the effect of leptin and adiponectin has only been demonstrated *in vitro* (dotted arrows). Secretion levels of the factors upregulated in PPAT from obese patients are underlined with red squares. These secretions, chemoresistance and dysregulated metabolism (for lipids). Thus, the effect of PPAT on tumor progression is multifactorial and an extensive characterization of PPAT should allow the identification of new molecular mechanisms associated with PCa aggressiveness. Tumor cells are also able to modify the secretory profile of PPAT, which in tum enhanced PCa progression. This bidirectional dialog between PPAT and tumor cells creates a vicious circle leading to the promotion of aggressive PCa. IL6: interleukin 6; TNF*a*, tumor necrosis factor alpha; CCL7, C–C motif ligand chemokine 7; CXCL12, C–X–C motif ligand chemokine 12; MCP1, monocyte chemoattractant protein 1.

Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research 2020, 10:29-35

www.sciencedirect.com

and the cautions related to the models used in most studies, we will describe how PPAT affect PCa progression. When available we will discuss whether the described mechanisms are affected by obesity. Obesity, where the secretory and metabolic profiles of WAT are modified, is associated with greater occurrences of developing advanced and high-grade disease PCa; however, the link between obesity and long-term oncological outcomes after radical treatments is still unclear [14].

Role of PPAT secretions on PCa progression

As seen before, WAT is able to secrete a large panel of molecules susceptible to affect tumor behavior. Some of these molecules are secreted by mature adipocytes such as leptin and adiponectin, whereas others can be secreted by both mature adipocytes and adipose stromal cells [6]. We will next describe the impact of the secretions of the PPAT and underline, when possible, the cellular origin of such secretions. The PPAT secretory profile could be modified either by the proximity of the tumor, as exemplified by the use of tumor-conditioned media (CM) [15], or by the infiltration of cancer cells into the PPAT, in the case of coculture systems [12]. A recent study compared the secretome of PPAT from patients with benign prostate hypertrophy (BPH), nonaggressive or aggressive PCa. Several biological pathways such as locomotion, extracellular matrix and structural proteins, metabolism and energy pathways appeared differentially regulated according to the disease stage, suggesting profound differences in PPAT secretion during the onset of PCa [16]. However, the low number of proteins identified in patients with BPH or nonaggressive PCa does not allow exhaustive conclusions to be drawn from this study [16].

Leptin is one of the major adipokine involved in the control of body weight homeostasis through food intake and energy expenditure [6]. Leptin is elevated in obesity and has been implicated in cancer progression [1-3]. Leptin stimulates the proliferation of androgenindependent DU145 and PC-3 PCa cells [17,18] and the migration of PCa cell lines independently of their hormonal status [19]. Leptin secretion from in vitrodifferentiated 3T3L1 decreases natural killer cell cytotoxicity toward castration-resistant PCa cells through JAK-STAT3 pathway activation which in turn modulates levels of PD-L1 (programmed death-ligand 1)/NKG2D ligand [20]. Although these in vitro data suggest a link between leptin and PCa progression, epidemiologic studies fail to consistently demonstrate a positive association between PCa aggressiveness and leptin concentrations [21]. Since leptin is secreted by all adipose depots, it is important to determine the specific

implication of PPAT in its secretion and role. Although leptin is expressed by PPAT, its level of expression was not correlated to PCa aggressiveness in a series of 30 PPATs obtained from patients who underwent radical prostatectomy [22]. In contrast to leptin, adiponectin has largely antitumor effects in PCa, at least in vitro [23]. As for leptin, the link between adiponectin plasma levels, which decrease in obesity, and PCa outcomes remains controversial [23]. In the same series of 30 PPAT described above, the intensity of adiponectin expression was not associated with PCa aggressiveness [22]. The levels of adiponectin expression was decreased in PPAT exposed to PCa-CM [24] as well as in 3T3-differentiated adipocytes cocultivated with PCa cells [12]. Overall, although these two adipokines were expressed by PPAT and exert effects on PCa progression in vitro, larger studies are clearly needed to decipher their paracrine role in vivo.

More convincing results have been obtained for interleukin 6 (IL-6) whose role in PCa initiation, progression and prognosis is supported by several studies [25]. Finley et al. showed that PPAT might be a major source of IL-6 [26]. In fact, the presence of IL-6 in PPAT-CM was approximately 375 times greater than in patientmatched serum and levels correlated with pathological grade. This finding was further extended by cell signaling analysis of PPAT, which showed greater phosphorylation on STAT3 in high-grade tumors [26]. Similar findings were observed by Zhang et al. [22] whereby the intensity of IL-6 expression in PPAT was associated with PCa aggressiveness. Other proinflammatory cytokines such as tumor necrosis factor alpha are overexpressed by PPAT upon tumor secretion in vitro [15] and immunostaining of PPAT correlated with high-grade PCa in a series of 69 patients who underwent radical prostatectomy [27]. Whether these proinflammatory cytokines were secreted by adipose cells (progenitors or mature adipocytes) or infiltrating immune cells (see below) remain to be determined.

Among the broad kind of molecules secreted by adipose tissues, chemokines could exert a crucial role in the local dissemination of PCa. The C-C motif ligand 7 (CCL7) secreted by adipocytes from PPAT promoted the directed migration of CCR3-positive PCa cells in vitro and in vivo [28]. The CCL7-CCR3 axis contributes to extraprostatic extension of PCa and this pathway is amplified by obesity. In human PCa tumors, expression of the CCR3 receptor is associated with the occurrence of aggressive disease with extended local dissemination and a higher risk of biochemical recurrence [28]. In mice, stromal cells from PPAT secrete CXCL12 and this secretion, upregulated by obesity, activates invasiveness of PCa cells in a CXCR4/CXCR7-dependent manner [29]. CCL2, also named MCP1 (monocyte

PPAT to PCa aggressiveness but the mechanisms that explain the contribution of abundant PPAT to PCa progression remain unknown. Some recent studies suggest that PPAT accumulation might be controlled by androgens. Volume of PPAT is correlated to prostate size suggesting that the development of these two tissues is coordinated and under the control of sexual steroids [49]. Smaller PPAT volume was found in a group of patients treated with 5α reductase inhibitors compared to a control group [51]. Longitudinal studies will be necessary to confirm this result. Measure of circulating sexual steroids as well as androgens signaling within PPAT could contribute to explain why some patients accumulate an excess of PPAT. All these compelling results highlight that abundant PPAT is a new emerging factor in PCa aggressiveness that require further studies.

Future directions

Preventing progression to aggressive disease and establishing new risk stratification factors for low-risk and intermediate-risk diseases are major challenges in PCa. Emerging results suggest that the adipose microenvironment offers opportunities to resolve these issues. The role of chemokines and proinflammatory cytokines secreted by PPAT, as well as the ability of PPAT to deliver lipids to tumors, offers new and promising avenues with potential therapeutic consequences. Characterization of secretory and metabolic profiles of PPAT as compared to other adipose depots will be mandatory to gain insight into its role in PCa progression. Use of coculture systems using human PPAT (or isolated components) and validation of the results in series of human PPAT are present in too low number of studies to definitely state on the molecular pathway linked to the pathophysiological role of PPAT in PCa progression. Finally, characterizing the molecular mechanisms linking the excess of PPAT accumulation to PCa progression is probably one of the next major challenges faced in this area of research.

Conflict of interest statement

Nothing declared.

Acknowledgement

Research in our team on prostate cancer is supported by the French National Cancer Institute (INCA PL 2016-176), by the "Fondation Toulouse Cancer Santé" and by the Fondation ARC ("Association de Recherche contre le Cancer") Programmes labellisés 2016. David Estève is supported by a post-doctoral fellowship from the Fondation pour la Recherche Médicale (FRM-SPF201809007124). The authors would like to thank Charlotte Somes for English editing of the manuscript.

References

Papers of particular interest, published within the period of review, have been highlighted as:

- * of special interest ** of outstanding interest

- 1. Duong MN, et al.: The fat and the bad: mature adipocytes, key actors in tumor progression and resistance. Oncotarget 2017, 8:57622-57641.
- Lengyel E, et al.: Cancer as a matter of fat: the crosstalk be-2. tween adipose tissue and tumors. Trends Cancer 2018, 4: 374-384
- Park J, et al.: Obesity and cancer-mechanisms underlying tumour progression and recurrence. Nat Rev Endocrinol 2014, 3. 10:455 - 465
- Ishidova S. et al.: Novel anatomical findings of the prostatic 4. gland and the surrounding capsular structures in the normal prostate. Tohoku J Exp Med 2007, 212:55-62.
- Kapoor J, et al.: Extraprostatic extension into periprostatic fat 5. is a more important determinant of prostate cancer recurrence than an invasive phenotype. J Urol 2013, 190: 2061 - 2066.
- 6 Funcke JB, Scherer PE: Beyond adiponectin and leptin: adipose tissue-derived mediators of inter-organ communication. J Lipid Res 2019, 60:1648-1684.
- 7. Lynes MD, Tseng YH: Deciphering adipose tissue heteroge-neity. Ann N Y Acad Sci 2018, 1411:5–20.
- Kahn CR, Wang G, Lee KY: Altered adipose tissue and 8. adipocyte function in the pathogenesis of metabolic syn-drome. J Clin Invest 2019, 129:3990-4000.
- 9. Ribeiro R, et al.: Human periprostatic white adipose tissue is rich in stromal progenitor cells and a potential source of prostate tumor stroma. Exp Biol Med 2012, 237:1155-1162.
- 10. Lafontan M: Historical perspectives in fat cell biology: the fat cell as a model for the investigation of hormonal and meta-bolic pathways. *Am J Physiol Cell Physiol* 2012, 302: C327-C359.
- 11. Dirat B, et al.: Cancer-associated adipocytes exhibit an activated phenotype and contribute to breast cancer invasion. *Canc Res* 2011, 71:2455-2465.
- Laurent V, Toulet A, Attané C, Milhas D, Dauvillier S, Zaidi F, 12. Clement E, Cinato M, Le Gonidec S, Guérard A, Lehuédé C, Garandeau D, Nieto L, Renaud-Gabardos E, Prats AC, Valet P, Malavaud B, Muller C: Periprostatic adipose tissue favors prostate cancer cell invasion in an obesity- dependent manner: role of oxidative stress. Mol Canc Res 2019, 17: 821-835.

Laurent et al. showed that prostate cancer cells are able to induce lipolysis in human adipocytes isolated from PPAT, this process being amplified in obesity. For the first time, the authors revealed that the free fatty acids are taken up by cancer cells and contribute to increase oxidative stress, which in turn promotes their invasive capacities.

- 13. Oliveira DS, et al.: The mouse prostate: a basic anatomical and histological guideline. Bosn J Basic Med Sci 2016, 16: 8-13.
- 14. Bandini M, Gandaglia G, Briganti A: Obesity and prostate cancer. Curr Opin Urol 2017, 27:415–421.
- 15. Ribeiro RJ, et al.: Tumor cell-educated periprostatic adipose tissue acquires an aggressive cancer-promoting secretory profile. Cell Physiol Biochem 2012, 29:233–240.
- Sacca PA, et al.: Human periprostatic adipose tissue: secretome from patients with prostate cancer or benign prostate hyperplasia. CANCER GENOMICS PROTEOMICS 2019, 16: 29 - 58
- 17. Hoda MR, et al.: The adipocyte-derived hormone leptin has proliferative actions on androgen-resistant prostate cancer cells linking obesity to advanced stages of prostate cancer. J Oncol 2012, 2012:280386.
- 18. Onuma M. et al.: Prostate cancer cell-adipocyte interaction: leptin mediates androgen-independent prostate cancer cell proliferation through c-Jun NH2-terminal kinase. J Biol Chem 2003, 278:42660-42667.
- 19. Huang CY, et al.: Leptin increases motility and integrin upregulation in human prostate cancer cells. J Cell Physiol 2011, 226:1274-1282.

Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research 2020, 10:29-35

- Xu L, et al.: Adipocytes affect castration-resistant prostate cancer cells to develop the resistance to cytotoxic action of NK cells with alterations of PD-L1/NKG2D ligand levels in tumor cells. Prostate 2019, 78:353–364.
- 21. Allott EH, Masko EM, Freedland SJ: Obesity and prostate cancer: weighing the evidence. Eur Urol 2013, 63:800–809.
- Zhang Q, et al.: Influence of adipocytokines in periprostatic adipose tissue on prostate cancer aggressiveness. Cytokine 2016, 85:148–156.
- 23. Tumminia A, et al.: Adipose tissue, obesity and adiponectin: role in endocrine cancer risk. Int J Mol Sci 2019, 20.
- Ribeiro R, et al.: Obesity and prostate cancer: gene expression signature of human periprostatic adipose tissue. BMC Med 2012, 10:108.
- Quagliariello V, et al.: Metabolic syndrome, endocrine disruptors and prostate cancer associations: biochemical and pathophysiological evidences. Oncotarget 2017, 8: 30606–30616.
- Finley DS, et al.: Periprostatic adipose tissue as a modulator of prostate cancer aggressiveness. J Urol 2009, 182: 1621–1627.
- Dahran N, et al.: Periprostatic fat adipokine expression is correlated with prostate cancer aggressiveness in men undergoing radical prostatectomy for clinically localized disease. BJU Int 2019, 123:985–994.
- Laurent V: Periprostatic adipocytes act as a driving force for prostate cancer progression in obesity. Nat Commun 2016.
- Saha A, et al.: Proinflammatory CXCL12-CXCR4/CXCR7 signaling Axis drives myc-induced prostate cancer in obese mice. Canc Res 2017, 77:5158–5168.
- Ito Y, et al.: Adipocyte-derived monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) promotes prostate cancer progression through the induction of MMP-2 activity. Prostate 2015, 75:1009–1019.
- Lafontan M, Langin D: Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. Prog Lipid Res 2009, 48:275–297.
- Nieman KM, et al.: Adipocytes promote ovarian cancer metastasis and provide energy for rapid tumor growth. Nat Med 2011, 17:1498–1503.
- Wang YY, et al.: Mammary adipocytes stimulate breast cancer invasion through metabolic remodeling of tumor cells. JCI Insight 2017, 2, e87489.
- Lazar I, et al.: Adipocyte exosomes promote melanoma aggressiveness through fatty acid oxidation: a novel mechanism linking obesity and cancer. Canc Res 2016, 76: 4051–4057.
- Salminen E, et al.: Investigations with FDG-PET scanning in prostate cancer show limited value for clinical practice. Acta Oncol 2002, 41:425–429.
- 36. Wu X, et al.: Lipid metabolism in prostate cancer. Am J Clin Exp Urol 2014, 2:111–120.
- Watt MJ, et al.: Suppressing fatty acid uptake has therapeutic
 effects in preclinical models of prostate cancer. Sci Transl Med 2019, 11.

Watt et al. demonstrated that fatty acid (FA) uptake was increased in human prostate cancer and contribute to increase tumor mass. They

show that Inhibition of the FA transporter CD36 by blocking antibodies slows disease progression in prostate cancer mouse and human preclinical models highlighting the interest to block lipid uptake in this disease.

- Huang J, et al.: Adipocyte p62/SQSTM1 suppresses tumorigenesis through opposite regulations of metabolism in adipose tissue and tumor. Canc Cell 2018, 33:770–784 e6.
- Zhang T, et al.: CXCL1 mediates obesity-associated adipose stromal cell trafficking and function in the tumour microenvironment. Nat Commun 2016, 7:11674.
- 40. Su F, et al.: Adipose stromal cell targeting suppresses prostate cancer epithelial-mesenchymal transition and chemoresistance. Oncogene 2019, 38:1979–1988.

Su et al. pioneered the role of adipose stem cells (ASCs) in prostate cancer cell invasion and chemoresistance suggesting that targeting ASCs represents new therapeutic strategy to fight against prostate cancer aggressiveness.

- 41. Kane H, Lynch L: Innate immune control of adipose tissue homeostasis. *Trends Immunol* 2019, 40:857–872.
- Gucalp A, et al.: Periprostatic adipose inflammation is associated with high-grade prostate cancer. Prostate Cancer Prostatic Dis 2017, 20:418–423.

This work show the correlative link between Crown Like Structure (CLS) content, reflecting periprostatic adipose tissue inflammation (PPAT), and prostate cancer aggressiveness in a cohort of 169 men. This is one of the larger series highlighting the importance of PPAT inflammation in prostate cancer progression. Furthermore, the number of CLS is increased in obese patients.

- Mangiola S, et al.: Periprostatic fat tissue transcriptome reveals a signature diagnostic for high-risk prostate cancer. Endocr Relat Canc 2018, 25:569–581.
- Bhardwaj P, et al.: Supplemental estrogen and caloric restriction reduce obesity-induced periprostatic white adipose inflammation in mice. Carcinogenesis 2019, 40:914–923.
- Miyazawa M, et al.: Pioglitazone inhibits periprostatic white adipose tissue inflammation in obese mice. Canc Prev Res 2018, 11:215–226.
- Nassar ZD, et al.: Peri-prostatic adipose tissue: the metabolic microenvironment of prostate cancer. BJU Int 2018, 121 (Suppl 3):9-21.
- van Roermund JG, et al.: Periprostatic fat correlates with tumour aggressiveness in prostate cancer patients. BJU Int 2011, 107:1775–1779.
- Zhang Q, et al.: Periprostatic adiposity measured on magnetic resonance imaging correlates with prostate cancer aggressiveness. Urol J 2014, 11:1793–1799.
- Dahran N, et al.: Normalized periprostatic fat MRI measurements can predict prostate cancer aggressiveness in men undergoing radical prostatectomy for clinically localised disease. Sci Rep 2017, 7:4630.
- Woo S, et al.: Periprostatic fat thickness on MRI: correlation with Gleason score in prostate cancer. AJR Am J Roentgenol 2015, 204:W43–W47.
- Taussky D, et al.: Changes in periprostatic adipose tissue induced by 5 alpha-reductase inhibitors. Andrology 2017, 5: 511–515.

www.sciencedirect.com

Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research 2020, 10:29-35

IV. Resultats

A. Le tissu adipeux périprostatique présente un état d'hypoxie chronique qui limite ses capacités à s'expandre.

Des études récentes ont montré que dépôt graisseux entourant la glande prostatique, appelé tissu adipeux périprostatique (TAPP) est un constituant majeur du microenvironnement prostatique qui pourrait participer à la progression du CaP notamment en condition d'obésité (339, 353). Le TAPP est un dépôt adipeux original qui présente des spécificités par rapport aux autres TA blancs dont le TA viscéral : i/ son accumulation n'est pas dépendante de l'IMC (332), ii/il est localisé dans le pelvis en situation extrapéritonéale et au contact de la prostate séparé par un capsule fibromusculaire, iii/enfin, le TAPP sécrète de grandes quantités de cytokines pro-inflammatoires comme par exemple IL-6 et TNF (332, 360). Ainsi l'objectif de la première partie de mon travail de thèse était de définir les caractéristiques structurales et fonctionnelles du TAPP pour définir les mécanismes impliqués dans la progression du CaP

Pour cela, nous avons comparé les TAPP obtenus chez des patients traités par prostatectomie totale pour un CaP à un tissu adipeux contrôle abdomino-pelvien (APAT). Le volume des TA ont été mesurés sur les IRM prostatiques préopératoires permettant d'observer que l'accumulation du TAPP était indépendante de l'IMC contrairement au tissu contrôle (APAT) qui se comportait comme un TA sous-cutané. Après transparisation, nous avons montré par des approches de microscopie confocale (marquage anti-CD31) que le TAPP était moins vascularisé que l'APAT suggérant que ce tissu est hypoxique. La comparaison non supervisée des transcriptomes de TAPP et d'APAT a révélé que la plupart des gènes exprimés de manière différentielle étaient liés à la réponse à l'hypoxie. Des niveaux élevés du facteur inductible de l'hypoxie HIF-2 α ont confirmé la présence d'une réponse adaptative à l'hypoxie dans le TAPP. Cet état d'hypoxie chronique est associé à une réponse inflammatoire (recrutement de macrophages, sécrétion de cytokines pro-inflammatoires) et une augmentation des fibres de collagène (marquage au Trichrome Masson, dosage de l'hydroxyproline, microscopie 3D après marquage au rouge picrosirius) dans le TAPP par rapport à l'APAT. Si l'obésité favorise l'apparition d'une fibrose dans l'APAT, dans le TAPP cette fibrose est déjà présente chez les patients normo-pondéraux. Cette partie de notre travail montre que la vascularisation spécifique du TAPP entraine un état d'hypoxie chronique responsable d'une fibrose et d'une inflammation qui explique l'absence d'expansion du TAPP en obésité et susceptible de favoriser les pathologies prostatiques.

<u>Article</u>

Periprostatic adipose tissue displays a chronic hypoxic state that limits its expandability

Running title: Periprostatic fat displays hypoxia

Mathieu Roumiguié^{1,2#}, David Estève^{1#}, Cécile Manceau^{1,2}, Aurélie Toulet¹, Jérôme Gilleron³, Chloé Belles⁴, Yiyue Jia¹, Cynthia Houël¹, Sarah Pericart⁵, Sophie LeGonidec⁶, Philippe Valet⁶, Mireille Cormont³, Jean-François Tanti³, Bernard Malavaud², Anne Bouloumié⁴, Delphine Milhas¹, Catherine Muller¹

Equal Contribution

¹ Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale (IPBS), Université de Toulouse, CNRS, Toulouse, France. Équipe Labélisée Ligue Nationale contre le Cancer.

² Département d'Urologie, Institut Universitaire du Cancer, 31059 Toulouse Cedex 9, France.

³ Université Côte d'Azur, INSERM, C3M, Team "Cellular and Molecular Pathophysiology of Obesity", Nice, France.

⁴ Institut des Maladies Métaboliques et Cardiovasculaires (I2MC), Université de Toulouse, INSERM, UPS, Toulouse, France.

⁵ Département d'Anatomo-Pathologie, Institut Universitaire du Cancer, 31059 Toulouse Cedex 9, France. ⁶ Institut RESTORE, Université de Toulouse, CNRS U-5070, EFS, ENVT, INSERM U1301, Université Paul Sabatier, Toulouse, France.

Address correspondence to : Catherine Muller, IPBS CNRS UMR 5089, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse, France. Phone : 33.561.17.59.32; E-mail : muller@ipbs.fr or to : Delphine Milhas, IPBS CNRS UMR 5089, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse. Phone: 33-561-17-58-66, E-mail: delphine.milhas.fr

Conflict of interest: The authors have declared that no conflict of interest exists.

Fundings: This study was supported by the Ligue Nationale Contre le Cancer (Équipe labélisée), the French National Cancer Institute (INCA PL-BIO 2016-176 to PV, BM and CM), by the Fondation Toulouse Cancer Santé (to PV, BM and CM) and by the Fondation ARC (Association de Recherche contre le Cancer) Programmes labelisés 2016 (to PV, BM and CM). DE received a post-doctoral fellowship from the Fondation pour La Recherche Médicale (SPF201809007124).

Abstract

White adipose tissue accumulates at various sites throughout the body and some adipose tissue depots exist in close proximity to organs, whose function they could influence in a paracrine manner. Prostate gland is surrounded by a poorly characterized adipose depot called periprostatic adipose tissue (PPAT) playing emerging roles in prostate-related disorders. Unlike all other adipose depots, PPAT secretes pro-inflammatory cytokines even in lean individuals and does not increase in volume during obesity. These unique features remain unexplained due to the poor structural and functional characterization of this tissue. We characterized the structural organization of PPAT in patients in comparison to abdominopelvic adipose tissue (APAT), an extraperitoneal adipose depot whose accumulation is correlated to BMI. Confocal microscopy followed by 3D reconstructions showed a sparse vascular network in PPAT when compared with that in APAT, suggesting that this tissue is hypoxic. Unbiased comparisons of PPAT and APAT transcriptomes found that most differentially expressed genes were related to the hypoxia response. High levels of the hypoxia-inducible factor HIF-2 α confirmed the presence of an adaptive response to hypoxia in PPAT. This chronic hypoxic state was associated with inflammation and fibrosis, which were not further upregulated by obesity. This fibrosis and inflammation explain the failure of PPAT to expand in obesity and open new mechanistic avenues to explain its role in prostate-related disorders including cancer.

Keywords: Periprostatic adipose tissue; Prostate cancer; Hypoxia Inducible Factor; Extracellular Matrix; Inflammation

Introduction

In mammals, white adipose tissue (WAT) accumulates at various sites throughout the body. The most important and well-studied fat deposits occur in subcutaneous regions (SC-AT) and in the abdominal cavity surrounding key internal organs, such as the intestines, deposit named visceral adipose tissue (VAT)¹. WAT comprises metabolically active adipocytes and other cell types in the stroma vascular fraction including adipose progenitor cells, fibroblasts, mural, endothelial and immune cells, all of which are embedded in the extracellular matrix (ECM)¹. Studies of these two WAT have been mainly centered on their role in controlling energy homeostasis in response to systemic nutritional and metabolic needs and metabolic differences have been highlighted between these two fat depots ². In addition to these major adipose tissue (MAT), epicardial, perivascular and bone-marrow ATs ¹. These ATs are frequently closely associated with other anatomical structures and emerging evidences show that they play a paracrine role in proximal organ specific functions during pathological process such as regenerative or infectious disorders as well as cancers ^{1,3}. However, despite their growing importance, for most of them, their biology remains poorly described.

Periprostatic adipose tissue (PPAT) belongs to these specific adipose depots. PPAT surrounds the prostate gland and is separated from it by a fibromuscular sheet of varying thickness called the prostate "capsule"; nearly one third of the anterior surface of the glandular tissue, however, is in direct contact with the PPAT ⁴⁵. PPAT is often considered to be VAT although it is located in the pelvic region. Characterization of this tissue in any species remains poor but at least two characteristics of PPAT indicate that it is distinct from other WAT. First, it does not increase in volume even when other forms of WAT (including VAT) are present in excess in obesity ⁶. Second, PPAT secretes large amounts of pro-inflammatory cytokines such as IL-6 and TNF α ⁶⁻⁸. Whereas this chronic inflammatory state is usually observed in WAT of obese patients ⁹, in PPAT it is independent of the state of obesity of the individual ¹⁰⁻¹². PPAT has received increasing attention these last years since we and others have demonstrated that PPAT plays a paracrine role in prostate cancer (PCa) progression implicating soluble factors (such as pro-inflammatory cytokines, chemokines) as well as lipid mediators^{4,13,14}. Molecules released by PPAT could also impact normal prostate development and contractility and contribute to benign prostatic hyperplasia (BPH) and related symptoms as recently proposed ¹⁵. A better understanding of PPAT biology is mandatory to provide a foundation for further mechanistic inquiries on its paracrine role on prostate.

Accordingly, the initial goal of this study was to characterize the structural organization of PPAT in patients; by doing so, we have obtained new functional insights. We report here that PPAT has a sparse vascular network responsible for a chronic hypoxic state leading to inflammation, as well as fibrosis that is independent of obesity. These structural and functional characteristics explain the failure of PPAT to expand in obesity and open new mechanistic avenues to explain its role in prostate disorders including cancer.

Materials and Methods

Patients and fat measurements

Between September 2016 and March 2021, patients with localized PCa diagnosed by prostate biopsies who were opting for radical prostatectomy were recruited. We excluded from the study patients with metastatic PCa (as assessed by computerized tomography and/or bone scan), and patients who had received radiotherapy, hormonal or high intensity ultrasound treatment. As controls for the experiments to investigate the 3D vasculature (see below), PPAT samples were obtained from two patients undergoing radical cysto-prostatectomy for muscle-invasive bladder cancer and who lacked PCa according to the pathologist's report.

All the patients underwent pre-operative 1.5 T mpMRI after injection with 20 mg of butyl scopolamine (Buscopan; Boehringer-Ingelheim, Paris, France). Anatomic 3D fast spin echo T2-weighted MRI, functional diffusion-weighted MRI and dynamic contrast-enhanced MRI data were acquired. After anonymization of the mpMRI data, the Subcutaneous fat thickness (SFT) and the PPAT and APAT volumes were measured in 54 patients by using a semi-automated segmentation technique on contiguous 3 mm T2-weighted axial slices (except for SFT where one slice was used) and Olea Sphere[©] (Olea medical, La Ciotat, France) software. Baseline demographic characteristics (age and body mass index (BMI), disease specific parameters (Gleason score and histopathological stage of radical prostatectomy specimens) and mpMRI data were acquired from the medical records of the patients. The clinical characteristics of the cohort is presented in Supplemental Table S1. One observer, trained by a senior experienced radiologist and blind to the clinical and pathological data, carried out all segmentations and

measurements. The PPAT was segmented from the level of the prostate base to the apex (see Figure 1A) (mean 14 slices per patient). The following anatomical boundaries were used to define PPAT limits on each slice: pubic symphysis at the front, obturator muscles on the lateral sides and Denonvilliers fascia at the back. APAT was measured by segmenting the fat located above the pubic symphysis, in front of the bladder and behind the abdominal muscles and included between each spermatic cordon on the lateral sides (mean 3 slices per patient). SFT was determined by measuring the perpendicular distance between the skin and the anterior upper border of the symphysis pubis on a selected T2-weighted axial slice.

Tissue collection and tissue processing

Paired anterior PPAT and APAT from patients undergoing radical prostatectomy were removed and the samples were anonymized. Charred samples and those weighing < 300 mg were excluded from the study. Samples were immediately put in 50 ml tubes containing 10 ml of Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Thermofischer scientific, Courtaboeuf, France) and were transported to the research lab within 1 h, except for the western blotting experiments where the samples were immediately placed in 100 µl of RIPA lysis buffer containing phosphatases and proteases inhibitors (all from Sigma-Aldrich, St Quentin Fallavier, France) in the operating theatre. The samples were weighed and use for several preparations. For qPCR analysis and dosage of hydroxyproline content, paired PPAT and APAT were immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C for later use. For 3D microscopy and lobule size analysis, samples were either embedded in paraffin for measuring adipocyte size as previously described ¹⁶ and for Masson's Trichrome stain or were fixed with 4% paraformaldehyde solution at room temperature for 24 hours. Lobules were dissected as previously described ¹⁷. Some of the samples were also used to isolate the stroma vascular fraction after collagenase digestion (see below). Finally, samples were used to prepare PPATor APAT-conditioned medium as previously described ¹³. Briefly, 1 g of tissue was incubated overnight in 8 ml of DMEM supplemented with 1% BSA in a humidified incubator at 37°C and with 5% CO₂ and the medium was collected after filtration through a 0.2 µM filter. The conditioned media were immediately stored in small aliquots at -80°C.

RNA extraction and qRT-PCR

For RNA extraction, 100 mg of frozen tissue was mixed with 500 µl QIAzolTM lysis reagent (Qiagen, Hilden, Germany) and homogenized with a Precellys ® tissue homogenizer (2 cycles of 45 s at 7500 rpm at 4°C) using the Cryolys cooling system (Bertin Technologies, Montigny le Bretonneux, France). RNA were extracted using the Qiagen RNeasy mini kit and cDNA were reverse transcribed from 250 ng of purified RNA by using the ReverAid H Minus First Strand cDNA synthesis kit (Thermo Fisher Scientific) with hexamer random primers according to the supplier's recommendations (For further details, see supplemental methods). Gene expression was quantified by quantitative RT-qPCR with TaqMan primers (VEGFA: Hs00900055_m1, VEGFB: Hs00173634_m1, Thermo Fisher Scientific) and Fast Advanced TaqMan Master Mix (Thermo Fisher Scientific) with a CFX96 real time PCR system (Bio-Rad, Marnes la Coquette, France). Results were normalized to the amount of 18S rRNA.

RNA sequencing and data preprocessing

RNA-Seq libraries were generated from 400 ng of total RNA by using the TruSeq Stranded mRNA LT Sample Preparation Kit (Illumina, San Diego, CA), according to the manufacturer's instructions. The cDNA libraries were sequenced on an Illumina HiSeq 4000 system using single-read 50 bp following Illumina's recommendations. Preprocessed reads were mapped onto the *Homo sapiens* genome assembly hg38 by using STAR v2.5.3a ¹⁸. Gene expression was quantified from uniquely aligned reads by using HTSeq-Count (v0.6.1p1) with annotations from Ensembl (v91) and "union" mode2. Only unambiguously assigned reads were retained for further analyses (see supplemental methods for further details).

Normalized gene expression was log2 transformed and used to perform principal component analysis with the FactomineR package (v1.42) within R (v3.6). Statistical analysis of differentially expressed genes was performed with the Limma package (v3.40.2) Gene expression was considered significantly different if the p-value was < 0.05 and the log2 foldchange was > 2 or < -2. Pathway enrichment analysis was performed with GSEA software using the official gene symbols and 'hallmark' gene sets in the Molecular Signatures database (v7.3). Overlap between differentially expressed genes and curated gene sets or hallmark gene sets were computed. Heatmaps were made with Ward's hierarchical clustering method by using the gplots package (v3.0.1.1). Protein–protein interaction networks were created by using Cytoscape (v3.7.1) and ClueGo plugin.

Tridimensional vasculature imaging of adipose tissues

To study the tridimensional vasculature of adipose tissues, we used a clearing method suited to investigate the morphology of WAT by fluorescence imaging, which we described recently¹⁹. Briefly, the tissues were stained with anti-CD31–Alexa Fluor 647 antibody (Miltenyi Biotech, Paris France), DAPI (5 μ g/mL) and phalloidin–Alexa Fluor 488 (Invitrogen, Courtaboeuf, France). The 3D image stacks were acquired in a mosaic by using a Nikon-A1R confocal microscope equipped with a 20X long-distance air objective and analyzed with Imaris software (Bitplane, Gometz la Ville, France).

Hydroxyproline quantification

Fragments of adipose tissue of about 100 mg were weighed precisely and then placed in 500 µl deionized water in a Precellys® 2 mL Soft Tissue homogenizing Ceramic beads Kit (CK14) and extracted by using the Precellys® tissue homogenizer with 2 cycles of 45 s at 7500 rpm at room temperature. Samples were then centrifuged for 10 min at 5000 g at room temperature to remove lipids floating on the top layer by pipetting. Lipid-free supernatants were vortex mixed, 150 µl were mixed with an equal volume of 10 M NaOH and heated at 105°C for 1 h to fully digest collagens. The reaction was stopped by adding 150 µl of 10M HCl. Hydroxyproline was quantified in duplicate by using the Hydroxyproline Assay Kit (Perchlorate-Free; Biovison[™], Milpitas, CA) as recommended by the supplier and normalized to the precise tissue weight initially digested.

Masson's Trichrome stain, collagen staining with Picrosirius Red and 3D collagen fiber quantification

For Masson's Trichrome staining, adipose tissues were deparaffinized with xylene for 5 min, dehydrated in 100% alcohol for 5 min, and then rehydrated in running tap water for 5–10 min. The tissues were first stained in Mayer's hemalum solution for 20 min and washed in distilled water and in ammonia water each for 30 seconds. Then they were stained in Ponceau S solution for 1 min and washed in distilled water. They were differentiated in 1%

phosphomolybdic solution for 5 min, transferred to aniline blue solution and stained for a further 5 min. The tissues were rinsed briefly in distilled water and differentiated in 1% acetic acid solution for 4 min, then dehydrated rapidly through alcohol and cleared in xylene. For collagen staining with Picrosirius Red, fixed adipose tissues were incubated for 3 h in PicroSirius Red solution (1 g/l Sirius red in 1. 3 % picric acid). After two washes in acidified water followed by fixation/dehydration steps in 100 % ethanol, images were taken with a Zeiss LSM710 confocal microscope equipped with a 40x oil-immersion inverted objective with a numerical aperture of 1.3. The samples were excited at 560 nm and fluorescence emission was collected above 580 nm. Pinhole was setup at 0.7 Airy (ZEISS ZEN imaging software, Oberkochen, Germany) to increase resolution. 3D reconstructions and analyses of collagen fiber organization were performed with Imaris software and the Filament Tracer module. The data generated were normalized to the tissue volume obtained after tissue surface reconstruction with Imaris.

Western blotting

For western blotting, 100 mg samples of PPAT or APAT were immediately incubated with 100 µl of RIPA lysis buffer containing phosphatases and proteases inhibitors (from Sigma Aldrich) before transportation to the research lab. Proteins were extracted using the Precellys ® tissue homogenizer and Soft Tissue homogenizing Ceramic beads (CK14) with 2 cycles of 45 s at 7500 rpm at RT. The samples were then centrifuged 10 min at 10 000 g at room temperature to separate the lipids. The extract was recovered without the lipid layer and centrifuged again 10 min at 10 000 g at 4°C. In some experiments, proteins were extracted from the prostate cancer cell line PC3 before or after treatment with 200 µM cobalt chloride for 16 h, as previously described ¹⁴. Proteins in the extracts (40 µg for tissues and 20 µg for PC3 cells) were separated by electrophoresis on a 4-10% gradient SDS-PAGE gel (Bio-rad) and transferred to a nitrocellulose membrane. After incubation in blocking buffer containing 1X TBS (Tris 20 mM, NaCl 150 mM) and (5% skimmed milk, the membranes were incubated with primary antibodies in blocking buffer at 4°C overnight (anti-HIF-1 α (BD Biosciences, clone 54, 1/1000, Le Pont de Claix, France); anti-HIF-2α (Novus Biologicals, 1/400, Noyal Châtillon sur Seiche); anti-HIF-1*α* (BD Biosciences, clone 29, 1/1000); anti-GLUT-1 (Abcam, 1/1000, Cambridge, UK), anti- β -actin (Sigma-Aldrich, clone AC-15, 1/5000)).. The membranes were then washed with TBS containing 1% Tween and incubated with secondary antibodies conjugated to HRP (1:5000, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX). The immunoreactive protein bands were revealed by using the ECL Prime Western Blotting Detection Reagent (Amersham[™], Amersham, UK) and detected with a ChemiDoc Imaging System (Bio-rad). Densitometry quantification was performed using ImageJ software.

Isolation of adipose tissue stroma-vascular fraction

Digestion of fresh PPAT and APAT was performed as previously described ¹⁷. Briefly, adipose tissues were digested with 250 U/ml type I collagenase (Sigma-Aldrich) in PBS containing 2% BSA for 30 min at 37°C, with shaking. After digestion, the cell suspension was filtered through a 250 μ m strainer and centrifuged at 300 g for 10 minutes. Erythrocytes were lysed by incubation at room temperature in erythrocyte lysis buffer (155 mM NH₄Cl, 5.7 mM K2HPO4, 0.1 mM EDTA, pH 7.3) for 10 min followed by successive filtration through 100, 70, and 40 μ m strainers. The viable recovered cells were counted and analyzed by flow cytometry.

Flow cytometry analysis

In total, 100,000 cells were incubated for 30 min at 4 °C in PBS supplemented with 0.5% BSA and 2 mM EDTA containing one of the following fluorescently labeled antibodies against cellsurface markers CD45, CD206 and CD14: anti-human V510-CD45 (clone HI30, Biolegend, San Diego, CA); APC-CD206 (clone 19.2, BD Biosciences), PEVIO770-CD14 (clone TÜK4, Miltenyi Biotec, Paris France). As a control, an appropriate isotype -matched antibody was used. The labeled cells were washed with PBS and analyzed in a FACS Canto[™] II flow cytometer using Diva Pro software (BD Biosciences). Debris and dead cells were excluded based on low forward scatter and high side scatter. Doublets were excluded with forward scatter area over forward scatter width. Compensation and flow cytometer calibration was monitored with rainbow calibration particles (BD Biosciences) and single antibody staining.

ELISA assays

VEGF-A in the conditioned medium from APAT and PPAT samples was quantified by using an ELISA kit (DVE00, R&D Systems, Noyal Châtillon sur Seiche, France) according to the protocol provided by the manufacturer. Optical density was determined at 450 nm using a μ Quant microplate reader (Agilent - BioTek instruments, Les Ulis, France). A panel of secreted adipokines were quantified likewise with an ELISA kit (LXSAHM-08; R&D Systems) and a mixture of antibodies against Adiponectin/Acrp30, IL-6, IL-1 β , Leptin, PAI-1/ Serpin E1 and TNF α , according to the protocol provided by the manufacturer.

Statistics

Statistical analyses were performed by using GraphPad Prism (v5.04). The univariate relationship between fat measurement and BMI was performed by using Spearman's correlation. Frequency distribution was calculated for fat lobule size and the mean diameter of collagen fibers and two-way ANOVA was performed followed by the Bonferroni post-test. Comparisons between APAT and PPAT were performed using a paired t-test or Mann and Whitney's U test when data are not normally distributed. Comparisons between lean and obese patients were performed using Student's t-test. Normal distribution of the data was determined using the Kolgomorov-Smirnov test. P values < 0.05 (*), < 0.01 (**), and < 0.001 (***) were deemed as significant.

Study approval

The study was conducted in accordance with the guidelines and with the full approval of the national ethics committee (AC-2020-4031). Written informed consent was received from participants prior to inclusion in the study, which was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki Principles as revised in 2000.

Results

Differences between PPAT and APAT

To investigate how PPAT might differ from other adipose depots depending on the BMI of the individual, we examined a cohort of 54 patients awaiting prostatectomy for PCa by using preoperative multi-parametric magnetic resonance imaging (mpMRI) of PPAT, subcutaneous adipose tissue (SAT) and abdominopelvic adipose tissue (APAT; see Figure 1A). Subcutaneous fat thickness at the upper border of the pubic symphysis was used as an indicator of the accumulation of SAT ²⁰. The volume of the APAT, which is located in front of the bladder and behind the abdominal muscles (Figure 1A), was measured on contiguous axial slices. We chose this fat depot because, like PPAT, it is located in the extra-peritoneal area and can be removed easily during surgery for further biological comparisons. The volume of PPAT was measured on successive slices from the base to the apex of the prostate. Both APAT volume (Figure 1B) and SAT thickness (Figure 1C) correlated with BMI, consistent with a previous study ⁶. By contrast, PPAT volume was independent of BMI (Figure 1D), also in accord with several previous studies ⁶. These data confirm that PPAT differs from other adipose depots in its regulation by obesity and show that APAT can be used as a control tissue since it behaves like typical adipose tissue.

WAT comprises distinct lobules containing clusters of adipocytes separated from each other by fibrous septa ¹⁷. Upon dissection, the lobules in PPAT were smaller and more numerous than those in APAT (Figure 1E). The weight distribution of the lobules indicated a significantly larger proportion of small lobules (<20 mg) in PPAT when compared with those in APAT (Figure 1F) and the mean lobule weight in PPAT was smaller than in APAT (Figure 1G). Also, the adipocytes in PPAT were slightly smaller than those in APAT (Figure 1H-I). These findings indicate that the two adipose tissues differ in their organization, with smaller lobules in PPAT when compared to those in APAT.

The microvasculature of PPAT suggests a hypoxic state

To investigate the vasculature of PPAT and compare it with that of APAT, cleared tissues were immunostained with an antibody against the endothelial marker CD31 and visualized the stained tissue by 3D confocal imaging. In WAT, classically, each fat lobule in adipose tissue is

supplied by a vascular bundle of arterioles and venules, which, in turn, are subdivided into capillaries that surround individual fat cells²¹. At low magnification, the vascular network of PPAT appeared much less dense than that of APAT (Figure 2A, top panels) and this was more evident at higher magnification and upon 3D reconstruction of the vasculature (Figure 2A, middle and bottom panels). 3D reconstruction of the adipocytes and associated capillaries showed a generally less dense structure in PPAT with capillaries surrounding groups of adipocytes whereas in APAT capillaries tend to surround individual adipocytes (Figure 2A, bottom panels). This distinct organization could be seen also by analyzing representative focal planes from 3D images of APAT and PPAT (Figure 2B) stained with an antibody against CD31 to show endothelial cells (top) and with phalloidin (an actin stain) that delineated the adipocytes (middle). When these images were merged (bottom), in PPAT few adipocytes were seen to contact endothelial cells in contrast to APAT. Quantification of the vascular network after 3D reconstruction showed the total length of the vessel network was significantly smaller in PPAT than in APAT as was the number of branches (Figure 2C and 2D). Similar analyses of PPAT from patients without PCa also found a low-density vasculature in PPAT when compared with APAT (Supplemental Figure 1A). This vascular organization in PPAT suggests that this tissue might be hypoxic.

Transcriptomics reveals a hypoxic signature in PPAT that exhibits an increased expression of HIF-2 α

To study the biological consequences of the structure of PPAT, the transcriptomes of paired PPAT and APAT were sequenced. Unsupervised principal component analysis of the whole transcriptome datasets showed that the first dimension, which accounted for 63.5% of the dataset variance, separated samples according to their anatomical location whereas the second dimension, which accounted for 16.1% of dataset variance, discriminated between samples according to the identity of the patient (Figure 3A). These strong differences indicate the specific character of PPAT.

To investigate further the differences between PPAT and APAT, differential gene expression was evaluated using a linear modeling fitted for a small number of samples ²². Among the 3935 differentially expressed genes we identified, 1479 were upregulated in PPAT, of which 604 were strongly upregulated (i.e. adjusted p-value < 0.01 and fold change > 2), whereas 2456

were downregulated, of which 817 were strongly downregulated (Figure 3B). Those genes that were considered to be only mildly differentially expressed could discriminate between samples according to their anatomical location, albeit less well than those genes that were strongly differentially expressed (Supplemental Figure 2A–D). To identify key features and a molecular signature specific to PPAT, pathway analysis was performed on the differentially expressed genes by using the Molecular Signatures Database (www.gsea-msigdb.org). Most of the pathways associated with upregulated and downregulated genes were related to the hypoxia response (Figure 3C). A large set of genes that were downregulated are associated with metabolic pathways such as fatty acid metabolism, cholesterol homeostasis and oxidative phosphorylation; the latter was the most strongly downregulated pathway (Figure 3C). Adipogenesis, which is downregulated in hypoxic adipose tissue ²³, was among the pathways downregulated in PPAT when compared with APAT (Figure 3C; see Supplemental Figure 3A for the heatmap with a detailed list of genes). Among the upregulated pathways, the majority were associated with hypoxia (Figure 3C). Single-sample gene set enrichment analysis confirmed the upregulation of genes in the hypoxia pathway (Supplemental Figure 4A) and the positive correlation between hypoxia enrichment scores and other hallmarks upregulated in PPAT (Figure 3C and Supplemental Figure 4B). By contrast, pathways downregulated in PPAT correlated negatively with hypoxia hallmark enrichment scores (Figure 3C and Supplemental Figure 4B). In addition to upregulation of genes related to hypoxia (see Figure 3D for the heatmap with detailed list of genes), genes related to several signaling pathways that are known downstream effectors in hypoxia signaling, including the Beta-CATENIN and NOTCH signaling pathways ^{24–26}, were strongly upregulated in PPAT (Figure 3C). Also, genes related to the inflammatory response and the epithelial-to-mesenchymal transition (including ECM proteins), which are key hallmarks of the hypoxic microenvironment, were upregulated in PPAT (Figure 3C). Together, this unbiased comparison of PPAT and APAT transcriptomes reveals hypoxic traits in PPAT consistent with the low-density vasculature of this tissue.

The cell's response to hypoxia is mediated by two heterodimeric hypoxia-inducible factors (HIFs), which comprise an α subunit (HIF-1 α or HIF-2 α) whose expression is regulated by oxygen and an oxygen-insensitive β subunit ²⁷. Hypoxia prevents hydroxylation of the HIF α subunits by prolyl hydroxylases, thereby inhibiting their degradation and promoting HIF-dependent upregulation of genes involved in cell survival, angiogenesis, metabolism,

inflammation, the ECM and its remodeling ²⁷. In normoxic conditions, by contrast, degradation of the HIF α subunits occurs within minutes ²⁷.

If PPAT is indeed a hypoxic tissue, we might expect to find relatively high levels of HIFs in it. To test this prediction, HIF subunits were analyzed in samples of PPAT and APAT that were taken from patients and immediately incubated in lysis buffer in the operating theatre to avoid exposure of the tissue to ambient oxygen, and then rapidly transferred to the research laboratory for protein extraction. Immunoblotting of the protein extracts revealed more HIF- 2α in samples of PPAT than in paired APAT samples whereas HIF- 1α was undetectable in both tissues (Figure 3E). By contrast, similar amounts of the oxygen-insensitive β -subunit were found in the two tissues (Figure 3F). When the tissue samples were transferred from the operating theatre to research laboratory in culture medium, only the stable HIF- 1α subunit was detected by immunoblotting, indicating the importance of immediate lysis of the samples to detect the HIF α subunits (Supplemental Figure 5).

To investigate whether the large amount of HIF-2 α in PPAT was associated with an adaptive response to hypoxia the expression of target genes of HIF-2 α involved in metabolism and angiogenesis were investigated. By immunoblotting, there was significantly more of the glucose transporter protein GLUT-1, a HIF target gene product in adipocytes ²⁸, in PPAT than in APAT (Figure 3G). Likewise, as determined by RT-qPCR, there was more *VEGF-A* and *VEGF-B* mRNA in PPAT than in APAT (Figure 3H-I) and, as determined by ELISA, more secreted VEGF-A protein in the conditioned medium of PPAT than in that of APAT (Figure 3J). Thus, consistent with the hypoxic nature of PPAT, we find more HIF-2 α and its target gene products in this tissue than in the control APAT.

PPAT displays features of inflammation in lean patients

Accumulating evidence indicates that the chronic hypoxia observed in WAT from obese individuals leads to tissue inflammation, which is characterized by infiltration of immune cells including macrophages, increased secretion of pro-inflammatory cytokines and decreased secretion of the anti-inflammatory adipokine, adiponectin^{23,29}, and is tightly associated with interstitial fibrosis^{9,23}. The transcriptomics analysis of PPAT found a significant increase in expression of many genes involved in inflammation. The genes related to the inflammatory response hallmark overexpressed in PPAT were also present in the heatmap, which

discriminates PPAT from APAT (Figure 4A). To explore further the possibility that the hypoxic state of PPAT might be associated with chronic inflammation, we analyzed adipose tissue macrophages in the stroma vascular fractions of PPAT and APAT samples from 25 patients by using FACS. These macrophages are characterized by their expression of the common leukocyte antigen CD45 and the monocyte differentiation antigen CD14. In both PPAT and APAT, CD45⁺ CD14⁺ macrophages comprised two populations based on the mannose receptor CD206 expression with CD206+ macrophages, predominant in both ATs as resident macrophages with a remodeling phenotype ³⁰ and CD206- macrophages identified as pro-inflammatory recruited population. The proportion of the pro-inflammatory CD206macrophages was larger in PPAT than in APAT, whereas there was no significant difference in the proportions of CD206+ macrophages in the two tissues (Figure 4B). The mean concentration of adiponectin was significantly lower in the conditioned medium from PPAT than in that from APAT (Figure 4C) whereas that of leptin was not (Figure 4D). The mean concentrations of pro-inflammatory cytokines TNFa, IL-6 and IL-1β (Figure 4E–G) and plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 (Figure. 4H), whose expression in adipose tissues is upregulated by inflammation^{9,31}, were all higher in PPAT than in APAT. Thus, we conclude that PPAT exhibits hallmarks of chronic inflammation in accordance with its hypoxic state.

Increased amounts of ECM components in PPAT

Fibrosis is one of the hallmarks of adipose tissue hypoxia in obesity^{9,23}. Our transcriptomics study showed increased expression of many genes involved in ECM organization in PPAT, consistent with fibrosis. Genes encoding several collagen isoforms, including *COLIA2*, type VI and IV collagens, were more highly expressed in PPAT than in APAT (Figure 5A). Also, genes encoding certain markers of ECM-producing myofibroblasts ³², such as *SNAIL*, or regulators of myofibroblast activation, such as *INHBA* or *GREM1*, were highly expressed in PPAT (Figure 5A). Analysis of the protein–protein interaction network of the products of ECM-related genes that were differentially expressed in PPAT and APAT showed the likely importance of collagen-containing ECM assembly in the differences observed (Figure 5B).

To investigate collagen deposition in PPAT and APAT, sections of paraffin-embedded PPAT and paired APAT samples were stained with Masson's Trichrome, which stains blue the fibrillar collagens ³³. Whereas the staining of APAT showed sparse and thin collagen sheets, the staining of PPAT revealed large areas of staining and fibrotic bundles of various thickness running along the adipose tissue lobules (Figure 5C). Quantification of the staining indicated enhanced collagen deposition in PPAT when compared to APAT (Figure 5C). Together, these data indicate that the ECM is more extensive in PPAT than in APAT.

An obesity-like ECM phenotype in PPAT independent of BMI

We showed above that the volume of PPAT is independent of BMI in non-obese individuals, yet ECM gene expression and protein levels are higher in this tissue than in APAT, suggesting obesity-like fibrosis. We hypothesized that, in contrast to APAT, obesity would not further increase the fibrosis seen in PPAT. To investigate this hypothesis, the collagen networks were examined in PPAT and APAT tissues from lean and obese patients by using 3D confocal microscopy followed by reconstruction of the observed collagen fiber network. We saw no difference in this network in PPAT from lean and obese individuals whereas the network in APAT was substantially more dense in obese patients than it was in lean ones (Figure 6A). The collagen fiber network in PPAT from lean patients, however, was much denser than that in APAT. These conclusions were verified by quantifying the volume of collagen fibers seen in the 3D reconstructions (Figure 6B) and their diameters (Figure 6C) by using Imaris software. To confirm our finding that obesity has no influence on the collagen content in PPAT, we used a different approach based on quantification of hydroxyproline, a component of collagen that comprises around 13.5% of its amino acid composition ³⁴. Consistent with the analysis of the collagen fiber network, we found significantly more hydroxyproline in PPAT than in paired APAT from lean patients; whereas there was more hydroxyproline in APAT from obese patients than in the same tissue from lean patients, but no differences in PPAT from lean and obese patients. Together, these data confirm that there is more ECM in PPAT than in APAT from non-obese individuals, but the ECM of PPAT in lean and obese individuals resembles that of APAT in obese individuals irrespective of the BMI of the patients.

Discussion

In this study, the characterization of the structural organization of PPAT in humans was set out as a route to understanding more about its biology. Our findings reveal the distinctive tissue organization of PPAT and show, in particular, that it has a sparse vascular network. Consistent with this, PPAT exhibits hallmarks of chronic hypoxia including inflammation and a dense collagen network typical of fibrosis. These features may explain its failure to expand in obese individuals and its contribution to prostate-related disorders.

The present study of a cohort of 54 PCa patients showing that, unlike other adipose depots, the volume of PPAT is independent of BMI, confirms the observations of several previous studies, which used either computerized tomography or MRI to measure PPAT volume 6. The results in accordance with previous studies ⁶ reveal that albeit not correlated to BMI PPAT is able to accumulate at various levels since we observed variation in the PPAT volume from 23.77 cm3 to 90.72 cm3. Thus, the limited PPAT expandability with BMI is not due to anatomical constraints but rather by active biological processes. A large number of recent studies have demonstrated that there is a correlation with PPAT accumulation and PCa aggressiveness. Characterization of the mechanisms that drive PPAT development independently of BMI remains to be deciphered to explain the role of abundant PPAT in PCa progression. These studies will certainly benefit from the extensive characterization of the structural organization of PPAT presented here. In the present study APAT was used as a control tissue against which to compare PPAT because both adipose tissues are located in the extra-peritoneal area and can be removed easily during surgery. Here, we show that, like other WAT, the volume of APAT correlates with BMI, offering an appropriate control tissue for further studies of PPAT.

Human WAT is highly vascularized and its expansion in obesity depends on its well-defined vascular network structure with each adipocyte surrounded by one or more capillaries^{21,35}, as we observed in APAT. This close contact between cells and capillaries allows the circulation to provide the nutrients, oxygen, and soluble factors (hormones, growth factors, cytokines) required for tissue homeostasis ³⁵. By comparison, the vasculature of PPAT is less dense, with fewer capillaries surrounding groups of adipocytes. This atypical organization is most probably the physiological state of the normal PPAT rather than a consequence of its proximity to PCa because we saw a similar vascular organization in PPAT samples from patients devoid

of cancerous lesions in the prostate. Moreover, tumors generally stimulate angiogenesis ^{36,37}, so it is unlikely that the observed decrease in vascularity would be due to secretions from the nearby tumor. The physiological function of this atypical vascular organization is unclear, but may be related to its response to steroid hormones. One study reported that the volume of PPAT is reduced by 5α -reductase inhibitors ³⁸, which inhibit conversion of testosterone into dihydrotestosterone in the prostate gland and also decrease the volume of the prostate due to apoptosis of epithelial cells³⁹. Consistent with this idea, androgen- and estrogen-responsive genes are upregulated in PPAT when compared to those in APAT. Sex hormones influence the metabolism, endocrine functions and angiogenesis of certain other adipose tissues^{40,41}, so these findings raise the interesting possibility that they might also influence PPAT physiology and development, an avenue that deserves further investigation.

The unusual organization of the vasculature in PPAT led us to postulate that this tissue might be hypoxic. Unbiased comparison of PPAT and APAT transcriptomes indeed revealed a hypoxic signature in PPAT: most of the biological pathways relevant to hypoxia are differentially represented in the transcriptome of PPAT when compared with that of APAT. Moreover, there is a specific increase in expression of the oxygen-labile HIF- 2α , but not of HIF- 1α , in PPAT, indicating an adaptive response of this tissue to hypoxia. Both HIF- 1α and HIF- 2α form heterodimers with the constitutive HIF-1 β subunit to form the transcription factors HIF-1 and HIF-2, which both mediate the hypoxic response ²⁷. Although HIF-1 and HIF-2 have common target genes, such as VEGFA and GLUT1, they also have specific target genes, depending on the tissue, as well as differences in their temporal regulation⁴². These differences might explain why HIF-2 α , but not HIF-1 α , is overexpressed in PPAT and the consequences of its overexpression in this tissue. Indeed, in some systems HIF-1 α drives the initial response to hypoxia whereas chronic hypoxia involves HIF-2 α^{43-45} . In addition, HIF-2 is active under mild hypoxia (< 5% O₂) with a long lasting response whereas HIF-1 is most active during short periods of intense hypoxia or anoxia (< 0.1%)^{42,44}. This distinct temporal regulation might explain why HIF-2 overexpression occurs in PPAT, which is likely to exhibit chronic mild hypoxia. The importance of chronic HIF-2 α overexpression in adipose tissue inflammation is illustrated by mice with an adipose tissue-specific deletion of the gene encoding Von Hippel-Lindau (VHL) protein, which is required for degradation of both HIF-1 α and HIF-2 α by the proteasome²⁷. In these mice, chronic activation of HIFs causes adipose tissue inflammation characterized by overexpression of pro-inflammatory cytokines, such as IL-6 and TNF- α , and chemokines⁴⁵. Genetic deletion of HIF-2 α , but not HIF-1 α , abrogates this inflammation, demonstrating that this isoform is key to the inflammatory response of adipose tissue to chronic hypoxia⁴⁵. Consistent with the findings from the VHL gene knockout mice, we observed downregulation of the anti-inflammatory adipokine adiponectin²⁹ in PPAT and overexpression of the pro-inflammatory cytokines IL-6, TNF- α and IL1- β . Like inflammation, enhanced ECM deposition, or fibrosis, is a hallmark of the hypoxic response in adipose tissue^{46,47}. To our knowledge, the role specifically of HIF-2 α in the induction of fibrosis in hypoxic adipose has not been investigated, but studies have shown that HIF-2 can induce transcription of genes encoding ECM components leading to fibrosis in the liver⁴⁸ and lungs⁴⁹. The higher level of VEGF secretion by PPAT when compared to APAT might be expected to promote angiogenesis; apparently, however, it is not sufficient to counteract the hypoxic state of PPAT. This might be due to the lower level of adiponectin secreted by PPAT as well as the overexpression of PAI-1 when compared to APAT, which have been shown to inhibit new vessel formation and may counterbalance any VEGF-induced angiogenesis⁵⁰. A resulting suboptimal level of angiogenesis might be sufficient to limit the dysfunctional state of PPAT but not to resolve hypoxia.

In addition to explaining the high basal inflammatory state of PPAT, our findings also provide a likely explanation why PPAT does not expand in obesity: the extensive ECM and fibrosis we see in this tissue may prevent any expansion of PPAT in obese individuals. Previous studies of human and rodent adipose tissues shows that fibrosis alters the plasticity of the tissue and places a physical constraint on its expansion^{47,51}. We find that obesity causes no increase in ECM deposition in PPAT beyond that seen in the PPAT of lean individuals, but the ECM of PPAT resembles that of WAT in obesity. We propose that this obesity-like organization of the ECM in PPAT does not adapt to external signals, but provides an important physical constraint on PPAT expansion. A recent study demonstrated that obesity was not associated with adipocyte hypertrophy in PPAT ⁵², consistent with the idea that PPAT is in a state of maximum expandability in lean individuals. Moreover, we found that the genes related to adipogenesis are downregulated in PPAT as compared to APAT, which might also contribute to its failure to expand during obesity. The basal inflammatory state of PPAT might also contribute to the inability of this tissue to expand during obesity because inflammation of adipose tissue contributes to perpetuating fibrosis^{47,53}) and also interferes with adipocyte differentiation^{54,55}, which may explain the inhibition of adipogenesis.

The present study opens new mechanistic avenues to explain the role of PPAT in prostate disorders. First, the hallmarks of PPAT identified in this study might favor BPH and related lower urinary tract symptoms. In fact, chronic inflammation as well as fibrosis have been associated to this frequent disorder⁵⁶. The etiology of this chronic inflammation is probably multifactorial but our study highlights that PPAT needs to be considered as an important contributor of this process as also proposed by a recent review¹⁵. Regarding PCa, clinical studies have already established evidence of a link between PPAT inflammation, independent of obesity, and the occurrence of high grade PCa¹⁰⁻¹². There is accumulating evidence that proinflammatory cytokines contribute through multiple signal transduction pathways to PCa initiation and in established tumors to growth, survival, metastasis and resistance to therapy⁵⁷. Our study deciphers the mechanism by which PPAT is an important source of proinflammatory molecules that might promote PCa initiation and progression. The present work highlights that PPAT might also contribute to PCa progression through fibrosis. In fact, the large amounts of ECM in PPAT might directly affect tumor progression by increasing ECM stiffness, which in proximal mammary adipose tissue has been found to promote mammary tumor progression in vivo^{58,59}. In addition, these changes in ECM might promote tumor progression directly by ECM components functioning as signaling molecules. In breast cancer, for example, a bioactive fragment of adipocyte-derived COLVI, called endotrophin, contributes to tumor progression⁶⁰. The consequences of these biological features including the biomechanical specificities in the ECM of PPAT open a new avenue to explain the role of PPAT in prostate-related disorders that deserves further investigation. All the data reported here, and the remaining questions are summarized in Figure 7.
Author Contributions

Conducting experiments and acquiring data: MR, DE, CM, AT, JG, CB, YYJ, CH, SP, SL, DM; Analyzing data: MR, DE, CM, AT, JG, CB, YYJ, CH, SP, PV, MC, JFT, BM, AB, DM, CM ; Designing research studies: MR, DE, AT, JG, AB, DM and CM; Writing of the manuscript: MR, DE, DM, CM; Editing of the manuscript: AT, JG, PV, MC, JFT, BM, AB; Supervision of the study: DM and CM.

Acknowledgements

This work benefited from the Toulouse Réseau Imagerie (TRI)-RIO Optical Imaging Platform at the Institute of Pharmacology and Structural Biology (Genotoul, Toulouse, France). We acknowledge Life Science Editors for professional scientific editing during the preparation of the manuscript.

References

- Zwick RK, Guerrero-Juarez CF, Horsley V, Plikus M V.: Anatomical, Physiological, and Functional Diversity of Adipose Tissue. Cell Metab., Cell Press, 2018, pp. 68–83.
- Tchkonia T, Thomou T, Zhu Y, Karagiannides I, Pothoulakis C, Jensen MD, Kirkland JL: Mechanisms and metabolic implications of regional differences among fat depots. Cell Metab. 2013, pp. 644–656.
- Wang YY, Lehuédé C, Laurent V, Dirat B, Dauvillier S, Bochet L, Le Gonidec S, Escourrou G, Valet P, Muller C: Adipose tissue and breast epithelial cells: A dangerous dynamic duo in breast cancer. Cancer Lett., Elsevier Ireland Ltd, 2012, pp. 142–151.
- Estève D, Roumiguié M, Manceau C, Milhas D, Muller C: Periprostatic adipose tissue: A heavy player in prostate cancer progression. Curr. Opin. Endocr. Metab. Res., Elsevier Ltd, 2020, pp. 29–35.
- Ishidoya S, Endoh M, Nakagawa H, Saito S, Arai Y: Novel Anatomical Findings of the Prostatic Gland and the Surrounding Capsular Structures in the Normal Prostate. Tohoku J. Exp. Med. 2007.
- Nassar ZD, Aref AT, Miladinovic D, Mah CY, Raj G V., Hoy AJ, Butler LM: Peri-prostatic adipose tissue: the metabolic microenvironment of prostate cancer. BJU Int., Blackwell Publishing Ltd, 2018, pp. 9–21.
- Bandini M, Gandaglia G, Briganti A: Obesity and prostate cancer. Curr. Opin. Urol., Lippincott Williams and Wilkins, 2017, pp. 415–421.
- Gucalp A, Iyengar NM, Zhou XK, Giri DD, Falcone DJ, Wang H, Williams S, Krasne MD, Yaghnam I, Kunzel B, Morris PG, Jones LW, Pollak M, Laudone VP, Hudis CA, Scher HI, Scardino PT, Eastham JA, Dannenberg AJ: Periprostatic adipose inflammation is associated with high-grade prostate cancer. Prostate Cancer Prostatic Dis, Nature Publishing Group, 2017, 20:418– 423.

- 9. Kahn CR, Wang G, Lee KY: Altered adipose tissue and adipocyte function in the pathogenesis of metabolic syndrome. J. Clin. Invest., American Society for Clinical Investigation, 2019, pp. 3990–4000.
- Zhang Q, Sun L jiang, Yang Z gang, Zhang G ming, Huo R cha: Influence of adipocytokines in periprostatic adipose tissue on prostate cancer aggressiveness. Cytokine, Academic Press, 2016, 85:148–156.
- Finley DS, Calvert VS, Inokuchi J, Lau A, Narula N, Petricoin EF, Zaldivar F, Santos R, Tyson DR, Ornstein DK: Periprostatic Adipose Tissue as a Modulator of Prostate Cancer Aggressiveness. J Urol 2009, 182:1621–1627.
- 12. Dahran N, Szewczyk-Bieda M, Vinnicombe S, Fleming S, Nabi G: Periprostatic fat adipokine expression is correlated with prostate cancer aggressiveness in men undergoing radical prostatectomy for clinically localized disease. BJU Int, Blackwell Publishing Ltd, 2019, 123:985–994.
- Laurent V, Guérard A, Mazerolles C, Le Gonidec S, Toulet A, Nieto L, Zaidi F, Majed B, Garandeau D, Socrier Y, Golzio M, Cadoudal T, Chaoui K, Dray C, Monsarrat B, Schiltz O, Wang YY, Couderc B, Valet P, Malavaud B, Muller C: Periprostatic adipocytes act as a driving force for prostate cancer progression in obesity. Nat Commun, Nature Publishing Group, 2016, 7.
- 14. Laurent V, Toulet A, Attané C, Milhas D, Dauvillier S, Zaidi F, Clement E, Cinato M, Le Gonidec S, Guérard A, Lehuédé C, Garandeau D, Nieto L, Renaud-Gabardos E, Prats AC, Valet P, Malavaud B, Muller C: Periprostatic adipose tissue favors prostate cancer cell invasion in an obesity-dependent manner: Role of oxidative stress. Mol Cancer Res, American Association for Cancer Research Inc., 2019, 17:821–835.
- Passos GR, Ghezzi AC, Antunes E, de Oliveira MG, Mónica FZ: The Role of Periprostatic Adipose Tissue on Prostate Function in Vascular-Related Disorders. Front. Pharmacol., Frontiers Media S.A., 2021, .
- Vaysse C, Lomo J, Garred O, Fjeldheim F, Lofteroed T, Schlichting E, McTiernan A, Frydenberg H, Husoy A, Lundgren S, Fagerland MW,

Richardsen E, Wist EA, Muller C, Thune I: Inflammation of mammary adipose tissue occurs in overweight and obese patients exhibiting early-stage breast cancer. npj Breast Cancer, Nature Publishing Group, 2017, 3.

- Estève D, Boulet N, Belles C, Zakaroff-Girard A, Decaunes P, Briot A, Veeranagouda Y, Didier M, Remaury A, Guillemot JC, Ledoux S, Dani C, Bouloumié A, Galitzky J: Lobular architecture of human adipose tissue defines the niche and fate of progenitor cells. Nat Commun, Nature Publishing Group, 2019, 10.
- Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, Drenkow J, Zaleski C, Jha S, Batut P, Chaisson M, Gingeras TR: STAR: Ultrafast universal RNA-seq aligner. Bioinformatics 2013, 29:15–21.
- Gilleron J, Meziat C, Sulen A, Ivanov S, jager, Jennifer, Estève D, Muller C, Tanti J-F, Cormont M: Exploring Adipose Tissue Structure by Methylsalicylate Clearing and 3D Imaging. J Vis Exp 2020, 162.
- Wang H, Chen YE, Eitzman DT: Imaging body fat techniques and cardiometabolic implications. Arterioscler Thromb Vasc Biol, Lippincott Williams and Wilkins, 2014, 34:2217–2223.
- 21. Wassermann F: The development of adipose tissue-Compr Physiol Supplement15: Handbook of Physiology. 1965.
- 22. Ritchie ME, Phipson B, Wu D, Hu Y, Law CW, Shi W, Smyth GK: Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. Nucleic Acids Res, Oxford University Press, 2015, 43:e47.
- 23. Trayhurn P: Hypoxia and Adipose Tissue Function and Dysfunction in Obesity. Physiol Rev [Internet] 2013, 93:1–21. Available from: www.prv.org
- 24. Park YK, Park B, Lee S, Choi K, Moon Y, Park H: Hypoxia-inducible factor- 2α dependent hypoxic induction of Wnt10b expression in adipogenic cells. J Biol Chem 2013, 288:26311–26322.
- 25. Marignol L, Rivera-Figueroa K, Lynch T, Hollywood D: Hypoxia, notch signalling, and prostate cancer. Nat. Rev. Urol. 2013, pp. 405–413.

- 26. Skuli N, Majmundar AJ, Krock BL, Mesquita RC, Mathew LK, Quinn ZL, Runge A, Liu L, Kim MN, Liang J, Schenkel S, Yodh AG, Keith B, Simon MC: Endothelial HIF-2α regulates murine pathological angiogenesis and revascularization processes. J Clin Invest 2012, 122:1427–1443.
- 27. Lee P, Chandel NS, Simon MC: Cellular adaptation to hypoxia through hypoxia inducible factors and beyond. Nat. Rev. Mol. Cell Biol., Nature Research, 2020, pp. 268–283.
- Wood IS, Wang B, Lorente-Cebrián S, Trayhurn P: Hypoxia increases expression of selective facilitative glucose transporters (GLUT) and 2-deoxy-dglucose uptake in human adipocytes. Biochem Biophys Res Commun 2007, 361:468–473.
- 29. Ohashi K, Shibata R, Murohara T, Ouchi N: Role of anti-inflammatory adipokines in obesity-related diseases. Trends Endocrinol. Metab., Elsevier Inc., 2014, pp. 348–355.
- Bourlier V, Zakaroff-Girard A, Miranville A, De Barros S, Maumus M, Sengenes C, Galitzky J, Lafontan M, Karpe F, Frayn KN, Bouloumié A: Remodeling phenotype of human subcutaneous adipose tissue macrophages. Circulation 2008, 117:806–815.
- 31. Kaji H: Adipose tissue-derived plasminogen activator inhibitor-1 function and regulation. Compr Physiol, Wiley-Blackwell Publishing Ltd, 2016, 6:1873–1896.
- 32. Bourlier V, Sengenès C, Zakaroff-Girard A, Decaunes P, Wdziekonski B, Galitzky J, Villageois P, Esteve D, Chiotasso P, Dani C, Bouloumié A: TGFbeta family members are key mediators in the induction of myofibroblast phenotype of human adipose tissue progenitor cells by macrophages. PLoS One 2012, 7.
- 33. Halberg N, Khan T, Trujillo ME, Wernstedt-Asterholm I, Attie AD, Sherwani S,
 Wang Z V., Landskroner-Eiger S, Dineen S, Magalang UJ, Brekken RA, Scherer
 PE: Hypoxia-Inducible Factor 1α Induces Fibrosis and Insulin Resistance in
 White Adipose Tissue. Mol Cell Biol, American Society for Microbiology, 2009,

29:4467-4483.

- 34. NEUMAN RE, LOGAN MA: The determination of hydroxyproline. J Biol Chem, © 1950 ASBMB. Currently published by Elsevier Inc; originally published by American Society for Biochemistry and Molecular Biology., 1950, 184:299–306.
- Christiaens V, Lijnen HR: Angiogenesis and development of adipose tissue.
 Mol. Cell. Endocrinol. 2010, pp. 2–9.
- Judah Folkman: Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. N Engl J Med 197AD, :1182–1186.
- 37. Kerbel RS: Tumor Angiogenesis. N Engl J Med [Internet] 2008, 358:2039–2049.
 Available from: http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra0706596
- Taussky D, Barkati M, Campeau S, Zerouali K, Nadiri A, Saad F, Delouya G: Changes in periprostatic adipose tissue induced by 5α-reductase inhibitors. Andrology, Blackwell Publishing Ltd, 2017, 5:511–515.
- Bass R, Perry B, Langenstroer P, Thrasher JB, Dennis KL, Tawfik O, Holzbeierlein J: Effects of Short-Term Finasteride on Apoptotic Factors and Androgen Receptors in Prostate Cancer Cells. J Urol 2009, 181:615–620.
- 40. Karastergiou K, Smith SR, Greenberg AS, Fried SK: Sex differences in human adipose tissues The biology of pear shape. Biol. Sex Differ. 2012, .
- Volat F, Bouloumié A: Steroid hormones and the stroma-vascular cells of the adipose tissue. Horm Mol Biol Clin Investig, Walter de Gruyter GmbH, 2013, 15:5–10.
- 42. Koh MY, Powis G: Passing the baton: The HIF switch. Trends Biochem. Sci. 2012, pp. 364–372.
- 43. Koh MY, Lemos R, Liu X, Powis G: The hypoxia-associated factor switches cells from HIF-1α- to HIF-2α-dependent signaling promoting stem cell characteristics, aggressive tumor growth and invasion. Cancer Res 2011, 71:4015–4027.
- 44. Holmquist-Mengelbier L, Fredlund E, Löfstedt T, Noguera R, Navarro S,

Nilsson H, Pietras A, Vallon-Christersson J, Borg Å, Gradin K, Poellinger L, Påhlman S: Recruitment of HIF-1 α and HIF-2 α to common target genes is differentially regulated in neuroblastoma: HIF-2 α promotes an aggressive phenotype. Cancer Cell, Cell Press, 2006, 10:413–423.

- 45. Lin Q, Huang Y, Booth CJ, Haase VH, Johnson RS, Celeste Simon M, Giordano FJ, Yun Z: Activation of hypoxia-inducible factor-2 in adipocytes results in pathological cardiac hypertrophy. J Am Heart Assoc 2013, 2.
- Marcelin G, Silveira ALM, Martins LB, Ferreira AVM, Clément K: Deciphering the cellular interplays underlying obesityinduced adipose tissue fibrosis. J. Clin. Invest., American Society for Clinical Investigation, 2019, pp. 4032–4040.
- 47. Sun K, Tordjman J, Clément K, Scherer PE: Fibrosis and adipose tissue dysfunction. Cell Metab., Cell Press, 2013, pp. 470–477.
- Qu A, Taylor M, Xue X, Matsubara T, Metzger D, Chambon P, Gonzalez FJ,
 Shah YM: Hypoxia-inducible transcription factor 2*α* promotes steatohepatitis
 through augmenting lipid accumulation, inflammation, and fibrosis.
 Hepatology. 2011, pp. 472–483.
- Shimoda LA, Semenza GL: HIF and the lung: Role of hypoxia-inducible factors in pulmonary development and disease. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2011, pp. 152–156.
- Clair Crewe, Yu Aaron An PES: The ominous triad of adipose tissue dysfunction: inflammation, fibrosis, and impaired angiogenesis. J Clin Invest 2017, 7.
- 51. Khan T, Muise ES, Iyengar P, Wang Z V., Chandalia M, Abate N, Zhang BB, Bonaldo P, Chua S, Scherer PE: Metabolic Dysregulation and Adipose Tissue Fibrosis: Role of Collagen VI. Mol Cell Biol, American Society for Microbiology, 2009, 29:1575–1591.
- 52. Miladinovic D, Cusick T, Mahon KL, Haynes AM, Cortie CH, Meyer BJ, Stricker PD, Wittert GA, Butler LM, Horvath LG, Hoy AJ: Assessment of periprostatic and subcutaneous adipose tissue lipolysis and adipocyte size

from men with localized prostate cancer. Cancers (Basel), MDPI AG, 2020, 12.

- 53. Crewe C, An YA, Scherer PE: The ominous triad of adipose tissue dysfunction: Inflammation, fibrosis, and impaired angiogenesis. J. Clin. Invest., American Society for Clinical Investigation, 2017, pp. 74–82.
- 54. Estève D, Boulet N, Volat F, Zakaroff-Girard A, Ledoux S, Coupaye M, Decaunes P, Belles C, Gaits-Iacovoni F, Iacovoni JS, Rémaury A, Castel B, Ferrara P, Heymes C, Lafontan M, Bouloumié A, Galitzky J: Human white and brite adipogenesis is supported by msca1 and is impaired by immune cells. Stem Cells, Wiley-Blackwell, 2015, 33:1277–1291.
- 55. Hammarstedt A, Gogg S, Hedjazifar S, Nerstedt A, Smith U: Impaired adipogenesis and dysfunctional adipose tissue in human hypertrophic obesity. Physiol Rev 2018, 98:1911–1941.
- 56. Bushman WA, Jerde TJ: The role of prostate inflammation and fibrosis in lower urinary tract symptoms. Am J Physiol Ren Physiol [Internet] 2016, 311:817–821. Available from: http://www.ajprenal.org
- Archer M, Dogra N, Kyprianou N: Inflammation as a driver of prostate cancer metastasis and therapeutic resistance. Cancers (Basel)., MDPI AG, 2020, pp. 1– 24.
- 58. Iyengar P, Espina V, Williams TW, Lin Y, Berry D, Jelicks LA, Lee H, Temple K, Graves R, Pollard J, Chopra N, Russell RG, Sasisekharan R, Trock BJ, Lippman M, Calvert VS, Petricoin EF, Liotta L, Dadachova E, Pestell RG, Lisanti MP, Bonaldo P, Scherer PE: Adipocyte-derived collagen VI affects early mammary tumor progression in vivo, demonstrating a critical interaction in the tumor/stroma microenvironment. J Clin Invest, American Society for Clinical Investigation, 2005, 115:1163–1176.
- 59. Seo BR, Bhardwaj P, Choi S, Gonzalez J, Eguiluz RCA, Wang K, Mohanan S, Morris PG, Du B, Zhou XK, Vahdat LT, Verma A, Elemento O, Hudis CA, Williams RM, Gourdon D, Dannenberg AJ, Fischbach C: Obesity-dependent changes in interstitial ECM mechanics promote breast tumorigenesis. Sci

Transl Med, American Association for the Advancement of Science, 2015, 7.

60. Park J, Scherer PE: Adipocyte-derived endotrophin promotes malignant tumor progression. J Clin Invest 2012, 122:4243–4256.

Figure 1



Figure 1. The accumulation of PPAT is independent of BMI and its morphology **differs from APAT (A)** Sagittal (left panel) and axial (right panel) sections of the

midbody of a man as seen by T2-weighted MRI. The locations of PPAT, APAT and SAT. Dotted lines on sagittal section indicate the position of axial sections represented. P: Prostate **(B–D)** Correlations between the BMI of each patient and APAT volume (n=54) **(B)**, SAT thickness (n=40), and **(C)** PPAT volume (n=56) **(D)**. **(E)** Representative images of the size of the lobules obtained after dissection of the indicated amounts of APAT and PPAT (scale in cm). **(F)** Lobule weight distribution in paired PPAT and APAT samples (n= 10). **(G)** Mean lobule weight in paired APAT and PPAT samples (n=10). **(H)** Representative images of HE stained, paraffin-embedded APAT and PPAT tissue sections. Scale bars, 500 µm. **(I)** Mean diameter of adipocytes in paired APAT and PPAT tissue sections as in **(H)** (n=18). Correlation coefficients and p-values were calculated by using Spearman's correlation. Bars indicate mean ± SEM; statistical significance was determined by two-way ANOVA followed by Bonferoni post-test, **** p<0.0001 (F), and by paired Student's t-test *p < 0.05, **p < 0.01 (G and I).



Figure 2. The microvasculature of PPAT suggests a hypoxic state. (A) Representative z stack confocal images of cleared PPAT and APAT stained with anti-CD31 showing the capillary networks (upper panels: scale bars, 300 µm). The zones indicated by the dotted squares are shown in higher magnification (ZOOM) in the images below (scale bars, 50 µm). 3D reconstructions of the microvasculature (gray) and adipocytes (randomly color coded to identify each adipocyte) were made using Imaris software. **(B)** A representative single focal plane (thickness 8 µm) extracted from 3D confocal images of paired APAT and PPAT samples stained with anti-CD31 (magenta, upper panel), phalloidin (green, middle panel) and the merge images (lower panel; scale bars, 50 µm. **(C and D).** Quantification after 3D reconstruction of the total length of the vessels **(C)** and the number of branches **(D)** in APAT (n=7) and PPAT (n=5). Bars represent means ± SEM; statistical significance was determined by paired Student's t-test, *p < 0.05, **p < 0.01.



Figure 3. Transcriptomics reveals a hypoxic signature in PPAT associated with an increased expression of HIF-2α. (A) Principal component analysis performed on the

whole transcriptomics dataset. Ellipses represented the confidence interval for the PPAT group and the APAT (n=3 per group, Upper panel). Volcano plot representing the average log2 fold change (PPAT/APAT) versus -log10 p-value (n=3 per group, lower panel). Vertical dotted lines indicate the limits for genes that are 2-fold over or under represented (i.e. log2 fold-change above 1 or below -1 respectively). Horizontal dotted line indicated genes that reach the cut off p-value (p < 0.05). Dark blue dots show highly under-represented (i.e. strong downregulation) genes (i.e. adjusted p value < 0.01 and log2 fold change < -1). Light blue dots show mildly under-represented (i.e. mild downregulation) genes (i.e. p value < 0.05 and log2 fold change < -1). Dark red dots show highly over-represented (i.e. strong upregulation) genes (i.e. adjusted p value < 0.01 and log2 fold change > 1). Light red dots show mildly over-represented (i.e. mild upregulation) genes (i.e. p value < 0.05 and log2 fold change > 1). (B) Balloon plots representing the pathways enriched in each gene category according to the hallmark collection in the Molecular Signatures database. The size of each balloon is setup according to the percentage of genes belonging to each pathway enriched and the color according to -log10 of the q-value. Relationship between hypoxia hallmark and other enriched hallmarks was evaluated as Pearson correlation of enrichment score determined with the Single-sample Gene Set Enrichment Analysis algorithm. (C) Heatmap and hierarchical clustering of sample based on upregulated genes belonging to the hypoxia hallmark (n=6). (D) Representative western blots of HIF-1 α , HIF-2 α and β-actin in paired samples of PPAT and APAT (upper panel) and quantification of HIF- 2α (n=4) (lower panel). (E) Representative western blots of HIF-1 β and β -actin in paired samples of PPAT and APAT (upper panel) and quantification (n=8) (lower panel). (F) Representative western blots of GLUT-1 and β -actin in paired samples of PPAT and APAT (upper panel) and quantification (n=8) (lower panel). In (D-F), PC-3 cells treated or not with CoCl₂ were used as controls. (G, H) VEGF-A (G) and VEGF-B (H) mRNA expression were determined by RT-qPCR in paired samples of PPAT and APAT (n= 6). (I) Secreted VEGF-A was measured by ELISA in conditioned media from paired

samples of PPAT and APAT (n=19). Bars indicate means ± SEM. Statistical significance was determined by Student's t-test: *p < 0.05; ** p < 0.001; ns, not significant.



Figure 4. PPAT displays features of inflammation in lean patients. (A) Heatmap and hierarchical clustering of PPAT and APAT samples based on upregulated genes belonging to the inflammatory response hallmark (n=6). **(B)** Quantification of resident macrophages (CD206+) and recruited monocytes (CD206-) in the CD45+/CD14+ population in the stroma vascular fractions of paired PPAT and APAT samples (n=25). (C– H) Adiponectin/Acrp30 (n=10) **(C)**, leptin (n=10) **(D)**, TNF-*α* (n=10) **(E)**, IL-6 (n=8) **(F)**, IL-1β (n=10) **(G)** and PAI-1 (n=10) **(H)** in conditioned media from paired PPAT and APAT samples were quantified by ELISA. Bars indicate means ± SEM. Statistical significance was determined by Mann and Whitney's U test (B), *p < 0.05, and paired Student's t-test (C–H), * p<0.05;





Figure 5. Increased amounts of ECM components in PPAT from lean patients. (A) Heatmap and hierarchical clustering of PPAT and APAT samples based on upregulated genes belonging to the EMT hallmark (n=6). (B) Protein–protein interaction network showing the relationship of genes upregulated in the EMT to the biological processes as indicated by gene ontology analysis. Clear circles indicate genes and brown circles indicate biological processes. Edges indicate interactions with

a confidence score above 0.7 (C) Representative images of paraffin-embedded tissue sections of paired APAT and PPAT samples after Masson's Trichrome stain (left panels; scale bars, 100 μ m). The zones indicated by the dotted squares are shown in higher magnification (ZOOM; right panels; scale bars, 100 μ m). Quantification of staining (right panel) was performed on whole tissue sections (n=19). Statistical significance was determined by Student's t-test, * p<0.05

Figure 6



Figure 6. An obesity-like ECM phenotype in PPAT independent of BMI. (A) Representative 3D confocal images of Picrosirius Red staining (left panel) and 3D reconstruction of collagen fibers (right panel) in paired APAT and PPAT samples from lean (mean BMI = $24.5 \pm 0.6 \text{ kg/m}^2$, mean age = 65.4 ± 2.2 years) and obese (mean BMI = $32.4 \pm 1.2 \text{ kg/m}^2$, mean age = 66.2 ± 2.2 years) patients. Reconstructed collagen fibers are color-coded according to their mean diameter as shown below. Scale bars, 50μ m. (B) Quantification of collagen fiber volume in Picrosirius Red-stained paired APAT and PPAT samples from lean (n=6) and obese patients (n=6). (C) Distribution of the number of collagen segments according to their diameter measured after 3D

reconstruction in paired APAT and PPAT samples from lean (n=6) and obese patients (n=6). Two-way ANOVA analysis retrieved p<0.001. **(D)** Hydroxyproline concentrations in paired APAT and PPAT samples from lean (n=9) and obese patients (n=10). Bars indicate means \pm SEM. Statistical significance was determined by Student's t-test, * p < 0.05; ns, not significant.





Figure 7. The chronic hypoxic state of PPAT limits its expansion in obesity and favors tumor progression. PPAT has an atypical vascular organization when compared to other adipose tissues, with a sparse vascular network surrounding clusters of adipocytes rather than individual cells. In our working model, this contributes to a chronic hypoxic state leading to the overexpression of HIF-2 α . In accord with its hypoxic state, PPAT exhibits hallmarks of chronic inflammation such as the presence of pro-inflammatory macrophages, increased secretion of pro-

inflammatory cytokines and decreased secretion of the anti-inflammatory adipokine, adiponectin. Also, PPAT has more ECM and, specifically, more collagen, another hallmark of hypoxia. This chronic hypoxic state in PPAT probably limits its expansion in obese individuals and results in features known to favor prostate-related disorders.

		Mean (range)	
Age (years) median QR		64.1 (59.1–66.7)	
BMI (kg/m2) median QR		27.41 (24.9–30.3)	
Prostate volume (cc) median QR		39.1 (36.2–58.5)	
PPAT volume (cc) median QR		44.6 (34.8–55.9)	
APAT volume (cc) median QR		4.9 (3.4–6.0)	
SAT thickness (mm) median QR		27.4 (21.3–35.0)	
PSA (ng/ml) median QR		7.8 (5.8–8.9)	
Gleason Score (ISUP Grade group) on radical specimen, n (%)	6 (3+3) [1]	4 (7.4)	
	7 (3+4) [2]	32 (59.3)	
	7 (4+3) [3]	15 (27.8)	
	>7 (4+3) [3]	3 (5.5)	
pT stage, n (%)	pT2	27 (50)	
	pT3	27 (50)	

Supplemental Table S1

Supplemental Table Legend S1: Clinical characteristics of the patient cohort used for pre-operative mpMRI (n=54). QR, quartile range; PSA, prostatic specific antigen; pT, pathological stage according to the TNM classification.

Supplemental Figure



Supplemental Figure 1. PPAT has a similar microvascular organization in patients with and without prostate cancer. Representative z stack images of anti-CD31 staining (upper panels) of cleared PPAT and APAT from patients with and without prostate cancer, and 3D reconstruction of the microvasculature with Imaris software (lower panel). Scale bars 50 μ m



Supplemental Figure 2. Genes that are mildly differentially expressed also discriminate PPAT from APAT. Heatmaps and hierarchical clustering of APAT and PPAT samples based on expression of genes that are strongly under-represented **(A)**, mildly under-represented **(B)**, mildly over-represented **(C)** and strongly over-represented **(D)** in PPAT (n=3) when compared with paired APAT (n=3). All heatmaps are color coded with the same scale to allow cross comparison between heatmaps (n=6).



Supplemental Figure 3. Adipogenesis pathway genes are down-regulated in PPAT. Heatmap and hierarchical clustering of paired APAT and PPAT samples based on upregulated genes belonging to adipogenesis hallmark (n=6).



Supplemental Figure 4. Single-sample gene set enrichment analysis confirms upregulation of the hypoxia pathway in PPAT. (A) Heatmap and hierarchical clustering of paired APAT and PPAT samples based on differentially represented pathways retrieved by using the Single-sample Gene Set Enrichment Analysis algorithm (n=6). Statistically significant differences were computed by using the linear model. (B) Correlation plot of enrichment scores obtained with single sample gene set enrichement analysis for the pathways from hallmark collection in Molecular Signature database enriched in trancriptomics dataset. The color indicates the value of

Pearson's coefficient. White squares indicate no significant correlation between hallmarks.



Supplemental Figure 5. HIF-1 α and HIF-2 α are not detected when adipose tissue samples are not lysed in the operating theatre. Representative western blots of HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-1 β and β -actin in paired PPAT and APAT samples when they were transferred from the operating theatre to the laboratory in DMEM before lysis.

Supplemental Methods

RNA extraction and qRT-PCR

For RNA extraction, 100 mg of frozen tissue was mixed with 500 µl QIAzolTM lysis reagent (Qiagen) and homogenized with a Precellys ® tissue homogenizer (2 cycles of 45 s at 7500 rpm at 4°C) using the Cryolys cooling system. The tissue homogenates were centrifuged for 1 min at 5000 g at room temperature. The lipid-containing surface layer was then removed and 350µl of chloroform was added. The organic and aqueous phases were separated by centrifugation (10 min at 5000 g at room temperature). The upper phase, containing RNA, was recovered and mixed with ethanol for RNA extraction using the Qiagen RNeasy mini kit as described by the manufacturer. The RNA concentration was determined with a Nanodrop 2000 spectrophotometer at a wavelength of 260nm. cDNA were reverse transcribed from 250 ng of purified RNA by using the ReverAid H Minus First Strand cDNA synthesis kit (Thermo Fisher Scientific) with hexamer random primers according to the supplier's recommendations. Gene expression was quantified by quantitative RT-qPCR on 6.25 ng of cDNA with TaqMan primers (VEGFA: Hs00900055_m1, VEGFB: Hs00173634_m1, Thermo Fisher Scientific) and Fast Advanced TaqMan Master Mix (Thermo Fisher Scientific) in a final volume of 20 µl with a CFX96real time PCR system (Bio-Rad). Results were normalized to the amount of 18S rRNA.

RNA sequencing and data preprocessing

RNA-Seq libraries were generated from 400 ng of total RNA by using the TruSeq Stranded mRNA LT Sample Preparation Kit (Illumina, San Diego, CA), according to the manufacturer's instructions. Briefly, following purification with poly-T oligo-attached magnetic beads, the mRNA was fragmented by using divalent cations at 94°C for 2 min. The cleaved RNA fragments were copied into first strand cDNA by using reverse transcriptase and random primers. Strand specificity was achieved by replacing dTTP with dUTP during second strand cDNA synthesis using DNA

Polymerase I and RNase H. Following addition of a single 'A' base and subsequent ligation of the adapter on double-stranded cDNA fragments, the products were purified and enriched by PCR (30 sec at 98°C; [10 sec at 98°C, 30 sec at 60°C, 30 sec at 72°C] x 12 cycles; 5 min at 72°C) to create a cDNA library. Surplus PCR primers were further removed by purifying the cDNA on AMPure XP beads (Beckman-Coulter) and the final cDNA libraries were checked for quality and quantified by capillary electrophoresis. The cDNA libraries were sequenced on an Illumina HiSeq 4000 system using single-read 50 bp following Illumina's recommendations. Reads were preprocessed with Cutadapt (v1.10) to remove adapter and low quantity sequences; reads shorter than 40 bases were discarded. Reads were mapped to rRNA and spike sequences with Bowtie (v2.2.8) and these mapped sequences were removed for further analysis.

For mapping and quantification, preprocessed reads were mapped onto the Homo sapiens genome assembly hg38 by using STAR v2.5.3a (60). Read coverage per gene was computed in all samples by using RSeQC (v2.6.4). The uniformity of coverage for each transcript, which reflects RNA integrity, was evaluated as the median of transcript integrity numbers computed across all transcripts with at least 10 mapped reads (61). Gene expression was quantified from uniquely aligned reads by using HTSeq-Count (v0.6.1p1) with annotations from Ensembl (v91) and "union" mode2. Only unambiguously assigned reads were retained for further analyses.

For each sequenced gene, expression data were normalized across sample and divided by the median of the transcript length in kb by using DESeq2 (v1.16.1). Normalized gene expression above 20 detected at least in all sample from one location was considered to be robustly detected and was used for further analyses. Normalized gene expression was log2 transformed and used to perform principal component analysis with the FactomineR package (v1.42) within R (v3.6). Statistical analysis of differentially expressed genes was performed with the Limma package (v3.40.2) in which a linear model was fitted using a two-group (PPAT and APAT) design matrix followed by empirical Bayes moderation (see Supplemental Table S2). Gene expression was considered significantly different if the p-value was < 0.05 and the log2 fold-change was > 2 or < -2. Pathway enrichment analysis was performed with GSEA software using the official gene symbols and 'hallmark' gene sets in the Molecular Signatures database (v7.3). Overlap between differentially expressed genes and curated gene sets or hallmark gene sets were computed. Heatmaps were made with Ward's hierarchical clustering method by using the gplots package (v3.0.1.1). Protein-protein interaction networks were created by using Cytoscape (v3.7.1) and ClueGo plugin.

Tridimensional Vasculature Imaging of AT

To study the tridimensional vasculature of PPAT from patients with and without cancer, a clearing method suited to explore the morphology of WAT by fluorescent imaging, that we recently described23, was used. Briefly, paraformaldehyde fixed AT samples were permeabilized in a PBS containing 0.2 % Triton X-100 and 20 % DMSO replaced by a PBS solution containing 0.1% Tween-20, 0.1% Triton X-100, 0.1% deoxycholate and 20% DMSO at 37°C for several days. Then, tissues were incubated with the saturation solution supplemented with anti-CD31-Alexa647 antibody (dilution 1/50), DAPI (5µg /mL) and phalloidin-alexa488 (dilution 1/100) for at least two days at 37°C. Finally, the tissues were washed in saturation solution for 2 days at 37°C, dehydrated with ethanol (50-70-80-90-100%) ascending baths and then incubated with methylsalicylate for at least 2 hours at RT. Clearing tissues were mounted in metal imaging chambers with a glass bottom. The 3D image stacks were acquired in a mosaic using a Nikon-A1R confocal microscope equipped with a 20X long-distance air objective. These image stacks were then converted into the IMARIS software format. Vessels labelled with the anti-CD31-alexa647 antibody were reconstructed in 3D using the IMARIS surface module. The IMARIS software (Bitplane) automatically generated the statistical data of the tissue volume using the phalloidin-alexa488 signal. To

determine vessel length, a 3D skeleton was generated by using ImageJ software, so reducing each vessel to a one-pixel side line. The total area (pixel^2) covered by these lines was determined by using ImageJ 'Analyze Particles' software and provides a measure of the vessel length. The length per volume of tissue was calculated by dividing the vessel length to the total volume analyzed (pixel^2/µm3). To determine the number of branches, the 3D skeleton was analyzed using the ImageJ plug-in 'Analyze Skeleton', which extracts the number of junctions. The number of junctions per length was then calculated by dividing the number of junctions to the vessel length. Adipocyte were reconstructed based on phalloidin signals and were segmented with the cell module in Imaris.

Western blot analysis

For Western blot analysis, 100 mg of either PPAT or APAT were immediately carried out into the research lab. Then ATs were placed in Precellys ® 2mL Soft Tissue homogenizing Ceramic beads Kit (CK14). Proteins were extracted using the Precellys ® tissue homogenizer with 2 cycles of 45s at 7500 rpm at RT. The sample was then centrifuged 10 min at 10 000 g at RT to isolate the lipids. The extract was recovered without the lipid layer and centrifuged again 10 min at 10 000 g at 4°C. 40µg of proteins were electrophoresed on a 4-10% gradient SDS-PAGE gel (Biorad) and transferred to a nitrocellulose membrane. After being blocked with 5% skimmed milk in 1X TBS (Tris 20mM, NaCl 150mM), membranes were incubated with primary antibodies in blocking buffer at 4°C overnight. The following primary Abs were used : anti-HIF1 _(BD Biosciences, clone 54, 1/1000); anti-HIF2 _(Novus Biologicals, 1/400); anti-HIF-1 _(BD Biosciences, clone 29, 1/1000) ; anti-GLUT-1 (Abcam, 1/1000), anti- -actin (Sigma-Aldrich, clone AC-15, 1/5000). Membranes were washed with TBS containing 1% Tween and incubated with secondary antibodies combined with HRP (1:5000, Santa Cruz Biotechnology). The immunoreactive protein bands were revealed by the ECL

prime western blotting detection reagent (Amersham[™]) and detected using a ChemiDoc imaging system (Biorad). Densitometry quantification was performed using ImageJ software.

B. Le remodelage de la matrice extra-cellulaire facilite l'expansion du TAPP abondant et pourrait expliquer son rôle dans la progression du CaP.

Introduction

Récemment un nouveau concept d'accumulation anormale de TAPP ou TAPP abondant défini par un dépôt ectopique non corrélé à l'IMC est apparu dans la littérature. Malgré des techniques de mesure très différentes, les résultats des différentes études confirment une association entre l'abondance du TAPP et l'agressivité du CaP estimée par le score de Gleason, la classification de d'Amico.

Les travaux de l'équipe sur le lien entre CaP et TAPP du sujet obèse et sur l'organisation du TAPP chez le sujet non obèse nous ont permis d'identifier une population de patient présentant une accumulation de TAPP. Ainsi nous avons décidé d'étudier les mécanismes tissulaires et moléculaires permettant le développement abondant du TAPP, ainsi que ces modifications sécrétoires qui pourraient être impliquées dans la progression du CaP. Notre hypothèse principale était que le TAPP abondant pouvait être associé à un pronostic plus péjoratif du CaP. De plus, nous pensons que le TAPP abondant ne pouvait pas présenter les mêmes signatures inflammatoire, fibrotique et hypoxique que le TAPP non abondant tant ces caractéristiques sont des facteurs limitant à l'expansion du tissu adipeux. L'objectif principal de cette étude était de décrire les caractéristiques tissulaires, moléculaires et sécrétoires du TAPP abondant et leurs implications dans la progression du CaP. Avant de débuter ces recherches, nous avons voulu confirmer l'association entre l'abondance du TAAP et le pronostic du CaP. Pour cela, nous avons créé une cohorte de sujets ayant eu une IRM prostatique avant une prostatectomie totale pour un CaP ou dans le cadre d'un bilan diagnostique avec biopsies négatives. Nous avons mesuré le volume de TAPP pour définir l'abondance et rechercher des associations avec les critères d'agressivité du CaP. Cette partie de résultats sera rapportée dans la suite du manuscrit. Nous discuterons en perspectives les résultats préliminaires des études toujours en cours pour définir les mécanismes moléculaires impliqués dans l'accumulation du TAPP abondant.

Matériels et Méthodes

Entre Septembre et Mars 2021, les patients ayant un Cap localisé traité par prostatectomie totale ont été inclus dans l'étude. Les patients avec un CaP métastatique sur le bilan d'imagerie

standard par scintigraphie osseuse et scanner abdonimo-pelvien ainsi que ceux traités initialement par radiothérapie, hormonothérapie ou ultrasons de haute intensité ont été exclus. Tous les patients avaient eu en pré opératoire une IRM multiparamétrique (séquence pondérée en T2, séquence de diffusion et de perfusion) 1,5T de la prostate avec une injection de 20 mg de butyl scopolamine (Buscopan; Boehringer-Ingelheim). Après anonymisation des images, l'aire du tissu adipeux sous cutanée, le volume prostatique, le volume de TAPP et l'aire de tissu péri rectal ont été mesurés en utilisant une technique de segmentation semi-automatique sur coupe axiales contigües de 3mm du logiciel Olea Sphere © (http://www.olea-medical.com/). Les TAPP était délimité sur la hauteur de la prostate en commençant à l'apex jusqu'à la base en respectant les limites anatomiques suivantes : la symphyse pubienne en avant, les muscles obturateurs en latéral et le fascia de Denonvilliers en postérieur. L'aire de tissus sous cutanée était mesurée sur la coupe axiale où elle était la plus importante. L'aire du TA péri rectal correspondait au TA entourant le rectum au niveau de l'apex de la prostate. Une personne a réalisé les contourage de la cohorte après une formation initiale sur plusieurs cas par un radiologue sénior et en aveugle des expérimentations et des résultats portant sur ces tissus. Les données démographiques (âge, indice de masse corporelle) ainsi que les paramètres

Les donnees demographiques (age, indice de masse corporelle) ainsi que les parametres spécifiques du CaP (le PSA, le stade clinique, le score de Gleason et le stade pathologique sur la pièce de prostatectomie, le suivi oncologique) étaient enregistrées.

Résultats :

L'abondance du TAPP reflète une accumulation de TA indépendante du volume de la prostate et de l'IMC.

Dans l'objectif d'évaluer le rôle de l'abondance du TAPP dans l'agressivité et la progression du CaP, nous avons constitué une cohorte de 351 patients traités par prostatectomie totale pour un CaP localisé et de 20 sujets sains. Sur l'IRM prostatique, le volume de la prostate, du TAPP, du TA sous cutané et du TA péri-rectal étaient mesurés. Les patients avaient un âge médian de 65 ans (IQR 60-69) avec un IMC médian de 25.5 Kg/m² (24,2-27,8). Les volumes médians du TAPP et de la prostate étaient respectivement de 43 cc (34-53) et 44 cc (35-60). La surface de TA sous cutanée et du TA péri-rectal était de 35 cm2 (28-44) et 25.9 cm2 (22,4-30,3) (**tableau** 1). Tout d'abord nous avons retrouvé une corrélation forte ($r^2= 0.83$; p<0.0001; figure 1A) entre le poids de la prostate rapporté par l'anatomopathologiste et le volume estimé sur l'IRM, ce qui permettait une validation de nos mesures de volume et permettait de poursuivre les analyses.

Le volume du TAPP mesuré sur l'IRM de patients avec ou sans CaP n'était pas associé à l'IMC ($r^2=0.08$; p=0.09; figure 1B) alors que la surface de TA sous cutané et la surface de TA péri rectal étaient corrélées à l'IMC respectivement $r^2=0.47$ (p<0.001; figure 1D) et $r^2=0.15$ (p<0.0001; figure 1F).

Nous avons également observé une corrélation forte entre le volume de la prostate et le volume de TAPP chez les patients ayant un CaP et chez les patients sains (**figure 1C**).

Ainsi pour définir l'abondance du TAPP comme une accumulation excessive de TA indépendamment du volume de la prostate, les valeurs résiduelles de la régression linéaire entre TAPP et vol prostatique ont été estimées et la cohorte de patient a été divisée en quartiles (figure 2A; B). Cette méthode a permis d'identifier les patients qui présentent un TAPP abondant indépendamment de la taille prostatique (figure 2C). L'abondance de TAPP n'est pas corrélée à l'âge ni à l'IMC (figure 2D). En parallèle, nous avons défini les quartiles du ratio entre TAPP et vol prostatique (figure 2E; F). Cette méthode plus usuelle pour définir la quantité de TAPP, introduit des biais et sélectionne logiquement les patients avec une prostate de faible volume dans le 4^{eme} quartile (figure 2G; H).

L'abondance du TAPP est associée à des formes agressives de CaP

Après avoir défini l'abondance du TAPP, nous avons estimé les associations entre le volume du TAPP et les critères d'agressivité connus du cancer de la prostate. Les patients inclus dans la cohorte avaient un PSA médian de 7 ng/ml (5.5-10), 55% (193/351) et 35 % (123/351) des patients avait un score ISUP (score de Gleason 7 (3+4)) et ISUP 3 (score de Gleason 7 (4+3)) respectivement. Un franchissement prostatique était retrouvé chez 44% (n=146) des patients, 11% d'entre eux avaient une récidive biochimique au cours d'un suivi moyen de 1,3 ans (tableau 2). Le taux sanguin de PSA, le pourcentage de cellules tumorales indifférenciées définie par un grade de Gleason \geq 4 étaient positivement associés au volume du TAPP divisé en quartile. De la même façon, la proportion de tumeur ISUP \geq 3 était plus importante dans le 4^{ème} quartile d'abondance du TAPP (tableau 3). La régression logistique confirme que l'abondance et le PSA étaient prédictif de la présence d'un score ISUP \geq 3 sur pièce de PT et du pourcentage de cellules tumorales indifférenciées (figure 3).

	$N = 351^{7}$			
Age (an)	65 (60- 69)			
IMC (KG/m2)	25,5 (24,2-27,8)			
Données manquantes	19			
Volume TAPP (cc)	43 (34- 53)			
Aire de TA sous cutanée (cm2)	35 (28, 44)			
Données manquantes	156			
Volume Prostate (cc)	44 (35, 60)			
Aire de TA péri rectal (cm2)	25,9 (22,4-30,3)			
Données manquantes	96			
¹ Médian (IQR)				

Tableau 1: Caractéristiques générales et mesures d'aire et de volume de tissu adipeux réaliséessur IRM préopératoire de 351 patients ayant un CaP.

	$N = 351^{7}$		
PSA	7.0 (5.5, 10.0)		
Unknown	4		
Volume Tumoral (cc)	5.8 (3.2, 9.8)		
Pourcentage Cellules tumorale	40 (20, 65)		
Indifferenciees Grade ≥4 (%)			
Unknown	2		
Grade ISUP			
1	14 (4.0%)		
2	193 (55%)		
3	123 (35%)		
4	20 (5.7%)		

5	1 (0.3%)		
Stade pathologique			
<2c	32 (9.1%)		
2c	148 (42%)		
3а	127 (36%)		
3b	44 (13%)		
Franchissement Capsulaire	156 (44%)		
Curage ganglionnaire	253 (72%)		
Envahissement ganglionnaire	30 (8.5%)		
Radiothérapie adjuvante	24 (6.8%)		
Récidive biologique	38 (11%)		
Unknown	2		
¹ Median (IQR); n (%)			

Tableau 2 : Données clinico-biologiques pré opératoires associées aux caractéristiquesanatomopathologiques et au suivi post opératoire des 351 patients opérés d'un CaP.

	1 N = 88	2 N = 88	3 N = 88	4 N = 87	p-value	
PSA, Médian (IQR)	7.0 (5.1, 9.6)	6.9 (5.0, 8.5)	7.0 (5.6, 9.9)	8.0 (6.1, 11.1)	< 0.05 ¹	
données manquantes	1	1	2	0		
Volume Tumoral (cc), Median (IQR)	5.1 (2.8, 9.5)	6.2 (3.2, 9.6)	6.3 (3.5, 10.0)	6.0 (3.0, 9.9)	0.651	
Cellules indifférenciées Grade 4 (%), Médian (IQR)	28 (10, 60)	40 (20, 70)	30 (15, 70)	55 (22, 72)	< 0.05 ¹	
données manquantes	0	0	2	0		
Grade ISUP≥3, n (%)	26 (30%)	38 (43%)	35 (40%)	45 (52%)	< 0.05 ²	
--	----------	----------	------------	-----------	---------------------	--
Stade pathologique, n (%)					0.05 ²	
<2c	6(6.8%)	7 (7.9%)	10 (11.3%)	0 (10.3%)		
2c	42 (48%)	35 (40%)	32 (36%)	39 (45%)		
3а	35 (40%)	31 (35%)	35 (40%)	26 (30%)		
3b	5 (5.7%)	15 (17%)	11 (12%)	13 (15%)		
Franchissment Capsulaire, n (%)	39 (44%)	42 (48%)	39 (44%)	36 (41%)	0.85 ²	
Envahissemenent ganglionnaire, n (%)	9 (10%)	6 (6.8%)	6 (6.8%)	9 (10%)	0.45 ²	
Radiothérapie Adjuvante, n (%)	7 (8.0%)	9 (10%)	4 (4.5%)	4 (4.6%)	0.37 ²	
Récidive Biologique n (%)	9 (10%)	11 (12%)	8 (9.2%)	10 (11%)	0.90 ²	
données manquantes	1	0	1	0		
¹ Kruskal-Wallis rank sum test ² Pearson's Chi-squared test						

Tableau 3 : Analyse univariée entre les quartiles d'abondance du TAPP et les critères biologiques, cliniques, histologiques et de récidive des 351 patients inclus dans la cohorte.



Figure 1 : Multiples corrélations entre les mesures réalisées sur l'IRM et l'Indice de masse corporelle (IMC) ; **A**/ Corrélation entre le poids (gr) de la prostate sur pièce de prostatectomie et volume (cc) de la prostate mesuré sur l'IRM pré chirurgicale. **B**/ Absence de corrélation entre l'IMC et le volume prostatique chez sujets sains (points rouges) et patients ayant un cancer de la prostate (points noirs). **C**/ Corrélation positive entre le volume prostatique et le volume de TAPP (Tissus adipeux péri-prostatique) mesuré sur IRM chez sujets sains (points rouges) et patients ayant un cancer de la prostate (points noirs). **D**/ Corrélation positive entre l'aire de TA sous cutanée et l'IMC. **E**/ Corrélation positive entre l'aire de TA viscéral et l'IMC. **F**/ Corrélation positive entre l'aire de TA péri rectal et l'IMC.



Figure 2 : A/ Valeurs résiduelles de la régression linéaire du ratio TAPP/volume prostatique. **B**/ Représentation des volumes de TAPP (cm³) en fonction des quartiles d'abondance de TAPP définis par la régression linéaire. **C**/ Représentation des volumes prostatiques (cm³) en fonction des quartiles d'abondance de TAPP définis par la régression linéaire. **D**/ Représentation de l'IMC (cm³) en fonction des quartiles d'abondance de TAPP définis par la régression linéaire. **E**/ Ratio TAPP/ volume prostatique ordonné. **F**/ Représentation des volumes de TAPP (cm³) en fonction des quartiles du ratio TAPP/ volume prostatique. **G**/ Représentation des volumes prostatique. **H**/ Représentation de l'IMC (Kg/m2) en fonction des quartiles du ratio TAPP/ volume prostatique.

Α							
	Prédiction ISUP≥3 N		Odds ratio	р			
	Abondance	1 87		Reference			
		2 87		1.95 (1.03, 3.75)	0.042		
		3 86	⊢	1.52 (0.79, 2.92)	0.209		
		4 87	⊢−−−− ;	2.34 (1.24, 4.47)	0.009		
	PSA	347	1 ∎1	1.10 (1.05, 1.16)	<0.001		
			1 1.5 2 2.5 3 3.5 4				

В

Pourcentage cellules N indifférenciées Grade 4		Estimate		р	
Abondance	1	87		Reference	
	2	87	⊧	12.13 (4.06, 20.20)	0.003
	3	84	₽	7.65 (-0.49, 15.79)	0.066
	4	87	▶ ■	14.01 (5.93, 22.10)	<0.001
PSA		345		1.23 (0.77, 1.68)	<0.001

Figure 3 : A/ Régression logistique binomiale sur le score ISUP \geq 3 incluant les variables d'Abondance et du PSA qui étaient significatives en analyse univariée. B/ Régression logistique binomiale sur le pourcentage de cellules indifférenciées de Grade 4 de incluant les variables d'Abondance et du PSA, qui étaient significatives en analyse univariée.

Discussion et perspectives

La première partie de cette étude a permis de définir l'abondance du TAPP et d'observer des associations entre abondance du TAPP et agressivité du CaP. Dans notre étude, la stratégie utilisée pour définir l'abondance permet d'identifier un groupe de patients dont la quantité de TAPP est supérieure tout en ayant une taille de prostate moyenne identique. Le ratio TAPP/prostate bien que souvent utilisé pour caractériser l'abondance du TAPP met en avant les patients ayant une plus petite prostate pour une taille moyenne de TAPP équivalente. Ainsi notre méthode semble plus appropriée pour déterminer le rôle du TAPP dans l'agressivité du CaP. La forte corrélation observée entre le volume de la prostate et celui du TAPP suggère que ces deux organes se développent conjointement. Le rôle des androgènes dans le développement de la prostate est maintenant largement documenté. Il est donc envisageable que les mêmes signaux régulent le développement du TAPP qui contrairement aux autres dépôts adipeux semble moins sensible aux variations de balance énergétique dans la mesure où son accumulation est indépendante de l'IMC. Ainsi comprendre les mécanismes permettant cette accumulation excessive permettrait de mieux comprendre les signaux moléculaires impliquer à la fois dans le développement excessif du TAPP mais également dans son rôle sur l'agressivité du cancer de la prostate. Il pourrait être envisageable également que ces signaux moléculaires puissent représenter une cible pharmacologique pour reverser l'accumulation de TAPP et limiter l'agressivité du CaP. En ce sens il a été observé que le volume du TAPP était significativement moins abondant dans le groupe de patients traités par inhibiteurs de la 5α réductase (5-ARI) (331). De façon intéressante, ces résultats nous rappellent l'étude PCPT (Prostate Cancer Prevention Trial) de chimio-prévention du CaP par finastéride qui rapportait une incidence de CaP de 24,4% dans le groupe placebo contre 18,4% dans le groupe finastéride. En dépit de ce résultat, le traitement préventif n'avait pas été recommandé notamment à cause d'une augmentation de l'incidence de CaP de haut grade dans le groupe traité (6,4% vs 5,1% ; ns) (376).

Cette stratégie de classification de l'abondance nous a permis d'étudier le phénotype des TAPP abondants afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la progression du CaP. Pour cela nous avons utilisé des approches expérimentales similaires à celles utilisées dans nos études précédentes tant sur chez le sujet obèse, que lors de la comparaison TAPP vs TAPV. Brièvement, les résultats préliminaires, que nous avons obtenus montrent que l'expansion du TAPP abondant est médiée par une hypertrophie adipocytaire qui n'est pas associée à une inflammation exacerbée. Cela est rendue possible par un remodelage et une dégradation importante de la MEC probablement médié par MMP9. Ce remodelage excessif de la MEC limite les contraintes et les stress mécaniques sur les adipocytes hypertrophiés et par conséquent l'inflammation au sein du TAPP. Parmi, les différents collagènes dégradés par MMP9, la dégradation du collagène VI et de sa chaine alpha3 notamment, pourrait entrainer une libération de matrikines, comme l'endotrophine dont le rôle dans la progression du cancer de sein est déjà décrit. De façon intéressante et concordante avec notre hypothèse, nous avons observé, dans une cohorte de 68 patients, une augmentation de l'endotrophine urinaire mesurée après massage prostatique chez les patients présentant un TAPP abondant alors que les taux sériques d'endotrophine restaient stable. Un des objectifs de ces travaux de recherches sera de confirmer le rôle de l'endotrophine dans la progression du CaP et d'identifier les mécanismes physiologiques ou patho-physiologiques à l'origine de l'abondance.

V. DISCUSSION

Malgré les progrès dans la prise en charge du CaP concernant la détection précoce individuelle fondée sur le dosage du PSA, le diagnostic guidé par l'IRM et les traitements, cette maladie reste un problème de santé publique (377). La complexité de la prise en charge des patients ayant un CaP est d'estimer avec précision le pronostic de la maladie pour répondre par une stratégie thérapeutique adaptée au patient avec des risques et des bénéfices équilibrés. Cette complexité qui est assez habituelle en oncologie est plus marquée dans le CaP car c'est une maladie avec des pronostics très hétérogènes. En effet, les formes de faible risque bénéficieront d'une surveillance active alors que les formes localement avancées ou métastatiques seront traitées par voie systémique avec des chances quasiment nulles de guérison. Malgré les récents progrès réalisés dans les domaines de l'imagerie, des biomarqueurs et de l'analyse moléculaire des tumeurs, estimer le risque d'évolution péjorative d'un CaP reste imprécise. A l'instar d'autres organes (poumon, vessie) de nombreux travaux ont souligné qu'au-delà des caractéristiques intrinsèques des cellules tumorales la composition du microenvironnement du CaP pourrait jouer un rôle majeur dans la progression de la maladie (82). Parmi les composants de ce microenvironnement, nous avons choisi de nous intéresser au tissu adipeux entourant la prostate et ce pour plusieurs raisons. D'une part le TAPP est un composant majeur de ce microenvironnement et l'infiltration du compartiment extra prostatique, le TAPP, par la tumeur est considérée au plan clinique comme un facteur pronostique majeur (378). Enfin comme nous l'avons vu dans la partie introductive, l'excès d'accumulation de ce tissu adipeux indépendamment de l'obésité est associé à des CaP de plus haut grade présentant une résistance aux traitements (329, 364, 366-368, 370). Comprendre le rôle du TAPP dans la progression du CaP et sa régulation quantitative et qualitative (obésité, excès d'accumulation) suppose de caractériser ce tissu. Au début de mon travail de thèse, peu de choses étaient connues sur les caractéristiques structurales et fonctionnelles de ce tissu. Toutefois, des caractéristiques spécifiques avaient déjà été retrouvées dans la littérature comme une surexpression des cytokines pro-inflammatoires par rapport à d'autres TA (348) et surtout une accumulation indépendante de l'IMC (329, 373) qui était une caractéristique remarquable et qui restait inexpliquée.

Ainsi dans la première partie de notre travail nous avons caractérisé le TAPP en le comparant à un tissu contrôle, l'APAT. Les résultats que nous avons obtenus montrent que ce tissu

présente un état d'hypoxie basale, dû à une vascularisation très spécifique, entrainant une fibrose et une inflammation. Nos résultats ont par ailleurs permis de montrer que l'excès d'accumulation de la MEC dans les TAPP n'était pas régulé par l'obésité suggérant que c'est cette fibrose basale qui s'oppose à son expansion dépendante de l'IMC.

Pour valider l'existence d'une hypoxie dans le TAPP, nous avons utilisé des approches in vitro sur des TAPP prélevés. Il aurait été intéressant de montrer que cette hypoxie existe in vivo chez les patients afin de renforcer nos résultats. Une possibilité est d'administrer aux patients en préopératoire du pimidazole, un composé 2-nitroimidazole qui forme des liaisons covalentes avec les macromolécules cellulaires à des niveaux d'oxygène inférieurs à 1 % pour détecter ensuite l'hypoxie sur les TAPP prélevés par des approches immunohistochmiques (379). Cette approche a déjà été utilisé pour détecter l'hypoxie intra-tissulaire dans le CaP (379). Cette démarche supposant des autorisations des comités d'éthique que nous avons estimé trop longues à obtenir, nous avons choisi d'étudier l'hypoxie du TAPP sur les IRM multiparamétriques de la prostate. Parmi les séquences de l'IRM multiparamétrique prostatique, les séquences T2 permettent d'apprécier l'anatomie des tissus, la séquence de diffusion mesurant le mouvement brownien de molécules d'eau au sein des tissus et apportant une information indirecte sur la densité cellulaire. Plusieurs modèles mathématiques, dont l'IVIM (Intravoxel Incoherent Motion), le modèle bi-compartimental (ktrans : constante de transfert entre l'espace tissulaire et le plasma ; V_p & V_e : vascularisation ; Fp : perfusion) ont été développés à partir de cette séquence pour obtenir des informations microscopiques (cellulaire ou vasculaire) sur les tissus (380). Les premiers résultats que nous avons obtenus semblent confirmer le caractère hypoperfusé du TAPP en comparaison au tissu contrôle mais ils étaient trop préliminaires pour être inclus dans notre manuscrit. Cette approche pourra être utilisée dans le cadre d'un projet clinique translationnel que nous souhaitons développer pour évaluer le rôle pronostic du TAPP et de son abondance dans l'évolution du CaP comme discuté plus loin.

Nos résultats montrent que le TAPP présente une organisation très spécifique de sa vascularisation conduisant à une hypoxie basale. Les données de la littérature rappellent le rôle majeur de l'angiogenèse et de l'endothélium dans le développement et l'expansion du TAPP (85). Le TA est généralement un tissu bien vascularisé dans lequel chaque adipocyte est irrigué par un capillaire sanguin (168, 169). En situation physiologique, l'activité angiogénique est faible, en revanche elle augmente lors de l'adipogénèse et en particulier en situation

d'obésité. Pour une expansion saine des TA, il faut un équilibre coordonné entre la croissance vasculaire et la sécrétion des facteurs de croissances par les adipocytes matures tels que VEGF, Fibroblast growth factor 2 (FGF2) et insulin-like growth factor (IGF) (92). La cause de cette vascularisation spécifique du TAPP n'est pas connue, mais il est important de souligner ici qu'il s'agit probablement d'un évènement physiologique puisque nous l'avons aussi observée dans des TAPP issus de patients ne présentant pas de cancers (voir Figure Supplémentaire 1A de l'article). Une hypothèse que nous pouvons évoquer est le rôle des hormones stéroïdiennes dans ce phénomène. En effet, comme nous l'avons vu dans l'introduction, le traitement par les inhibiteurs de la 5α réductase diminue le volume du TAPP, suggérant que son développement est dépendant des androgènes (331). De plus, nos résultats d'analyse transcriptomique montrant une surexpression des gènes impliqués dans les voies de signalisation des androgènes et des œstrogènes dans le TAPP par rapport à l'APAT renforcent cette hypothèse. L'influence des hormones sur l'activité métabolique, les fonctions endocrines ou l'angiogenèse dans le TA a été rapportée dans la littérature (381, 382). Récemment, une étude a observé que la sécrétion adipocytaire de VEGF était régulée par les œstrogènes (récepteur 1 des œstrogènes) ouvrant ainsi une perspective de recherche sur l'implications des hormones stéroïdiennes dans l'angiogenèse du TAPP (383).

Dans le laboratoire actuellement, un programme de recherche a été initié pour identifier les hormones stéroïdes présentes dans le TAPP par rapport à l'APAT (collaboration avec le laboratoire LABERCA, Nantes) ainsi que l'expression des enzymes impliqués dans leur métabolisme (approche de RTqPCR et Western Blot). De ces données nous espérons mettre en évidence un métabolisme stéroïde spécifique dans le TAPP ce qui pourrait nous donner des pistes sur une régulation spécifique de l'angiogenèse dans ce tissu.

Les résultats de nos travaux montrent que le TAPP présente également un état inflammatoire chronique ainsi qu'une fibrose, deux éléments qui pourrait favoriser l'agressivité du CaP. L'augmentation de l'expression de l'IL-6, déjà retrouvée dans d'autres études (218, 219), est intéressante car cette cytokine pro-inflammatoire favorise la prolifération et inhibe l'apoptose des cellules cancéreuses prostatiques (222). En clinique, un taux sérique élevé d'IL-6 chez des patients ayant un CaP métastatique est négativement corrélé avec la survie et la réponse à la chimiothérapie (384). Nos travaux montrent aussi que le TAPP présente un état fibrotique ce qui pourrait modifier les sécrétions adipocytaires via l'implication des voies de mécano-transduction qui sont capables d'affecter de très

nombreuses voies de signalisation intracellulaire (385). Ainsi, l'état fibrotique du TAPP pourrait expliquer les spécificités sécrétoires de ce tissu et en particulier l'inflammation. En effet, in vitro, la culture 3D d'adipocytes exposés à la fibrose induit l'activation de voies de mécano-transduction impliquant l'intégrine β 1 et le cytosquelette d'actine, aboutissant à une réponse fibro-inflammatoire (386). Cette fibrose pourrait aussi modifier, via les voies de mécano-transduction, le comportement des cellules tumorales qui infiltrent ce tissu, une hypothèse qui a notre connaissance n'a jamais été explorée. La fibrose et l'inflammation du TAPP pourraient être majorées au cours du vieillissement ce qui pourrait favoriser l'émergence et/ou la progression du CaP. En effet, au cours du vieillissement, l'apparition d'une sénescence du TA favorise une sécrétion plus importante de cytokines proinflammatoires comme l'IL-6 ou MCP-1 (306), de leptine (307-309), une augmentation du ratio entre macrophage pro-inflammatoire ou M1 et macrophage anti-inflammatoire ou M2 (310, 311), ainsi qu'une augmentation de la fibrose et une diminution de la densité vasculaire responsable d'hypoxie (284). Cet état inflammatoire chronique du TA chez le sujet âgé, appelé « Inflammaging » pourrait favoriser le développement de maladie chroniques et de cancers solides (387). Le CaP étant une maladie liée à l'âge, il serait très intéressant de de valider s'il existe ou non au cours du vieillissement une sénescence du TAPP associant des dommages à l'ADN, une compaction particulière de la chromatine, la surexpression de certaines protéines du cycle cellulaire et une activité β -galactosidase augmentée par des approches combinées d'imagerie tissulaire 3D et de qPCR. Nous pourrions ensuite identifier par analyse protéomique sur une série d'échantillons représentatifs (sénescence significative ou non) les protéines exprimées dans les TAPP (adipocytes matures et fraction stroma vasculaire) et sécrétées (milieu conditionné de TAPP entiers). L'ensemble de ces caractéristiques pourrait être reliée à l'évolution des CaP de la collection annotée. Ce projet qui serait permis par la collaboration forte entre le laboratoire de recherche et les cliniciens constitue une hypothèse très originale que mon laboratoire envisage de développer.

Dans la deuxième partie de mon travail, j'ai participé à la mise en place de critères pour mieux définir ce qu'est un TAPP abondant. Nous avons ensuite montré en utilisant cette nouvelle définition que l'abondance du TAPP est comme précédemment décrit, un facteur pronostic du CaP (367, 368). Bien que de nombreuses études aient rapporté l'association entre l'abondance du TAPP et l'agressivité du CaP (tableau 4), les méthodes de mesure utilisées sont très variables (mesure de l'Aire du TAPP, ratio aire TAPP/ aire prostatique, épaisseur de TAPP,

cf tableau 4). Récemment, il a été suggéré que l'utilisation d'un ratio entre le volume du TAPP et celui de la prostate pourrait représenter un critère adapté (365). Toutefois, comme nous l'avons montré, il existe une corrélation étroite entre le volume du TAPP et celui de la prostate (figure 1C) et l'utilisation de ce ratio introduit un biais sélectionnant dans le 4^{ième} quartile de la cohorte des patients présentant un TAPP abondants associés à des volumes prostatiques inférieurs (figure 2G). Nous avons donc choisi d'utiliser une régression linéaire entre le volume du TAPP et le volume prostatique et les valeurs résiduelles ainsi obtenues ont été divisées en quartiles. Cette approche nous permet d'identifier des patients présentant un TAPP abondant ou non, les différents quartiles ne présentant pas de différences en termes de taille prostatique (figure 2C) ou d'IMC (figure 2D). Cette approche associée à une technique de mesure reproductible et bien définie sur les IRM prostatiques nous a permis d'éviter des biais d'échantillonnage dans notre étude. L'accumulation de TAPP est associée à des critères reconnus d'agressivité du CaP (pourcentage de cellules indifférenciées, grade de Gleason 4, ISUP \geq 3, PSA). Nous n'avons pas identifié d'autres associations entre l'abondance du TAPP et les critères d'agressivité reconnus du CaP comme le stade pT ou la récidive biochimique. Cela peut s'expliquer par les caractéristiques très homogènes des maladies prostatiques opérées et inclues dans notre étude. En ce qui concerne le critère de la récidive biologique, notre cohorte manque encore de suivi et l'existence de traitement adjuvants introduisent des biais dans l'interprétation des résultats. L'élément que nous allons regarder plus en détail est l'association entre l'abondance du TAPP et les risques d'upstaging et d'upgrading tumoral. En effet, ces éléments peuvent permettre prédire l'agressivité d'un CaP et d'adapter la stratégie thérapeutique pour le patient comme par exemple : l'association d'une hormonothérapie à la radiothérapie en cas de maladie localement avancée, ou l'exclusion de protocole de surveillance active en cas de franchissement capsulaire.

Par la suite nous avons caractérisé l'organisation structurale et fonctionnelle de ce TA pour comprendre comment il pouvait influencer la progression tumorale du CaP. Comme nous l'avons vu plus haut, les principaux résultats que nous avons obtenus montrent que l'expansion de ce tissu est permise par un remodelage extensif de la MEC, en accord avec les conclusions de mon article qui proposait que la fibrose du TAPP était l'élément majeur s'opposant à son accumulation en particulier dans l'obésité. Pourquoi chez certains patients le TAPP s'accumule et quels sont les mécanismes impliqués ? Une hypothèse est qu'il pourrait y avoir des différences dans le contenu et la signalisation des hormones stéroïdes entre ces

tissus. Cette hypothèse est en cours d'évaluation dans l'équipe et font l'objet d'un travail de thèse. Enfin, nous avons émis l'hypothèse que ce remodelage de la MEC conduit à l'augmentation de l'expression de fragments bio-actifs de la MEC et en particulier un fragment du COL6A3, l'ETP.

Cette matrikine est impliquée dans la progression tumorale des cancers du sein (388) et les résultats de l'équipe montrent que son expression est augmentée dans les TAPP abondants ainsi que dans les urines de patients présentant un TAPP abondant par rapport aux patients avec un TAPP non abondant (1^{er} quartile) (résultats non montrés). Ainsi ces résultats nous permettent de proposer une cible dont la validation directe dans la progression du CaP est envisagée dans des modèles de coculture entre cellules tumorales et TAPP (abondants ou non) via l'utilisation d'anticorps bloquants (collaboration avec le Pr Philipp Scherer). Pour ce qui me concerne plus personnellement, mon prochain objectif est de créer un projet de recherche clinique translationnel évaluant le rôle pronostique du TAPP dans l'évolution du CaP. L'objectif serait d'inclure rétrospectivement et prospectivement tous les patients ayant un diagnostic de CaP reposant sur une IRM au CHU de Toulouse. Cette cohorte sera donc construite à partir d'une population hétérogène à l'évolution variable contrairement à la cohorte utilisée pour caractériser les TAPP abondants où l'ensemble des patients ont bénéficié d'une prostatectomie. Le TAPP sera contouré et les voxels du contour seront extraits. Une première partie de la cohorte sera utilisée pour créer un algorithme de calcul du risque de récidive biochimique ou de risque de CaP cliniquement significatif (score de Gleason \geq 7, ISUP \geq 2) (critère de jugement principal à préciser), la deuxième moitié de la cohorte permettra la validation de l'algorithme avant une cohorte de validation extérieure. Dans le même temps, un recueil de sang, d'urines, et de TA en cas de chirurgie, seront proposés aux patients inclus prospectivement ce qui nous permettrait de valider notre hypothèse sur le rôle de l'ETP et/ou d'autres cibles identifiées dans l'équipe.

VI. CONCLUSION

En conclusion, nos travaux ont permis de caractériser l'organisation tissulaire du TAPP, de comprendre pourquoi ce tissu ne peut pas s'accumuler en condition d'obésité et pourquoi il présente un état plus inflammatoire que d'autres TA. Les caractéristiques fonctionnelles et sécrétoires (hypoxie, inflammation, et fibrose) très spécifiques de ce TA soulignent le rôle probablement très important de ce tissu dans la progression du CaP. Comme montré dans la Figure 32, outre le rôle des facteurs solubles (cytokines pro-inflammatoires, chimiokines) et lipidiques déjà identifiés, mon travail soulève la question du rôle de la mécano-transduction dans l'agressivité tumorale quand les cellules tumorales infiltrent ce tissu. Enfin, comme proposé dans la discussion, il serait intéressant d'évaluer si ces caractéristiques sécrétoires et mécaniques sont modifiées par la sénescence du TAPP. Deux situations sont déjà connues pour moduler positivement l'agressivité du TAPP (résumées dans la figure X). La première est l'obésité, où malgré l'absence d'accumulation du TAPP, des modifications sécrétoires et métaboliques sont observées comme l'augmentation de la sécrétion de certaines chimiokines comme CCL7 (339) ou l'amplification du transfert de lipides entre adipocytes et cellules tumorales (353). Enfin, l'excès d'accumulation du TAPP semble être un facteur très important de l'agressivité du TAPP. Mes travaux ont contribué à en proposer une nouvelle définition et les travaux de l'équipe montrent le rôle majeur du remodelage de la MEC dans son expansion et permettent de proposer que des matrikines et en particulier l'ETP expliquent son rôle dans l'agressivité tumorale. La mise en place d'une étude translationnelle basée sur l'analyse fonctionnelle et dynamique du TAPP sur l'IRM devrait permettre d'étudier son rôle pronostic dans le CaP pour permettre de mieux identifier les patients à haut risque de cancers agressifs.



Figure 32 : Synthèse des caractéristiques structurale et sécrétoire du TAPP en situation « normale ». En condition d'obésité, l'expansion du TAPP est bloquée par le réseau de collagène fibrotique et les profils sécrétoire et métabolique sont modifiés. En condition de TAPP abondant, la résorption des fibres de collagène permet d'une part l'expansion de ce tissu et libère des matrikines pouvant faciliter la progression tumorale.

VII. REFERENCES

1. Gautier Defossez SLGP, Zoé Uhry, Pascale Grosclaude, Marc Colonna, Emmanuelle Dantony, Patricia Delafosse, Florence Molinié, Anne-Sophie Woronoff, Anne-Marie Bouvier, Nadine Bossard, Laurent Remontet, Alain Monnereau. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine

entre 1990 et 2018. 2019, Juillet.

2. INCA.

3. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Pineros M, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. Int J Cancer. 2019;144(8):1941-53.

4. Carioli G, Bertuccio P, Boffetta P, Levi F, La Vecchia C, Negri E, et al. European cancer mortality predictions for the year 2020 with a focus on prostate cancer. Ann Oncol. 2020;31(5):650-8.

5. Grosclaude P, Belot A, Daubisse Marliac L, Remontet L, Leone N, Bossard N, et al. [Prostate cancer incidence and mortality trends in France from 1980 to 2011]. Prog Urol. 2015;25(9):536-42.

6. Albertsen PC, Hanley JA, Gleason DF, Barry MJ. Competing risk analysis of men aged 55 to 74 years at diagnosis managed conservatively for clinically localized prostate cancer. JAMA. 1998;280(11):975-80.

7. Mottet N, van den Bergh RCN, Briers E, Van den Broeck T, Cumberbatch MG, De Santis M, et al. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Guidelines on Prostate Cancer-2020 Update. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. Eur Urol. 2021;79(2):243-62.

 Rozet F, Mongiat-Artus P, Hennequin C, Beauval JB, Beuzeboc P, Cormier L, et al. [French ccAFU guidelines - update 2020-2022: prostate cancer]. Prog Urol. 2020;30(12S):S136-S251.

Haas GP, Sakr WA. Epidemiology of prostate cancer. CA Cancer J Clin. 1997;47(5):273 87.

10. Karakas C, Wang C, Deng F, Huang H, Wang D, Lee P. Molecular mechanisms involving prostate cancer racial disparity. Am J Clin Exp Urol. 2017;5(3):34-48.

11. Ross R, Bernstein L, Judd H, Hanisch R, Pike M, Henderson B. Serum testosterone levels in healthy young black and white men. J Natl Cancer Inst. 1986;76(1):45-8.

12. Koochekpour S, Buckles E, Shourideh M, Hu S, Chandra D, Zabaleta J, et al. Androgen receptor mutations and polymorphisms in African American prostate cancer. Int J Biol Sci. 2014;10(6):643-51.

13. Barnabas N, Xu L, Savera A, Hou Z, Barrack ER. Chromosome 8 markers of metastatic prostate cancer in African American men: gain of the MIR151 gene and loss of the NKX3-1 gene. Prostate. 2011;71(8):857-71.

14. Yamoah K, Asamoah FA, Abrahams AOD, Awasthi S, Mensah JE, Dhillon J, et al. Prostate tumors of native men from West Africa show biologically distinct pathways-A comparative genomic study. Prostate. 2021;81(16):1402-10.

15. Emeville E, Broquere C, Brureau L, Ferdinand S, Blanchet P, Multigner L, et al. Copy number variation of GSTT1 and GSTM1 and the risk of prostate cancer in a Caribbean population of African descent. PLoS One. 2014;9(9):e107275.

16. Hammond B, Katzenellenbogen BS, Krauthammer N, McConnell J. Estrogenic activity of the insecticide chlordecone (Kepone) and interaction with uterine estrogen receptors. Proc Natl Acad Sci U S A. 1979;76(12):6641-5.

17. Lemaire G, Mnif W, Mauvais P, Balaguer P, Rahmani R. Activation of alpha- and betaestrogen receptors by persistent pesticides in reporter cell lines. Life Sci. 2006;79(12):1160-9.

18. Ellem SJ, Risbridger GP. The dual, opposing roles of estrogen in the prostate. Ann N Y Acad Sci. 2009;1155:174-86.

19. Oh M, Alkhushaym N, Fallatah S, Althagafi A, Aljadeed R, Alsowaida Y, et al. The association of BRCA1 and BRCA2 mutations with prostate cancer risk, frequency, and mortality: A meta-analysis. Prostate. 2019;79(8):880-95.

20. Patel VL, Busch EL, Friebel TM, Cronin A, Leslie G, McGuffog L, et al. Association of Genomic Domains in BRCA1 and BRCA2 with Prostate Cancer Risk and Aggressiveness. Cancer Res. 2020;80(3):624-38.

21. Discacciati A, Orsini N, Wolk A. Body mass index and incidence of localized and advanced prostate cancer--a dose-response meta-analysis of prospective studies. Ann Oncol. 2012;23(7):1665-71.

22. Gao C, Patel CJ, Michailidou K, Peters U, Gong J, Schildkraut J, et al. Mendelian randomization study of adiposity-related traits and risk of breast, ovarian, prostate, lung and colorectal cancer. Int J Epidemiol. 2016;45(3):896-908.

23. Richardson TG, Sanderson E, Elsworth B, Tilling K, Davey Smith G. Use of genetic variation to separate the effects of early and later life adiposity on disease risk: mendelian randomisation study. BMJ. 2020;369:m1203.

24. Giovannucci E. Adiposity over the life course and prostate cancer: unraveling the complexities. Cancer Causes Control. 2020;31(12):1051-5.

25. Moller E, Wilson KM, Batista JL, Mucci LA, Balter K, Giovannucci E. Body size across the life course and prostate cancer in the Health Professionals Follow-up Study. Int J Cancer. 2016;138(4):853-65.

26. Song M, Willett WC, Hu FB, Spiegelman D, Must A, Wu K, et al. Trajectory of body shape across the lifespan and cancer risk. Int J Cancer. 2016;138(10):2383-95.

27. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. Circulation. 2009;120(16):1640-5.

28. Esposito K, Chiodini P, Capuano A, Bellastella G, Maiorino MI, Parretta E, et al. Effect of metabolic syndrome and its components on prostate cancer risk: meta-analysis. J Endocrinol Invest. 2013;36(2):132-9.

29. Quagliariello V, Rossetti S, Cavaliere C, Di Palo R, Lamantia E, Castaldo L, et al. Metabolic syndrome, endocrine disruptors and prostate cancer associations: biochemical and pathophysiological evidences. Oncotarget. 2017;8(18):30606-16.

30. Ostergren PB, Kistorp C, Fode M, Bennedbaek FN, Faber J, Sonksen J. Metabolic consequences of gonadotropin-releasing hormone agonists vs orchiectomy: a randomized clinical study. BJU Int. 2019;123(4):602-11.

31. Hayward SW, Cunha GR. The prostate: development and physiology. Radiol Clin North Am. 2000;38(1):1-14.

32. Berry SJ, Coffey DS, Walsh PC, Ewing LL. The development of human benign prostatic hyperplasia with age. J Urol. 1984;132(3):474-9.

33. Martini FH, Tallitsch, R.B. & Nath, J.L. . Human Pathology. 2017; Pearson 2017

34. Schalken JA, van Leenders G. Cellular and molecular biology of the prostate: stem cell biology. Urology. 2003;62(5 Suppl 1):11-20.

35. Vander Griend DJ, Karthaus WL, Dalrymple S, Meeker A, DeMarzo AM, Isaacs JT. The role of CD133 in normal human prostate stem cells and malignant cancer-initiating cells. Cancer Res. 2008;68(23):9703-11.

36. Ishii K, Takahashi S, Sugimura Y, Watanabe M. Role of Stromal Paracrine Signals in Proliferative Diseases of the Aging Human Prostate. J Clin Med. 2018;7(4).

37. Cunha GR. Role of mesenchymal-epithelial interactions in normal and abnormal development of the mammary gland and prostate. Cancer. 1994;74(3 Suppl):1030-44.

38. Olumi AF, Grossfeld GD, Hayward SW, Carroll PR, Tlsty TD, Cunha GR. Carcinomaassociated fibroblasts direct tumor progression of initiated human prostatic epithelium. Cancer Res. 1999;59(19):5002-11.

39. Bhowmick NA, Chytil A, Plieth D, Gorska AE, Dumont N, Shappell S, et al. TGF-beta signaling in fibroblasts modulates the oncogenic potential of adjacent epithelia. Science. 2004;303(5659):848-51.

40. Balk SP, Ko YJ, Bubley GJ. Biology of prostate-specific antigen. J Clin Oncol. 2003;21(2):383-91.

41. Robert M, Gagnon C. Purification and characterization of the active precursor of a human sperm motility inhibitor secreted by the seminal vesicles: identity with semenogelin. Biol Reprod. 1996;55(4):813-21.

42. Gleason DF, Mellinger GT. Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. J Urol. 1974;111(1):58-64.

43. Epstein JI, Egevad L, Amin MB, Delahunt B, Srigley JR, Humphrey PA, et al. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. Am J Surg Pathol. 2016;40(2):244-52.

44. Epstein JI, Zelefsky MJ, Sjoberg DD, Nelson JB, Egevad L, Magi-Galluzzi C, et al. A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. Eur Urol. 2016;69(3):428-35.

45. Lamy PJ, Allory Y, Gauchez AS, Asselain B, Beuzeboc P, de Cremoux P, et al. Prognostic Biomarkers Used for Localised Prostate Cancer Management: A Systematic Review. Eur Urol Focus. 2018;4(6):790-803.

46. Hugosson J, Roobol MJ, Mansson M, Tammela TLJ, Zappa M, Nelen V, et al. A 16-yr Follow-up of the European Randomized study of Screening for Prostate Cancer. Eur Urol. 2019;76(1):43-51.

47. Heijnsdijk EAM, Gulati R, Tsodikov A, Lange JM, Mariotto AB, Vickers AJ, et al. Lifetime Benefits and Harms of Prostate-Specific Antigen-Based Risk-Stratified Screening for Prostate Cancer. J Natl Cancer Inst. 2020;112(10):1013-20.

48. Salomon L, Azria D, Bastide C, Beuzeboc P, Cormier L, Cornud F, et al. [Recommendations Onco-Urology 2010: Prostate cancer]. Progres en urologie : journal de l'Association francaise d'urologie et de la Societe francaise d'urologie. 2010;20 Suppl 4:S217-51. 49. Carvalhal GF, Smith DS, Mager DE, Ramos C, Catalona WJ. Digital rectal examination for detecting prostate cancer at prostate specific antigen levels of 4 ng./ml. or less. The Journal of urology. 1999;161(3):835-9.

50. Gerber GS, Chodak GW. Routine screening for cancer of the prostate. Journal of the National Cancer Institute. 1991;83(5):329-35.

51. Smith DS, Catalona WJ. Interexaminer variability of digital rectal examination in detecting prostate cancer. Urology. 1995;45(1):70-4.

52. Stamey TA, Kabalin JN. Prostate specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate. I. Untreated patients. The Journal of urology. 1989;141(5):1070-5.

53. Cooner WH, Mosley BR, Rutherford CL, Jr., Beard JH, Pond HS, Terry WJ, et al. Prostate cancer detection in a clinical urological practice by ultrasonography, digital rectal examination and prostate specific antigen. The Journal of urology. 1990;143(6):1146-52; discussion 52-4.

54. Thompson IM, Ankerst DP, Chi C, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, et al. Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. Journal of the National Cancer Institute. 2006;98(8):529-34.

55. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Dodds KM, Coplen DE, Yuan JJ, et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. The New England journal of medicine. 1991;324(17):1156-61.

56. Smith DS, Humphrey PA, Catalona WJ. The early detection of prostate carcinoma with prostate specific antigen: the Washington University experience. Cancer. 1997;80(9):1852-6.

57. Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. The New England journal of medicine. 1987;317(15):909-16.

58. Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Parnes HL, et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level < or =4.0 ng per milliliter. The New England journal of medicine. 2004;350(22):2239-46.

59. Stamey TA, Caldwell M, McNeal JE, Nolley R, Hemenez M, Downs J. The prostate specific antigen era in the United States is over for prostate cancer: what happened in the last 20 years? The Journal of urology. 2004;172(4 Pt 1):1297-301.

60. Teoh JY, Yuen SK, Tsu JH, Wong CK, Ho BS, Ng AT, et al. The performance characteristics of prostate-specific antigen and prostate-specific antigen density in Chinese men. Asian J Androl. 2017;19(1):113-6.

61. Ghafoori M, Varedi P, Hosseini SJ, Asgari M, Shakiba M. Value of prostate-specific antigen and prostate-specific antigen density in detection of prostate cancer in an Iranian population of men. Urol J. 2009;6(3):182-8.

62. l'AFU CdPPd. Biomarqueurs diagnostiques dans la prise en charge initiale du cancer de la prostate intégrant l'imagerie

Biomarqueurs pronostiques dans la prise en charge thérapeutique du cancer de la prostate Mise à jour 2020 du rapport « AFU-SFBC-SFMN-SFP de 2017 ». 2021 mars.

63. Barentsz JO, Richenberg J, Clements R, Choyke P, Verma S, Villeirs G, et al. ESUR prostate MR guidelines 2012. Eur Radiol. 2012;22(4):746-57.

64. Dickinson L, Ahmed HU, Allen C, Barentsz JO, Carey B, Futterer JJ, et al. Magnetic resonance imaging for the detection, localisation, and characterisation of prostate cancer: recommendations from a European consensus meeting. Eur Urol. 2011;59(4):477-94.

65. Le JD, Tan N, Shkolyar E, Lu DY, Kwan L, Marks LS, et al. Multifocality and prostate cancer detection by multiparametric magnetic resonance imaging: correlation with whole-mount histopathology. Eur Urol. 2015;67(3):569-76.

66. D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, Schultz D, Blank K, Broderick GA, et al. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. JAMA. 1998;280(11):969-74.

67. Roumiguie M, Lesourd M, Zgheib J, Tollon C, Salin A, Almeras C, et al. Improvement of the intermediate risk prostate cancer sub-classification by integrating MRI and fusion biopsy features. Urol Oncol. 2020;38(5):386-92.

68. Zumsteg ZS, Spratt DE, Pei I, Zhang Z, Yamada Y, Kollmeier M, et al. A new risk classification system for therapeutic decision making with intermediate-risk prostate cancer patients undergoing dose-escalated external-beam radiation therapy. Eur Urol. 2013;64(6):895-902.

69. Beauval JB, Ploussard G, Cabarrou B, Roumiguie M, Ouzzane A, Gas J, et al. Improved decision making in intermediate-risk prostate cancer: a multicenter study on pathologic and oncologic outcomes after radical prostatectomy. World J Urol. 2017;35(8):1191-7.

70. Rozet F, Hennequin C, Beauval JB, Beuzeboc P, Cormier L, Fromont-Hankard G, et al. [French ccAFU guidelines - Update 2018-2020: Prostate cancer]. Prog Urol. 2018;28 Suppl 1:R81-R132.

71. Klotz L. Active surveillance for low-risk prostate cancer. Curr Opin Urol. 2017;27(3):225-30.

72. Berthold DR, Pond GR, Soban F, de Wit R, Eisenberger M, Tannock IF. Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer: updated survival in the TAX 327 study. J Clin Oncol. 2008;26(2):242-5.

73. Beer TM, Armstrong AJ, Rathkopf DE, Loriot Y, Sternberg CN, Higano CS, et al. Enzalutamide in metastatic prostate cancer before chemotherapy. N Engl J Med. 2014;371(5):424-33.

74. Huggins C, Hodges CV. Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration, of estrogen and androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. CA Cancer J Clin. 1972;22(4):232-40.

75. Chandrasekar T, Yang JC, Gao AC, Evans CP. Mechanisms of resistance in castration-resistant prostate cancer (CRPC). Transl Androl Urol. 2015;4(3):365-80.

76. Ryan CJ, Smith MR, de Bono JS, Molina A, Logothetis CJ, de Souza P, et al. Abiraterone in metastatic prostate cancer without previous chemotherapy. N Engl J Med. 2013;368(2):138-48.

77. de Bono J, Mateo J, Fizazi K, Saad F, Shore N, Sandhu S, et al. Olaparib for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. N Engl J Med. 2020;382(22):2091-102.

78. Antonarakis ES, Piulats JM, Gross-Goupil M, Goh J, Ojamaa K, Hoimes CJ, et al. Pembrolizumab for Treatment-Refractory Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Multicohort, Open-Label Phase II KEYNOTE-199 Study. J Clin Oncol. 2020;38(5):395-405.

79. Fizazi K, Tran N, Fein L, Matsubara N, Rodriguez-Antolin A, Alekseev BY, et al. Abiraterone acetate plus prednisone in patients with newly diagnosed high-risk metastatic castration-sensitive prostate cancer (LATITUDE): final overall survival analysis of a randomised, double-blind, phase 3 trial. Lancet Oncol. 2019;20(5):686-700. 80. Sweeney CJ, Chen YH, Carducci M, Liu G, Jarrard DF, Eisenberger M, et al. Chemohormonal Therapy in Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer. N Engl J Med. 2015;373(8):737-46.

81. Fidler IJ. The organ microenvironment and cancer metastasis. Differentiation. 2002;70(9-10):498-505.

82. Kwon JTW, Bryant RJ, Parkes EE. The tumor microenvironment and immune responses in prostate cancer patients. Endocr Relat Cancer. 2021;28(8):T95-T107.

83. Buchsbaum RJ, Oh SY. Breast Cancer-Associated Fibroblasts: Where We Are and Where We Need to Go. Cancers (Basel). 2016;8(2).

84. Comito G, Giannoni E, Segura CP, Barcellos-de-Souza P, Raspollini MR, Baroni G, et al. Cancer-associated fibroblasts and M2-polarized macrophages synergize during prostate carcinoma progression. Oncogene. 2014;33(19):2423-31.

85. Boulet N, Estève D, Bouloumié A, Galitzky J. L'adipogenèse des tissus adipeux blancs : influence du microenvironnement. Obésité. 2014;9(1):42-55.

86. Sohlstrom A, Wahlund LO, Forsum E. Adipose tissue distribution as assessed by magnetic resonance imaging and total body fat by magnetic resonance imaging, underwater weighing, and body-water dilution in healthy women. Am J Clin Nutr. 1993;58(6):830-8.

87. Thomas EL, Saeed N, Hajnal JV, Brynes A, Goldstone AP, Frost G, et al. Magnetic resonance imaging of total body fat. J Appl Physiol (1985). 1998;85(5):1778-85.

88. Yang Loureiro Z, Solivan-Rivera J, Corvera S. Adipocyte heterogeneity underlying adipose tissue functions. Endocrinology. 2021.

89. Romanski SA, Nelson RM, Jensen MD. Meal fatty acid uptake in adipose tissue: gender effects in nonobese humans. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2000;279(2):E455-62.
90. Martin ML, Jensen MD. Effects of body fat distribution on regional lipolysis in obesity. J Clin Invest. 1991;88(2):609-13.

91. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. Endocr Rev. 2000;21(6):697-738.

92. Greenstein AS, Khavandi K, Withers SB, Sonoyama K, Clancy O, Jeziorska M, et al. Local inflammation and hypoxia abolish the protective anticontractile properties of perivascular fat in obese patients. Circulation. 2009;119(12):1661-70.

93. Lee YC, Chang HH, Chiang CL, Liu CH, Yeh JI, Chen MF, et al. Role of perivascular adipose tissue-derived methyl palmitate in vascular tone regulation and pathogenesis of hypertension. Circulation. 2011;124(10):1160-71.

94. Chatterjee TK, Stoll LL, Denning GM, Harrelson A, Blomkalns AL, Idelman G, et al. Proinflammatory phenotype of perivascular adipocytes: influence of high-fat feeding. Circ Res. 2009;104(4):541-9.

95. Mazurek T, Zhang L, Zalewski A, Mannion JD, Diehl JT, Arafat H, et al. Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. Circulation. 2003;108(20):2460-6.

96. Nagashima K, Okumura Y, Watanabe I, Nakai T, Ohkubo K, Kofune T, et al. Association between epicardial adipose tissue volumes on 3-dimensional reconstructed CT images and recurrence of atrial fibrillation after catheter ablation. Circ J. 2011;75(11):2559-65.

97. Alligier M SK, Disse E, Laville M. Le tissu adipeux : couleur, localisation, fonctions et autres données nouvelles. Mises au point cliniques d'Endocrinologie. 2013.

98. Tansey JT, Sztalryd C, Hlavin EM, Kimmel AR, Londos C. The central role of perilipin a in lipid metabolism and adipocyte lipolysis. IUBMB Life. 2004;56(7):379-85.

99. Fujimoto T, Parton RG. Not just fat: the structure and function of the lipid droplet. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2011;3(3).

100. Tang QQ, Lane MD. Adipogenesis: from stem cell to adipocyte. Annu Rev Biochem. 2012;81:715-36.

101. Erickson GR, Gimble JM, Franklin DM, Rice HE, Awad H, Guilak F. Chondrogenic potential of adipose tissue-derived stromal cells in vitro and in vivo. Biochem Biophys Res Commun. 2002;290(2):763-9.

102. Miranville A, Heeschen C, Sengenes C, Curat CA, Busse R, Bouloumie A. Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. Circulation. 2004;110(3):349-55.

103. Halvorsen YD, Franklin D, Bond AL, Hitt DC, Auchter C, Boskey AL, et al. Extracellular matrix mineralization and osteoblast gene expression by human adipose tissue-derived stromal cells. Tissue Eng. 2001;7(6):729-41.

104. Cristancho AG, Lazar MA. Forming functional fat: a growing understanding of adipocyte differentiation. Nat Rev Mol Cell Biol. 2011;12(11):722-34.

105. Billon N, Dani C. Developmental origins of the adipocyte lineage: new insights from genetics and genomics studies. Stem Cell Rev Rep. 2012;8(1):55-66.

106. Boulet N, Galitzky J. [Lobular architecture of human adipose tissue defines niches shaping progenitor cell fates]. Med Sci (Paris). 2020;36(3):197-200.

107. Schipper HS, Prakken B, Kalkhoven E, Boes M. Adipose tissue-resident immune cells: key players in immunometabolism. Trends Endocrinol Metab. 2012;23(8):407-15.

108. Gonzalez-Gay MA, De Matias JM, Gonzalez-Juanatey C, Garcia-Porrua C, Sanchez-Andrade A, Martin J, et al. Anti-tumor necrosis factor-alpha blockade improves insulin resistance in patients with rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol. 2006;24(1):83-6.

109. Tsou CL, Peters W, Si Y, Slaymaker S, Aslanian AM, Weisberg SP, et al. Critical roles for CCR2 and MCP-3 in monocyte mobilization from bone marrow and recruitment to inflammatory sites. J Clin Invest. 2007;117(4):902-9.

110. Westcott DJ, Delproposto JB, Geletka LM, Wang T, Singer K, Saltiel AR, et al. MGL1 promotes adipose tissue inflammation and insulin resistance by regulating 7/4hi monocytes in obesity. J Exp Med. 2009;206(13):3143-56.

111. Chawla A, Nguyen KD, Goh YP. Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. Nat Rev Immunol. 2011;11(11):738-49.

112. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. J Clin Invest. 2007;117(1):175-84.

113. Dalmas E, Clement K, Guerre-Millo M. Defining macrophage phenotype and function in adipose tissue. Trends Immunol. 2011;32(7):307-14.

114. Eto H, Ishimine H, Kinoshita K, Watanabe-Susaki K, Kato H, Doi K, et al.

Characterization of human adipose tissue-resident hematopoietic cell populations reveals a novel macrophage subpopulation with CD34 expression and mesenchymal multipotency. Stem Cells Dev. 2013;22(6):985-97.

115. Wu D, Molofsky AB, Liang HE, Ricardo-Gonzalez RR, Jouihan HA, Bando JK, et al. Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis. Science. 2011;332(6026):243-7.

116. Feuerer M, Herrero L, Cipolletta D, Naaz A, Wong J, Nayer A, 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(8):930-9.

117. Cipolletta D, Feuerer M, Li A, Kamei N, Lee J, Shoelson SE, et al. PPAR-gamma is a major driver of the accumulation and phenotype of adipose tissue Treg cells. Nature. 2012;486(7404):549-53.

 Divoux A, Clement K. Architecture and the extracellular matrix: the still unappreciated components of the adipose tissue. Obes Rev. 2011;12(5):e494-503.
 Bonnans C, Chou J, Werb Z. Remodelling the extracellular matrix in development and

disease. Nat Rev Mol Cell Biol. 2014;15(12):786-801.

120. Hynes RO. Stretching the boundaries of extracellular matrix research. Nat Rev Mol Cell Biol. 2014;15(12):761-3.

121. Mouw JK, Ou G, Weaver VM. Extracellular matrix assembly: a multiscale deconstruction. Nat Rev Mol Cell Biol. 2014;15(12):771-85.

122. Mariman EC, Wang P. Adipocyte extracellular matrix composition, dynamics and role in obesity. Cell Mol Life Sci. 2010;67(8):1277-92.

123. Khan T, Muise ES, Iyengar P, Wang ZV, Chandalia M, Abate N, et al. Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis: role of collagen VI. Mol Cell Biol. 2009;29(6):1575-91.

124. Muona P, Jaakkola S, Zhang RZ, Pan TC, Pelliniemi L, Risteli L, et al. Hyperglycemic glucose concentrations up-regulate the expression of type VI collagen in vitro. Relevance to alterations of peripheral nerves in diabetes mellitus. Am J Pathol. 1993;142(5):1586-97.

125. Berria R, Wang L, Richardson DK, Finlayson J, Belfort R, Pratipanawatr T, et al. Increased collagen content in insulin-resistant skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2006;290(3):E560-5.

126. Park J, Scherer PE. Adipocyte-derived endotrophin promotes malignant tumor progression. J Clin Invest. 2012;122(11):4243-56.

127. Sun K, Park J, Gupta OT, Holland WL, Auerbach P, Zhang N, et al. Endotrophin triggers adipose tissue fibrosis and metabolic dysfunction. Nat Commun. 2014;5:3485.

Scherer PE, Bickel PE, Kotler M, Lodish HF. Cloning of cell-specific secreted and surface proteins by subtractive antibody screening. Nat Biotechnol. 1998;16(6):581-6.
Poitou C. DE, Clément K. . Inflammation du tissu adipeux au cours de l'obésité. Physiologie et physiopathologie du tissu adipeux Springer, Paris. 2013.

130. Spencer M, Unal R, Zhu B, Rasouli N, McGehee RE, Jr., Peterson CA, et al. Adipose tissue extracellular matrix and vascular abnormalities in obesity and insulin resistance. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96(12):E1990-8.

131. Mecham RP. Overview of extracellular matrix. Curr Protoc Cell Biol. 2012;Chapter 10:Unit 10 1.

132. Praillet C, Grimaud J, Lortat-Jacob H. Les protéoglycanes. (I) Molécules aux multiples fonctions... futures molécules thérapeutiques ? Med Sci (Paris). 1998;Vol. 14, N° 4; p.412-20.

133. JJ F, A B. La crinopexie : un modèle décrivant les mécanismes qui régissent la biodisponibilité des facteurs de croissance. Med Sci (Paris). 1992;8 : 805-10.

134. Yamaguchi Y, Mann DM, Ruoslahti E. Negative regulation of transforming growth factor-beta by the proteoglycan decorin. Nature. 1990;346(6281):281-4.

135. Schultz GS, Wysocki A. Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. Wound Repair Regen. 2009;17(2):153-62.

136. Campbell ID, Humphries MJ. Integrin structure, activation, and interactions. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2011;3(3).

137. Kechagia JZ, Ivaska J, Roca-Cusachs P. Integrins as biomechanical sensors of the microenvironment. Nat Rev Mol Cell Biol. 2019;20(8):457-73.

138. Bornstein P. Matricellular proteins: an overview. J Cell Commun Signal. 2009;3(3-4):163-5.

139. Wong SL, Sukkar MB. The SPARC protein: an overview of its role in lung cancer and pulmonary fibrosis and its potential role in chronic airways disease. Br J Pharmacol. 2017;174(1):3-14.

140. Kos K, Wong S, Tan B, Gummesson A, Jernas M, Franck N, et al. Regulation of the fibrosis and angiogenesis promoter SPARC/osteonectin in human adipose tissue by weight change, leptin, insulin, and glucose. Diabetes. 2009;58(8):1780-8.

141. Lee SH, Lee JA, Park HS, Song YS, Jang YJ, Kim JH, et al. Associations among SPARC mRNA expression in adipose tissue, serum SPARC concentration and metabolic parameters in Korean women. Obesity (Silver Spring). 2013;21(11):2296-302.

142. Varma V, Yao-Borengasser A, Bodles AM, Rasouli N, Phanavanh B, Nolen GT, et al. Thrombospondin-1 is an adipokine associated with obesity, adipose inflammation, and insulin resistance. Diabetes. 2008;57(2):432-9.

143. Frangogiannis NG. Matricellular proteins in cardiac adaptation and disease. Physiol Rev. 2012;92(2):635-88.

144. Pierleoni C, Verdenelli F, Castellucci M, Cinti S. Fibronectins and basal lamina molecules expression in human subcutaneous white adipose tissue. Eur J Histochem. 1998;42(3):183-8.

145. Chun TH. Peri-adipocyte ECM remodeling in obesity and adipose tissue fibrosis. Adipocyte. 2012;1(2):89-95.

146. Cawston TE, Young DA. Proteinases involved in matrix turnover during cartilage and bone breakdown. Cell Tissue Res. 2010;339(1):221-35.

147. Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research. Mol Aspects Med. 2008;29(5):290-308.

148. Willumsen N, Bager C, Karsdal MA. Matrix Metalloprotease Generated Fragments of Type VI Collagen Have Serum Biomarker Potential in Cancer – A Proof of Concept Study. Translational Oncology. 2019;12(5):693-8.

149. Holm Nielsen S, Mortensen JH, Willumsen N, Rasmussen DGK, Mogensen DJ, Di Sabatino A, et al. A Fragment of Collagen Type VI alpha-3 chain is Elevated in Serum from Patients with Gastrointestinal Disorders. Sci Rep. 2020;10(1):5910.

150. Lin, Chun TH, Kang L. Adipose extracellular matrix remodelling in obesity and insulin resistance. Biochem Pharmacol. 2016;119:8-16.

151. Li X, Zhao Y, Chen C, Yang L, Lee HH, Wang Z, et al. Critical Role of Matrix Metalloproteinase 14 in Adipose Tissue Remodeling during Obesity. Mol Cell Biol. 2020;40(8).

152. Gabison EE, Hoang-Xuan T, Mauviel A, Menashi S. [Metalloproteinases and angiogenesis]. Pathol Biol (Paris). 2003;51(3):161-6.

153. Bergers G, Brekken R, McMahon G, Vu TH, Itoh T, Tamaki K, et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. Nat Cell Biol. 2000;2(10):737-44.

154. Lo PH, Lung HL, Cheung AK, Apte SS, Chan KW, Kwong FM, et al. Extracellular protease ADAMTS9 suppresses esophageal and nasopharyngeal carcinoma tumor formation by inhibiting angiogenesis. Cancer Res. 2010;70(13):5567-76.

155. Ojima K, Oe M, Nakajima I, Muroya S, Nishimura T. Dynamics of protein secretion during adipocyte differentiation. FEBS Open Bio. 2016;6(8):816-26.

156. Nakajima I, Muroya S, Tanabe R, Chikuni K. Positive effect of collagen V and VI on triglyceride accumulation during differentiation in cultures of bovine intramuscular adipocytes. Differentiation. 2002;70(2-3):84-91.

157. Chun TH, Hotary KB, Sabeh F, Saltiel AR, Allen ED, Weiss SJ. A pericellular collagenase directs the 3-dimensional development of white adipose tissue. Cell. 2006;125(3):577-91.

158. Schlessinger J, Plotnikov AN, Ibrahimi OA, Eliseenkova AV, Yeh BK, Yayon A, et al. Crystal structure of a ternary FGF-FGFR-heparin complex reveals a dual role for heparin in FGFR binding and dimerization. Mol Cell. 2000;6(3):743-50.

159. Gospodarowicz D, Cheng J. Heparin protects basic and acidic FGF from inactivation. J Cell Physiol. 1986;128(3):475-84.

160. Ortega N, L'Faqihi FE, Plouet J. Control of vascular endothelial growth factor angiogenic activity by the extracellular matrix. Biol Cell. 1998;90(5):381-90.

161. Maquart FX, Simeon A, Pasco S, Monboisse JC. [Regulation of cell activity by the extracellular matrix: the concept of matrikines]. J Soc Biol. 1999;193(4-5):423-8.

162. Tran KT, Lamb P, Deng JS. Matrikines and matricryptins: Implications for cutaneous cancers and skin repair. J Dermatol Sci. 2005;40(1):11-20.

163. Blaise S, Romier B, Kawecki C, Ghirardi M, Rabenoelina F, Baud S, et al. Elastinderived peptides are new regulators of insulin resistance development in mice. Diabetes. 2013;62(11):3807-16.

164. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. Cell. 1997;88(2):277-85.

165. Jaalouk DE, Lammerding J. Mechanotransduction gone awry. Nat Rev Mol Cell Biol. 2009;10(1):63-73.

166. Mierke CT, Frey B, Fellner M, Herrmann M, Fabry B. Integrin alpha5beta1 facilitates cancer cell invasion through enhanced contractile forces. J Cell Sci. 2011;124(Pt 3):369-83.

167. Kren A, Baeriswyl V, Lehembre F, Wunderlin C, Strittmatter K, Antoniadis H, et al. Increased tumor cell dissemination and cellular senescence in the absence of beta1-integrin function. EMBO J. 2007;26(12):2832-42.

168. Hausman GJ, Richardson RL. Adipose tissue angiogenesis. J Anim Sci. 2004;82(3):925-34.

169. Christiaens V, Lijnen HR. Angiogenesis and development of adipose tissue. Mol Cell Endocrinol. 2010;318(1-2):2-9.

170. Ramakrishnan VM, Boyd NL. The Adipose Stromal Vascular Fraction as a Complex Cellular Source for Tissue Engineering Applications. Tissue Eng Part B Rev. 2018;24(4):289-99.

171. Madri JA, Williams SK. Capillary endothelial cell cultures: phenotypic modulation by matrix components. J Cell Biol. 1983;97(1):153-65.

172. Panina YA, Yakimov AS, Komleva YK, Morgun AV, Lopatina OL, Malinovskaya NA, et al. Plasticity of Adipose Tissue-Derived Stem Cells and Regulation of Angiogenesis. Front Physiol. 2018;9:1656.

173. Cao Y. Angiogenesis modulates adipogenesis and obesity. J Clin Invest. 2007;117(9):2362-8.

174. Hausman GJ, Kauffman RG. The histology of developing porcine adipose tissue. J Anim Sci. 1986;63(2):642-58.

175. Gupta RK, Mepani RJ, Kleiner S, Lo JC, Khandekar MJ, Cohen P, et al. Zfp423 expression identifies committed preadipocytes and localizes to adipose endothelial and perivascular cells. Cell Metab. 2012;15(2):230-9.

176. Tang W, Zeve D, Suh JM, Bosnakovski D, Kyba M, Hammer RE, et al. White fat progenitor cells reside in the adipose vasculature. Science. 2008;322(5901):583-6.

177. Lee TJ, Bhang SH, Yang HS, La WG, Yoon HH, Shin JY, et al. Enhancement of long-term angiogenic efficacy of adipose stem cells by delivery of FGF2. Microvasc Res. 2012;84(1):1-8.
178. Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. Mol Cell Endocrinol. 2010;316(2):129-39.

179. Coleman RA, Lewin TM, Muoio DM. Physiological and nutritional regulation of enzymes of triacylglycerol synthesis. Annu Rev Nutr. 2000;20:77-103.

180. Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. J Lipid Res. 1996;37(4):693-707.

181. Eckel RH. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. N Engl J Med. 1989;320(16):1060-8.

182. Beigneux AP, Davies BS, Bensadoun A, Fong LG, Young SG. GPIHBP1, a GPI-anchored protein required for the lipolytic processing of triglyceride-rich lipoproteins. J Lipid Res. 2009;50 Suppl:S57-62.

183. Thompson BR, Lobo S, Bernlohr DA. Fatty acid flux in adipocytes: the in's and out's of fat cell lipid trafficking. Mol Cell Endocrinol. 2010;318(1-2):24-33.

184. Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, Schoiswohl G, Birner-Gruenberger R, Riederer M, et al. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. Science. 2004;306(5700):1383-6.

185. Furuhashi M, Hotamisligil GS. Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. Nat Rev Drug Discov. 2008;7(6):489-503.

186. Lafontan M, Langin D. Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. Prog Lipid Res. 2009;48(5):275-97.

187. Langin D, Dicker A, Tavernier G, Hoffstedt J, Mairal A, Ryden M, et al. Adipocyte lipases and defect of lipolysis in human obesity. Diabetes. 2005;54(11):3190-7.

188. Jenkins CM, Mancuso DJ, Yan W, Sims HF, Gibson B, Gross RW. Identification, cloning, expression, and purification of three novel human calcium-independent phospholipase A2 family members possessing triacylglycerol lipase and acylglycerol transacylase activities. J Biol Chem. 2004;279(47):48968-75.

189. Sengenes C, Berlan M, De Glisezinski I, Lafontan M, Galitzky J. Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human adipocytes. FASEB J. 2000;14(10):1345-51.

190. Cohen P, Friedman JM. Leptin and the control of metabolism: role for stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1). J Nutr. 2004;134(9):2455S-63S.

191. Bluher M, Mantzoros CS. From leptin to other adipokines in health and disease: facts and expectations at the beginning of the 21st century. Metabolism. 2015;64(1):131-45.

192. Bluher M. Adipose tissue dysfunction in obesity. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2009;117(6):241-50.

193. Charchour R, Dufour-Rainfray D, Morineau G, Vatier C, Fellahi S, Vigouroux C, et al. [Mutltifaceted biological roles of leptin]. Ann Biol Clin (Paris). 2020;78(3):231-42.

194. Hoggard N, Mercer JG, Rayner DV, Moar K, Trayhurn P, Williams LM. Localization of leptin receptor mRNA splice variants in murine peripheral tissues by RT-PCR and in situ hybridization. Biochem Biophys Res Commun. 1997;232(2):383-7.

195. Andreoli MF, Donato J, Cakir I, Perello M. Leptin resensitisation: a reversion of leptinresistant states. J Endocrinol. 2019;241(3):R81-R96. 196. Ando S, Gelsomino L, Panza S, Giordano C, Bonofiglio D, Barone I, et al. Obesity, Leptin and Breast Cancer: Epidemiological Evidence and Proposed Mechanisms. Cancers (Basel). 2019;11(1).

197. Garofalo C, Koda M, Cascio S, Sulkowska M, Kanczuga-Koda L, Golaszewska J, et al. Increased expression of leptin and the leptin receptor as a marker of breast cancer

progression: possible role of obesity-related stimuli. Clin Cancer Res. 2006;12(5):1447-53.
198. Sanchez-Jimenez F, Perez-Perez A, de la Cruz-Merino L, Sanchez-Margalet V. Obesity and Breast Cancer: Role of Leptin. Front Oncol. 2019;9:596.

199. Choi J, Cha YJ, Koo JS. Adipocyte biology in breast cancer: From silent bystander to active facilitator. Prog Lipid Res. 2018;69:11-20.

200. Basaria S, Muller DC, Carducci MA, Egan J, Dobs AS. Hyperglycemia and insulin resistance in men with prostate carcinoma who receive androgen-deprivation therapy. Cancer. 2006;106(3):581-8.

201. Habib CN, Al-Abd AM, Tolba MF, Khalifa AE, Khedr A, Mosli HA, et al. Leptin influences estrogen metabolism and accelerates prostate cell proliferation. Life Sci. 2015;121:10-5.

202. Noda T, Kikugawa T, Tanji N, Miura N, Asai S, Higashiyama S, et al. Longterm exposure to leptin enhances the growth of prostate cancer cells. Int J Oncol. 2015;46(4):1535-42.
203. Sarmento-Cabral A, F LL, Luque RM. Adipokines and Their Receptors Are Widely

Expressed and Distinctly Regulated by the Metabolic Environment in the Prostate of Male Mice: Direct Role Under Normal and Tumoral Conditions. Endocrinology. 2017;158(10):3540-52.

204. Philp LK, Rockstroh A, Sadowski MC, Taherian Fard A, Lehman M, Tevz G, et al. Leptin antagonism inhibits prostate cancer xenograft growth and progression. Endocr Relat Cancer. 2021;28(5):353-75.

205. Cuerq C, Morineau G, Dufour-Rainfray D, Vatier C, Fellahi S, Vigouroux C, et al.
[Mutltifaceted biological roles of adiponectin]. Ann Biol Clin (Paris). 2020;78(3):243-52.
206. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. 1999. Biochem Biophys Res Commun. 2012;425(3):560-4.

207. Staiger H, Tschritter O, Machann J, Thamer C, Fritsche A, Maerker E, et al. Relationship of serum adiponectin and leptin concentrations with body fat distribution in humans. Obes Res. 2003;11(3):368-72.

208. Ouedraogo R, Wu X, Xu SQ, Fuchsel L, Motoshima H, Mahadev K, et al. Adiponectin suppression of high-glucose-induced reactive oxygen species in vascular endothelial cells: evidence for involvement of a cAMP signaling pathway. Diabetes. 2006;55(6):1840-6.

209. Wei T, Ye P, Peng X, Wu LL, Yu GY. Circulating adiponectin levels in various malignancies: an updated meta-analysis of 107 studies. Oncotarget. 2016;7(30):48671-91.
210. Ohbuchi Y, Suzuki Y, Hatakeyama I, Nakao Y, Fujito A, Iwasaka T, et al. A lower serum

level of middle-molecular-weight adiponectin is a risk factor for endometrial cancer. Int J Clin Oncol. 2014;19(4):667-73.

211. Liao LM, Schwartz K, Pollak M, Graubard BI, Li Z, Ruterbusch J, et al. Serum leptin and adiponectin levels and risk of renal cell carcinoma. Obesity (Silver Spring). 2013;21(7):1478-85.

212. Di Zazzo E, Polito R, Bartollino S, Nigro E, Porcile C, Bianco A, et al. Adiponectin as Link Factor between Adipose Tissue and Cancer. Int J Mol Sci. 2019;20(4).

213. Burton AJ, Gilbert R, Tilling K, Langdon R, Donovan JL, Holly JMP, et al. Circulating adiponectin and leptin and risk of overall and aggressive prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. Sci Rep. 2021;11(1):320.

214. Philp LK, Rockstroh A, Lehman M, Sadowski MC, Bartonicek N, Wade JD, et al. Adiponectin receptor activation inhibits prostate cancer xenograft growth. Endocr Relat Cancer. 2020;27(12):711-29.

215. Wang X, Lin Y. Tumor necrosis factor and cancer, buddies or foes? Acta Pharmacol Sin. 2008;29(11):1275-88.

216. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. Cell. 2001;104(4):487-501.

217. Diaz Arguello OA, Haisma HJ. Apoptosis-Inducing TNF Superfamily Ligands for Cancer Therapy. Cancers (Basel). 2021;13(7).

218. Zhou J, Chen H, Wu Y, Shi B, Ding J, Qi J. Plasma IL-6 and TNF-alpha levels correlate significantly with grading changes in localized prostate cancer. Prostate. 2022.

219. Michalaki V, Syrigos K, Charles P, Waxman J. Serum levels of IL-6 and TNF-alpha correlate with clinicopathological features and patient survival in patients with prostate cancer. Br J Cancer. 2004;90(12):2312-6.

220. Sharma J, Gray KP, Harshman LC, Evan C, Nakabayashi M, Fichorova R, et al. Elevated IL-8, TNF-alpha, and MCP-1 in men with metastatic prostate cancer starting androgendeprivation therapy (ADT) are associated with shorter time to castration-resistance and overall survival. Prostate. 2014;74(8):820-8.

221. Nunes JJ, Pandey SK, Yadav A, Goel S, Ateeq B. Targeting NF-kappa B Signaling by Artesunate Restores Sensitivity of Castrate-Resistant Prostate Cancer Cells to Antiandrogens. Neoplasia. 2017;19(4):333-45.

222. Hodge DR, Hurt EM, Farrar WL. The role of IL-6 and STAT3 in inflammation and cancer. Eur J Cancer. 2005;41(16):2502-12.

223. Song M, Kellum JA. Interleukin-6. Crit Care Med. 2005;33(12 Suppl):S463-5.

224. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. N Engl J Med. 2000;342(12):836-43.

225. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. JAMA. 2001;286(3):327-34.

226. Alexandrakis MG, Passam FH, Pappa CA, Dambaki C, Sfakiotaki G, Alegakis AK, et al. Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in multiple myeloma: its relationship to bone marrow microvessel density and other factors of disease activity. Int J Immunopathol Pharmacol. 2004;17(1):49-56.

227. Andrews B, Shariat SF, Kim JH, Wheeler TM, Slawin KM, Lerner SP. Preoperative plasma levels of interleukin-6 and its soluble receptor predict disease recurrence and survival of patients with bladder cancer. J Urol. 2002;167(3):1475-81.

228. Heikkila K, Ebrahim S, Lawlor DA. Systematic review of the association between circulating interleukin-6 (IL-6) and cancer. Eur J Cancer. 2008;44(7):937-45.

229. Culig Z, Steiner H, Bartsch G, Hobisch A. Interleukin-6 regulation of prostate cancer cell growth. J Cell Biochem. 2005;95(3):497-505.

230. Malinowska K, Neuwirt H, Cavarretta IT, Bektic J, Steiner H, Dietrich H, et al. Interleukin-6 stimulation of growth of prostate cancer in vitro and in vivo through activation of the androgen receptor. Endocr Relat Cancer. 2009;16(1):155-69. 231. Sillen M, Declerck PJ. A Narrative Review on Plasminogen Activator Inhibitor-1 and Its (Patho)Physiological Role: To Target or Not to Target? Int J Mol Sci. 2021;22(5).

232. Kimura S, D'Andrea D, Iwata T, Foerster B, Janisch F, Parizi MK, et al. Expression of urokinase-type plasminogen activator system in non-metastatic prostate cancer. World J Urol. 2020;38(10):2501-11.

233. Gupta A, Lotan Y, Ashfaq R, Roehrborn CG, Raj GV, Aragaki CC, et al. Predictive value of the differential expression of the urokinase plasminogen activation axis in radical prostatectomy patients. Eur Urol. 2009;55(5):1124-33.

234. Tchernof A, Mansour MF, Pelletier M, Boulet MM, Nadeau M, Luu-The V. Updated survey of the steroid-converting enzymes in human adipose tissues. J Steroid Biochem Mol Biol. 2015;147:56-69.

235. Tchernof A, Mansour MF, Pelletier M, Boulet M-M, Nadeau M, Luu-The V. Updated survey of the steroid-converting enzymes in human adipose tissues. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. 2015;147:56-69.

236. Blouin K, Boivin A, Tchernof A. Androgens and body fat distribution. J Steroid Biochem Mol Biol. 2008;108(3-5):272-80.

237. Blouin K, Nadeau M, Perreault M, Veilleux A, Drolet R, Marceau P, et al. Effects of androgens on adipocyte differentiation and adipose tissue explant metabolism in men and women. Clin Endocrinol (Oxf). 2010;72(2):176-88.

238. Tsai EC, Matsumoto AM, Fujimoto WY, Boyko EJ. Association of bioavailable, free, and total testosterone with insulin resistance: influence of sex hormone-binding globulin and body fat. Diabetes Care. 2004;27(4):861-8.

239. Seidell JC, Bjorntorp P, Sjostrom L, Kvist H, Sannerstedt R. Visceral fat accumulation in men is positively associated with insulin, glucose, and C-peptide levels, but negatively with testosterone levels. Metabolism. 1990;39(9):897-901.

240. Pasquali R, Casimirri F, Cantobelli S, Melchionda N, Morselli Labate AM, Fabbri R, et al. Effect of obesity and body fat distribution on sex hormones and insulin in men. Metabolism. 1991;40(1):101-4.

241. Upreti R, Hughes KA, Livingstone DE, Gray CD, Minns FC, Macfarlane DP, et al. 5alphareductase type 1 modulates insulin sensitivity in men. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99(8):E1397-406.

242. Rebuffe-Scrive M, Marin P, Bjorntorp P. Effect of testosterone on abdominal adipose tissue in men. Int J Obes. 1991;15(11):791-5.

243. Hernandez-Morante JJ, Perez-de-Heredia F, Lujan JA, Zamora S, Garaulet M. Role of DHEA-S on body fat distribution: gender- and depot-specific stimulation of adipose tissue lipolysis. Steroids. 2008;73(2):209-15.

244. Xu XF, De Pergola G, Bjorntorp P. Testosterone increases lipolysis and the number of beta-adrenoceptors in male rat adipocytes. Endocrinology. 1991;128(1):379-82.

245. Pecquery R, Leneveu MC, Giudicelli Y. Influence of androgenic status on the alpha 2/beta-adrenergic control of lipolysis in white fat cells: predominant alpha 2-antilipolytic response in testosterone-treated-castrated hamsters. Endocrinology. 1988;122(6):2590-6.

246. Anderson LA, McTernan PG, Harte AL, Barnett AH, Kumar S. The regulation of HSL and LPL expression by DHT and flutamide in human subcutaneous adipose tissue. Diabetes Obes Metab. 2002;4(3):209-13.

247. Lanfranco F, Zitzmann M, Simoni M, Nieschlag E. Serum adiponectin levels in hypogonadal males: influence of testosterone replacement therapy. Clin Endocrinol (Oxf). 2004;60(4):500-7.

248. Jockenhovel F, Blum WF, Vogel E, Englaro P, Muller-Wieland D, Reinwein D, et al. Testosterone substitution normalizes elevated serum leptin levels in hypogonadal men. J Clin Endocrinol Metab. 1997;82(8):2510-3.

249. Malkin CJ, Pugh PJ, Jones RD, Kapoor D, Channer KS, Jones TH. The effect of testosterone replacement on endogenous inflammatory cytokines and lipid profiles in hypogonadal men. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89(7):3313-8.

250. Sanchez-Garrido MA, Tena-Sempere M. Metabolic dysfunction in polycystic ovary syndrome: Pathogenic role of androgen excess and potential therapeutic strategies. Mol Metab. 2020;35:100937.

251. Dhindsa S, Miller MG, McWhirter CL, Mager DE, Ghanim H, Chaudhuri A, et al. Testosterone concentrations in diabetic and nondiabetic obese men. Diabetes Care. 2010;33(6):1186-92.

252. Dandona P, Dhindsa S, Chaudhuri A, Bhatia V, Topiwala S, Mohanty P. Hypogonadotrophic hypogonadism in type 2 diabetes, obesity and the metabolic syndrome. Curr Mol Med. 2008;8(8):816-28.

253. Dhindsa S, Ghanim H, Batra M, Dandona P. Hypogonadotropic Hypogonadism in Men With Diabesity. Diabetes Care. 2018;41(7):1516-25.

254. Wawrzkiewicz-Jalowiecka A, Lalik A, Soveral G. Recent Update on the Molecular Mechanisms of Gonadal Steroids Action in Adipose Tissue. Int J Mol Sci. 2021;22(10).

255. Deslypere JP, Verdonck L, Vermeulen A. Fat tissue: a steroid reservoir and site of steroid metabolism. J Clin Endocrinol Metab. 1985;61(3):564-70.

256. Russell DW, Wilson JD. Steroid 5 alpha-reductase: two genes/two enzymes. Annu Rev Biochem. 1994;63:25-61.

257. Belanger C, Luu-The V, Dupont P, Tchernof A. Adipose tissue intracrinology: potential importance of local androgen/estrogen metabolism in the regulation of adiposity. Horm Metab Res. 2002;34(11-12):737-45.

258. Cleland WH, Mendelson CR, Simpson ER. Aromatase activity of membrane fractions of human adipose tissue stromal cells and adipocytes. Endocrinology. 1983;113(6):2155-60.
259. Xu X, Sun M, Ye J, Luo D, Su X, Zheng D, et al. The Effect of Aromatase on the

Reproductive Function of Obese Males. Horm Metab Res. 2017;49(8):572-9. 260. Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, Ren H, Kabigting EB, Kuijper JL, et al. I

260. Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, Ren H, Kabigting EB, Kuijper JL, et al. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. Endocrinology. 1996;137(7):3144-7.

261. Mounzih K, Lu R, Chehab FF. Leptin treatment rescues the sterility of genetically obese ob/ob males. Endocrinology. 1997;138(3):1190-3.

262. Mammi C, Calanchini M, Antelmi A, Cinti F, Rosano GM, Lenzi A, et al. Androgens and adipose tissue in males: a complex and reciprocal interplay. Int J Endocrinol. 2012;2012:789653.

263. Caprio M, Isidori AM, Carta AR, Moretti C, Dufau ML, Fabbri A. Expression of functional leptin receptors in rodent Leydig cells. Endocrinology. 1999;140(11):4939-47.
264. Pardridge WM. Serum bioavailability of sex steroid hormones. Clin Endocrinol Metab. 1986;15(2):259-78.

265. Pasquali R, Casimirri F, De Iasio R, Mesini P, Boschi S, Chierici R, et al. Insulin regulates testosterone and sex hormone-binding globulin concentrations in adult normal weight and obese men. J Clin Endocrinol Metab. 1995;80(2):654-8.

266. Yuxin L, Chen L, Xiaoxia L, Yue L, Junjie L, Youzhu L, et al. Research Progress on the Relationship between Obesity-Inflammation-Aromatase Axis and Male Infertility. Oxid Med Cell Longev. 2021;2021:6612796.

267. OMS. Obesity and overweight. 2021.

268. Zhang FL, Ren JX, Zhang P, Jin H, Qu Y, Yu Y, et al. Strong Association of Waist Circumference (WC), Body Mass Index (BMI), Waist-to-Height Ratio (WHR), and Waist-to-Hip Ratio (WHR) with Diabetes: A Population-Based Cross-Sectional Study in Jilin Province, China. J Diabetes Res. 2021;2021:8812431.

269. Hausman DB, DiGirolamo M, Bartness TJ, Hausman GJ, Martin RJ. The biology of white adipocyte proliferation. Obes Rev. 2001;2(4):239-54.

270. Jo J, Gavrilova O, Pack S, Jou W, Mullen S, Sumner AE, et al. Hypertrophy and/or Hyperplasia: Dynamics of Adipose Tissue Growth. PLoS Comput Biol. 2009;5(3):e1000324.

271. Wueest S, Rapold RA, Rytka JM, Schoenle EJ, Konrad D. Basal lipolysis, not the degree of insulin resistance, differentiates large from small isolated adipocytes in high-fat fed mice. Diabetologia. 2009;52(3):541-6.

272. Jernas M, Palming J, Sjoholm K, Jennische E, Svensson PA, Gabrielsson BG, et al. Separation of human adipocytes by size: hypertrophic fat cells display distinct gene expression. FASEB J. 2006;20(9):1540-2.

273. Kanda H, Tateya S, Tamori Y, Kotani K, Hiasa K, Kitazawa R, et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. J Clin Invest. 2006;116(6):1494-505.

274. Weisberg SP, Hunter D, Huber R, Lemieux J, Slaymaker S, Vaddi K, et al. CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. J Clin Invest. 2006;116(1):115-24.

275. Strissel KJ, Stancheva Z, Miyoshi H, Perfield JW, 2nd, DeFuria J, Jick Z, et al. Adipocyte death, adipose tissue remodeling, and obesity complications. Diabetes. 2007;56(12):2910-8.
276. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. J Lipid Res. 2005;46(11):2347-55.

277. Garcia-Martinez I, Shaker ME, Mehal WZ. Therapeutic Opportunities in Damage-Associated Molecular Pattern-Driven Metabolic Diseases. Antioxid Redox Signal. 2015;23(17):1305-15.

278. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M, et al. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. Nat Med. 2009;15(8):914-20.

279. Duffaut C, Galitzky J, Lafontan M, Bouloumie A. Unexpected trafficking of immune cells within the adipose tissue during the onset of obesity. Biochem Biophys Res Commun. 2009;384(4):482-5.

280. Cho CH, Koh YJ, Han J, Sung HK, Jong Lee H, Morisada T, et al. Angiogenic role of LYVE-1-positive macrophages in adipose tissue. Circ Res. 2007;100(4):e47-57.

281. Kabon B, Nagele A, Reddy D, Eagon C, Fleshman JW, Sessler DI, et al. Obesity decreases perioperative tissue oxygenation. Anesthesiology. 2004;100(2):274-80.

282. Virtanen KA, Lonnroth P, Parkkola R, Peltoniemi P, Asola M, Viljanen T, et al. Glucose uptake and perfusion in subcutaneous and visceral adipose tissue during insulin stimulation in nonobese and obese humans. J Clin Endocrinol Metab. 2002;87(8):3902-10.

283. Pasarica M, Sereda OR, Redman LM, Albarado DC, Hymel DT, Roan LE, et al. Reduced adipose tissue oxygenation in human obesity: evidence for rarefaction, macrophage chemotaxis, and inflammation without an angiogenic response. Diabetes. 2009;58(3):718-25.

284. Zhang L, Ebenezer PJ, Dasuri K, Fernandez-Kim SO, Francis J, Mariappan N, et al. Aging is associated with hypoxia and oxidative stress in adipose tissue: implications for adipose function. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2011;301(4):E599-607.

285. Ye J, Gao Z, Yin J, He Q. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2007;293(4):E1118-28.

286. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. Br J Nutr. 2004;92(3):347-55.

287. Brahimi-Horn MC, Chiche J, Pouyssegur J. Hypoxia signalling controls metabolic demand. Curr Opin Cell Biol. 2007;19(2):223-9.

288. Cao Y. Angiogenesis and vascular functions in modulation of obesity, adipose metabolism, and insulin sensitivity. Cell Metab. 2013;18(4):478-89.

289. Fernando R, Wardelmann K, Deubel S, Kehm R, Jung T, Mariotti M, et al. Low steadystate oxidative stress inhibits adipogenesis by altering mitochondrial dynamics and decreasing cellular respiration. Redox Biol. 2020;32:101507.

290. Bell LN, Ward JL, Degawa-Yamauchi M, Bovenkerk JE, Jones R, Cacucci BM, et al. Adipose tissue production of hepatocyte growth factor contributes to elevated serum HGF in obesity. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2006;291(4):E843-8.

291. Jang JE, Ko MS, Yun JY, Kim MO, Kim JH, Park HS, et al. Nitric Oxide Produced by Macrophages Inhibits Adipocyte Differentiation and Promotes Profibrogenic Responses in Preadipocytes to Induce Adipose Tissue Fibrosis. Diabetes. 2016;65(9):2516-28.

292. Gothié E, Pouysségur J. HIF-1 : régulateur central de l'hypoxie. Med Sci (Paris). 2002;18(1):70-8.

293. Halberg N, Khan T, Trujillo ME, Wernstedt-Asterholm I, Attie AD, Sherwani S, et al. Hypoxia-inducible factor 1alpha induces fibrosis and insulin resistance in white adipose tissue. Mol Cell Biol. 2009;29(16):4467-83.

294. Lee YS, Kim JW, Osborne O, Oh DY, Sasik R, Schenk S, et al. Increased adipocyte O2 consumption triggers HIF-1alpha, causing inflammation and insulin resistance in obesity. Cell. 2014;157(6):1339-52.

295. Trayhurn P. Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity. Physiological reviews. 2013;93 1:1-21.

296. Vila IK, Badin PM, Marques MA, Monbrun L, Lefort C, Mir L, et al. Immune cell Tolllike receptor 4 mediates the development of obesity- and endotoxemia-associated adipose tissue fibrosis. Cell Rep. 2014;7(4):1116-29.

297. Lancaster GI, Langley KG, Berglund NA, Kammoun HL, Reibe S, Estevez E, et al. Evidence that TLR4 Is Not a Receptor for Saturated Fatty Acids but Mediates Lipid-Induced Inflammation by Reprogramming Macrophage Metabolism. Cell Metab. 2018;27(5):1096-110 e5.

298. Kirkland JL, Tchkonia T, Pirtskhalava T, Han J, Karagiannides I. Adipogenesis and aging: does aging make fat go MAD? Exp Gerontol. 2002;37(6):757-67.

299. Franceschi C. Inflammaging as a major characteristic of old people: can it be prevented or cured? Nutr Rev. 2007;65(12 Pt 2):S173-6.

300. Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2014;69 Suppl 1:S4-9.
301. Prentice AM, Jebb SA. Beyond body mass index. Obes Rev. 2001;2(3):141-7.

302. Rossi AP, Fantin F, Zamboni GA, Mazzali G, Rinaldi CA, Del Giglio M, et al. Predictors of ectopic fat accumulation in liver and pancreas in obese men and women. Obesity (Silver Spring). 2011;19(9):1747-54.

303. Stout MB, Justice JN, Nicklas BJ, Kirkland JL. Physiological Aging: Links Among Adipose Tissue Dysfunction, Diabetes, and Frailty. Physiology (Bethesda). 2017;32(1):9-19.

304. Findeisen HM, Pearson KJ, Gizard F, Zhao Y, Qing H, Jones KL, et al. Oxidative stress accumulates in adipose tissue during aging and inhibits adipogenesis. PLoS One. 2011;6(4):e18532.

305. Lumeng CN, Liu J, Geletka L, Delaney C, Delproposto J, Desai A, et al. Aging is associated with an increase in T cells and inflammatory macrophages in visceral adipose tissue. J Immunol. 2011;187(12):6208-16.

306. Yu YH, Zhu H. Chronological changes in metabolism and functions of cultured adipocytes: a hypothesis for cell aging in mature adipocytes. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2004;286(3):E402-10.

307. Carter S, Caron A, Richard D, Picard F. Role of leptin resistance in the development of obesity in older patients. Clin Interv Aging. 2013;8:829-44.

308. Gabriely I, Ma XH, Yang XM, Rossetti L, Barzilai N. Leptin resistance during aging is independent of fat mass. Diabetes. 2002;51(4):1016-21.

309. Zoico E, Di Francesco V, Bissoli L, Mazzali G, Fontana G, Giuliano K, et al. Interrelationships between leptin resistance, body composition, and aging in elderly women. J Am Geriatr Soc. 2008;56(9):1768-9.

310. Garg SK, Delaney C, Shi H, Yung R. Changes in adipose tissue macrophages and T cells during aging. Crit Rev Immunol. 2014;34(1):1-14.

311. Kalathookunnel Antony A, Lian Z, Wu H. T Cells in Adipose Tissue in Aging. Front Immunol. 2018;9:2945.

312. Zamboni M, Nori N, Brunelli A, Zoico E. How does adipose tissue contribute to inflammageing? Exp Gerontol. 2021;143:111162.

313. Tchkonia T, Morbeck DE, Von Zglinicki T, Van Deursen J, Lustgarten J, Scrable H, et al. Fat tissue, aging, and cellular senescence. Aging Cell. 2010;9(5):667-84.

314. Wissler Gerdes EO, Zhu Y, Tchkonia T, Kirkland JL. Discovery, development, and future application of senolytics: theories and predictions. FEBS J. 2020;287(12):2418-27.

315. Tchkonia T, Zhu Y, van Deursen J, Campisi J, Kirkland JL. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. J Clin Invest. 2013;123(3):966-72.
316. Despres JP. Body fat distribution and risk of cardiovascular disease: an update. Circulation. 2012;126(10):1301-13.

317. Konishi M, Sugiyama S, Sugamura K, Nozaki T, Ohba K, Matsubara J, et al. Association of pericardial fat accumulation rather than abdominal obesity with coronary atherosclerotic plaque formation in patients with suspected coronary artery disease. Atherosclerosis. 2010;209(2):573-8.

318. Christensen RH, von Scholten BJ, Hansen CS, Jensen MT, Vilsboll T, Rossing P, et al. Epicardial adipose tissue predicts incident cardiovascular disease and mortality in patients with type 2 diabetes. Cardiovasc Diabetol. 2019;18(1):114.

319. Casteilla L, Planat-Benard V, Dehez S, De Barros S, Barreau C, Andre M. Endothelial and cardiac regeneration from adipose tissues. Methods Mol Biol. 2011;702:269-87.

320. De Munck TJI, Soeters PB, Koek GH. The role of ectopic adipose tissue: benefit or deleterious overflow? Eur J Clin Nutr. 2021;75(1):38-48.

321. Britton KA, Fox CS. Ectopic fat depots and cardiovascular disease. Circulation. 2011;124(24):e837-41.

322. Scott RA, Fall T, Pasko D, Barker A, Sharp SJ, Arriola L, et al. Common genetic variants highlight the role of insulin resistance and body fat distribution in type 2 diabetes, independent of obesity. Diabetes. 2014;63(12):4378-87.

323. Lotta LA, Gulati P, Day FR, Payne F, Ongen H, van de Bunt M, et al. Integrative genomic analysis implicates limited peripheral adipose storage capacity in the pathogenesis of human insulin resistance. Nat Genet. 2017;49(1):17-26.

324. Moreno-Indias I, Oliva-Olivera W, Omiste A, Castellano-Castillo D, Lhamyani S, Camargo A, et al. Adipose tissue infiltration in normal-weight subjects and its impact on metabolic function. Transl Res. 2016;172:6-17 e3.

325. Stefan N, Schick F, Haring HU. Causes, Characteristics, and Consequences of Metabolically Unhealthy Normal Weight in Humans. Cell Metab. 2017;26(2):292-300.

326. Ishidoya S, Endoh M, Nakagawa H, Saito S, Arai Y. Novel anatomical findings of the prostatic gland and the surrounding capsular structures in the normal prostate. Tohoku J Exp Med. 2007;212(1):55-62.

327. Yiou R, Delmas V. [Functional anatomy of the pelvic floor]. J Med Liban. 2013;61(1):4-12.

328. Miladinovic D, Cusick T, Mahon KL, Haynes AM, Cortie CH, Meyer BJ, et al. Assessment of Periprostatic and Subcutaneous Adipose Tissue Lipolysis and Adipocyte Size from Men with Localized Prostate Cancer. Cancers (Basel). 2020;12(6).

329. Dahran N, Szewczyk-Bieda M, Wei C, Vinnicombe S, Nabi G. Normalized periprostatic fat MRI measurements can predict prostate cancer aggressiveness in men undergoing radical prostatectomy for clinically localised disease. Sci Rep. 2017;7(1):4630.

330. Ribeiro R, Monteiro C, Silvestre R, Castela A, Coutinho H, Fraga A, et al. Human periprostatic white adipose tissue is rich in stromal progenitor cells and a potential source of prostate tumor stroma. Exp Biol Med (Maywood). 2012;237(10):1155-62.

331. Taussky D, Barkati M, Campeau S, Zerouali K, Nadiri A, Saad F, et al. Changes in periprostatic adipose tissue induced by 5alpha-reductase inhibitors. Andrology. 2017;5(3):511-5.

332. Nassar ZD, Aref AT, Miladinovic D, Mah CY, Raj GV, Hoy AJ, et al. Peri-prostatic adipose tissue: the metabolic microenvironment of prostate cancer. BJU Int. 2018;121 Suppl 3:9-21.

333. Estève D, Roumiguié M, Manceau C, Milhas D, Muller C. Periprostatic adipose tissue: A heavy player in prostate cancer progression. Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research. 2020;10:29-35.

334. Ribeiro R, Monteiro C, Catalan V, Hu P, Cunha V, Rodriguez A, et al. Obesity and prostate cancer: gene expression signature of human periprostatic adipose tissue. BMC Med. 2012;10:108.

335. Mangiola S, Stuchbery R, Macintyre G, Clarkson MJ, Peters JS, Costello AJ, et al. Periprostatic fat tissue transcriptome reveals a signature diagnostic for high-risk prostate cancer. Endocr Relat Cancer. 2018;25(5):569-81.

336. Zhang Q, Sun LJ, Yang ZG, Zhang GM, Huo RC. Influence of adipocytokines in periprostatic adipose tissue on prostate cancer aggressiveness. Cytokine. 2016;85:148-56.
337. Culig Z. Interleukin-6 as a therapy target in oral squamous carcinoma. Expert Opin Ther Targets. 2013;17(1):53-9.

338. Dahran N, Szewczyk-Bieda M, Vinnicombe S, Fleming S, Nabi G. Periprostatic fat adipokine expression is correlated with prostate cancer aggressiveness in men undergoing radical prostatectomy for clinically localized disease. BJU Int. 2019;123(6):985-94.

339. Laurent V, Guerard A, Mazerolles C, Le Gonidec S, Toulet A, Nieto L, et al. Periprostatic adipocytes act as a driving force for prostate cancer progression in obesity. Nat Commun. 2016;7:10230.

340. Ito Y, Ishiguro H, Kobayashi N, Hasumi H, Watanabe M, Yao M, et al. Adipocytederived monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) promotes prostate cancer progression through the induction of MMP-2 activity. Prostate. 2015;75(10):1009-19.

341. Liotti A, La Civita E, Cennamo M, Crocetto F, Ferro M, Guadagno E, et al. Periprostatic adipose tissue promotes prostate cancer resistance to docetaxel by paracrine IGF-1 upregulation of TUBB2B beta-tubulin isoform. Prostate. 2021;81(7):407-17.

342. Dayyani F, Varkaris A, Araujo JC, Song JH, Chatterji T, Trudel GC, et al. Increased serum insulin-like growth factor-1 levels are associated with prolonged response to dasatinib-based regimens in metastatic prostate cancer. Prostate. 2013;73(9):979-85.

343. Shariat SF, Lamb DJ, Kattan MW, Nguyen C, Kim J, Beck J, et al. Association of preoperative plasma levels of insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding proteins-2 and -3 with prostate cancer invasion, progression, and metastasis. J Clin Oncol. 2002;20(3):833-41.

344. Ploussard G, Terry S, Maille P, Allory Y, Sirab N, Kheuang L, et al. Class III beta-tubulin expression predicts prostate tumor aggressiveness and patient response to docetaxel-based chemotherapy. Cancer Res. 2010;70(22):9253-64.

345. Zhang T, Tseng C, Zhang Y, Sirin O, Corn PG, Li-Ning-Tapia EM, et al. CXCL1 mediates obesity-associated adipose stromal cell trafficking and function in the tumour microenvironment. Nat Commun. 2016;7:11674.

346. Su F, Ahn S, Saha A, DiGiovanni J, Kolonin MG. Adipose stromal cell targeting suppresses prostate cancer epithelial-mesenchymal transition and chemoresistance. Oncogene. 2019;38(11):1979-88.

347. Venkatasubramanian PN, Brendler CB, Plunkett BA, Crawford SE, Fitchev PS, Morgan G, et al. Periprostatic adipose tissue from obese prostate cancer patients promotes tumor and endothelial cell proliferation: a functional and MR imaging pilot study. Prostate. 2014;74(3):326-35.

348. Ribeiro R, Monteiro C, Cunha V, Oliveira MJ, Freitas M, Fraga A, et al. Human periprostatic adipose tissue promotes prostate cancer aggressiveness in vitro. J Exp Clin Cancer Res. 2012;31:32.

349. Dirat B, Bochet L, Dabek M, Daviaud D, Dauvillier S, Majed B, et al. Cancer-associated adipocytes exhibit an activated phenotype and contribute to breast cancer invasion. Cancer Res. 2011;71(7):2455-65.

350. Bochet L, Lehuede C, Dauvillier S, Wang YY, Dirat B, Laurent V, et al. Adipocytederived fibroblasts promote tumor progression and contribute to the desmoplastic reaction in breast cancer. Cancer research. 2013;73(18):5657-68.

351. Lehuede C, Li X, Dauvillier S, Vaysse C, Franchet C, Clement E, et al. Adipocytes promote breast cancer resistance to chemotherapy, a process amplified by obesity: role of the major vault protein (MVP). Breast Cancer Res. 2019;21(1):7.

352. Attane C, Muller C. Drilling for Oil: Tumor-Surrounding Adipocytes Fueling Cancer. Trends Cancer. 2020;6(7):593-604.

353. Laurent V, Toulet A, Attane C, Milhas D, Dauvillier S, Zaidi F, et al. Periprostatic Adipose Tissue Favors Prostate Cancer Cell Invasion in an Obesity-Dependent Manner: Role of Oxidative Stress. Mol Cancer Res. 2019;17(3):821-35.

354. Diedrich JD, Rajagurubandara E, Herroon MK, Mahapatra G, Huttemann M, Podgorski I. Bone marrow adipocytes promote the Warburg phenotype in metastatic prostate tumors via HIF-1alpha activation. Oncotarget. 2016;7(40):64854-77.

355. Petan T, Jarc E, Jusovic M. Lipid Droplets in Cancer: Guardians of Fat in a Stressful World. Molecules. 2018;23(8).

356. Kaini RR, Sillerud LO, Zhaorigetu S, Hu CA. Autophagy regulates lipolysis and cell survival through lipid droplet degradation in androgen-sensitive prostate cancer cells. Prostate. 2012;72(13):1412-22.

357. Fontaine A, Bellanger D, Guibon R, Bruyere F, Brisson L, Fromont G. Lipophagy and prostate cancer: association with disease aggressiveness and proximity to periprostatic adipose tissue. J Pathol. 2021.

358. Cao Y, Ma J. Body mass index, prostate cancer-specific mortality, and biochemical recurrence: a systematic review and meta-analysis. Cancer Prev Res (Phila). 2011;4(4):486-501.

359. Keto CJ, Aronson WJ, Terris MK, Presti JC, Kane CJ, Amling CL, et al. Obesity is associated with castration-resistant disease and metastasis in men treated with androgen deprivation therapy after radical prostatectomy: results from the SEARCH database. BJU Int. 2012;110(4):492-8.

360. Gucalp A, Iyengar NM, Zhou XK, Giri DD, Falcone DJ, Wang H, et al. Periprostatic adipose inflammation is associated with high-grade prostate cancer. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2017;20(4):418-23.

361. Saha A, Ahn S, Blando J, Su F, Kolonin MG, DiGiovanni J. Proinflammatory CXCL12-CXCR4/CXCR7 Signaling Axis Drives Myc-Induced Prostate Cancer in Obese Mice. Cancer Res. 2017;77(18):5158-68.

362. Su F, Daquinag AC, Ahn S, Saha A, Dai Y, Zhao Z, et al. Progression of prostate carcinoma is promoted by adipose stromal cell-secreted CXCL12 signaling in prostate epithelium. NPJ Precis Oncol. 2021;5(1):26.

363. Zhang Q, Sun LJ, Qi J, Yang ZG, Huang T, Huo RC. Periprostatic adiposity measured on magnetic resonance imaging correlates with prostate cancer aggressiveness. Urol J. 2014;11(4):1793-9.

364. Woo S, Cho JY, Kim SY, Kim SH. Periprostatic fat thickness on MRI: correlation with Gleason score in prostate cancer. AJR Am J Roentgenol. 2015;204(1):W43-7.

365. Tan WP, Lin C, Chen M, Deane LA. Periprostatic Fat: A Risk Factor for Prostate Cancer? Urology. 2016;98:107-12.

366. van Roermund JG, Hinnen KA, Tolman CJ, Bol GH, Witjes JA, Bosch JL, et al. Periprostatic fat correlates with tumour aggressiveness in prostate cancer patients. BJU Int. 2011;107(11):1775-9.

367. Zhai T, Hu L, Ma W, Chen X, Luo M, Jin L, et al. Peri-prostatic adipose tissue measurements using MRI predict prostate cancer aggressiveness in men undergoing radical prostatectomy. J Endocrinol Invest. 2021;44(2):287-96.

368. Zhai L, Fan Y, Sun S, Wang H, Meng Y, Hu S, et al. PI-RADS v2 and periprostatic fat measured on multiparametric magnetic resonance imaging can predict upgrading in radical prostatectomy pathology amongst patients with biopsy Gleason score 3 + 3 prostate cancer. Scand J Urol. 2018;52(5-6):333-9.

369. Gregg JR, Surasi DS, Childs A, Moll N, Ward JF, Kim J, et al. The Association of Periprostatic Fat and Grade Group Progression in Men with Localized Prostate Cancer on Active Surveillance. J Urol. 2021;205(1):122-8.

370. Salji M, Hendry J, Patel A, Ahmad I, Nixon C, Leung HY. Peri-prostatic Fat Volume Measurement as a Predictive Tool for Castration Resistance in Advanced Prostate Cancer. Eur Urol Focus. 2018;4(6):858-66.

371. Huang H, Chen S, Li W, Bai P, Wu X, Xing J. Periprostatic Fat Thickness on MRI is an Independent Predictor of Time to Castration-resistant Prostate Cancer in Chinese Patients With Newly Diagnosed Prostate Cancer Treated With Androgen Deprivation Therapy. Clin Genitourin Cancer. 2019;17(5):e1036-e47.

372. Zhai TS, Jin L, Hu LT, Kadier A, Zhou Z, Liu X, et al. Impact of peri-prostatic fat measurements using MRI on the prediction of prostate cancer with transrectal ultrasound-guided biopsy. Urol Oncol. 2020;38(2):37 e1- e9.

373. Cao Y, Cao M, Chen Y, Yu W, Fan Y, Liu Q, et al. The combination of prostate imaging reporting and data system version 2 (PI-RADS v2) and periprostatic fat thickness on multi-parametric MRI to predict the presence of prostate cancer. Oncotarget. 2017;8(27):44040-9.
374. Bhindi B, Trottier G, Elharram M, Fernandes KA, Lockwood G, Toi A, et al.

Measurement of peri-prostatic fat thickness using transrectal ultrasonography (TRUS): a new risk factor for prostate cancer. BJU Int. 2012;110(7):980-6.

375. van Roermund JG, Bol GH, Witjes JA, Ruud Bosch JL, Kiemeney LA, van Vulpen M. Periprostatic fat measured on computed tomography as a marker for prostate cancer aggressiveness. World J Urol. 2010;28(6):699-704.

376. Thompson IM, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Miller GJ, Ford LG, et al. The influence of finasteride on the development of prostate cancer. N Engl J Med. 2003;349(3):215-24.

377. Allott EH, Masko EM, Freedland SJ. Obesity and Prostate Cancer: Weighing the Evidence. European Urology. 2013;63(5):800-9.

378. Kapoor J, Namdarian B, Pedersen J, Hovens C, Moon D, Peters J, et al. Extraprostatic extension into periprostatic fat is a more important determinant of prostate cancer recurrence than an invasive phenotype. J Urol. 2013;190(6):2061-6.

379. Ragnum HB, Vlatkovic L, Lie AK, Axcrona K, Julin CH, Frikstad KM, et al. The tumour hypoxia marker pimonidazole reflects a transcriptional programme associated with aggressive prostate cancer. Br J Cancer. 2015;112(2):382-90.

380. Chen Z, Xue Y, Zhang Z, Li W, Wen M, Zhao Y, et al. The performance of intravoxelincoherent motion diffusion-weighted imaging derived hypoxia for the risk stratification of prostate cancer in peripheral zone. Eur J Radiol. 2020;125:108865.

381. Karastergiou K, Smith SR, Greenberg AS, Fried SK. Sex differences in human adipose tissues - the biology of pear shape. Biol Sex Differ. 2012;3(1):13.

382. Volat F, Bouloumie A. Steroid hormones and the stroma-vascular cells of the adipose tissue. Horm Mol Biol Clin Investig. 2013;15(1):5-10.

383. Fatima LA, Campello RS, Santos RS, Freitas HS, Frank AP, Machado UF, et al. Estrogen receptor 1 (ESR1) regulates VEGFA in adipose tissue. Sci Rep. 2017;7(1):16716.

384. Nguyen DP, Li J, Tewari AK. Inflammation and prostate cancer: the role of interleukin 6 (IL-6). BJU Int. 2014;113(6):986-92.

385. Duscher D, Maan ZN, Wong VW, Rennert RC, Januszyk M, Rodrigues M, et al. Mechanotransduction and fibrosis. J Biomech. 2014;47(9):1997-2005.
386. Pellegrinelli V, Heuvingh J, du Roure O, Rouault C, Devulder A, Klein C, et al. Human adipocyte function is impacted by mechanical cues. J Pathol. 2014;233(2):183-95.

387. Serrano-Lopez J, Martin-Antonio B. Inflammaging, an Imbalanced Immune Response That Needs to Be Restored for Cancer Prevention and Treatment in the Elderly. Cells. 2021;10(10).

388. Park J, Scherer PE. Endotrophin - a novel factor linking obesity with aggressive tumor growth. Oncotarget. 2012;3(12):1487-8.

ROUMIGUIE MATHIEU

TITRE : Caractérisation structural et fonctionnelle du tissu adipeux périprostatique Implication dans le Cancer de la Prostate

Résumé

Des études récentes ont montré que l'un des composants majeurs du microenvironnement de la prostate, le tissu adipeux périprostatique (TAPP) participe à la progression du cancer de la prostate (CaP). Dans ce travail nous avons montré que ce tissu était dans un état hypoxique associé à une réponse inflammatoire et une augmentation des fibres de collagènes. Ensuite, nous avons observé une association entre accumulation excessive de TAPP et l'agressivité du CaP. Sur le plan biologique, nos résultats préliminaires montrent qu'un remodelage extensif de la matrice extracellulaire (MEC) dans les TAPP abondants permet leur expansion et contribue à la génération de fragments bioactifs de la MEC impliqués dans la progression tumorale. En conclusion, ces résultats ouvrent de nouvelles pistes sur les mécanismes permettant au TAPP d'être un acteur dans la progression du CaP et souligne le rôle majeur de la MEC dans le contrôle de son expansion mais également dans la progression du CaP.

Abstract

Recent studies showed that periprostatic adipose tissue, which is a main component of the prostate microenvironment, plays a key role in prostate cancer (PCa) progression. In this work, we report that PPAT exhibits a hypoxic state responsible for the occurrence of an inflammatory and a fibrotic state, that limits its expansion in obesity. We then reported an association between PPAT accumulation, independently of body mass index, and PCa aggressiveness. At biological levels, our preliminary result showed that an extensive remodeling of the extracellular matrix (ECM) in abundant PPAT allows its expansion and generate ECM bioactives fragments involved in prostate cancer progression. These results open new avenues on the mechanisms implicating PPAT in the progression of PCa and underline the major role of the ECM in the control of its expansion but also in the progression of PCa.

Ecole Doctorale : BSB - Biologie, Santé, Biotechnologies

Spécialité : CANCEROLOGIE

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

IPBS- Institut de Pharmacologie et Biologie Structurale

Directrice de thèse : Professeur Catherine Muller et Docteur Delphine Milhas