

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE : 2018

THESE 2018 TOU3 2097

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée sous forme de
**MÉMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME D'ETUDES SPÉCIALISÉES
EN INNOVATION PHARMACEUTIQUE ET RECHERCHE**

Présentée et soutenue publiquement par

Aurélie TOULET

**Rôle du tissu adipeux périprostatique (TAPP) abondant
dans la dissémination du cancer de la prostate**

Date de soutenance : 21 novembre 2018

Directeur de thèse : Pr. Catherine MULLER

JURY

Président :	Pr. Catherine MULLER
1er assesseur :	Pr. Xavier COUMOUL
2ème assesseur :	Dr. Jean-Marie CANONGE
3ème assesseur :	Dr. Charlotte VAYSSE

Remerciements

Tout d'abord je tiens à remercier les membres du jury, à savoir **Xavier Coumoul et Jean-Marie Canonge** d'avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse et d'avoir assisté à la soutenance, ainsi que pour toutes les idées qui ont émergé de notre discussion. Je remercie également **Etienne Chatelut** qui m'a aidée à de multiples occasions tout au long de ma thèse (bien que je lui donne beaucoup de fil à retordre !) dans le but que je mène vraiment le parcours que je souhaitais et qui me convenait au cours de cette thèse de pharmacie un peu particulière.

Un grand merci à mes deux directrices de thèse : **Cathie**, merci de m'avoir acceptée dans l'équipe, de m'avoir fait découvrir la recherche, merci pour toutes nos discussions scientifiques toujours stimulantes ainsi que pour la confiance et la liberté que vous m'avez accordées tout au long de ma thèse et qui m'ont permis de beaucoup grandir sur le plan scientifique. **Delphine**, merci pour tout, j'ai vraiment beaucoup apprécié de travailler avec toi au quotidien et ton soutien a été extrêmement précieux en particulier dans les moments les plus difficiles de ma thèse, qu'on a toujours traversés ensemble. Vous m'avez poussé à me dépasser tout au long de ma thèse et à prendre confiance en moi et je vous en remercie énormément.

Merci également à l'ensemble des membres de l'**équipe MICA** (passés et présents) pour tous les bons moments partagés et ce super carnet de photos avec ces chapeaux-légumes épiques qui va me laisser un souvenir mémorable de mes années passées parmi vous ! Tout d'abord, je me dois de mentionner **Victor Laurent**, mon mentor de M1, qui m'a vraiment fait découvrir le monde de la recherche et m'a donné la confiance nécessaire pour poursuivre en M2 puis en thèse. Merci pour toutes nos discussions passionnantes (qu'elles soient scientifiques ou plutôt rugbystiques !), pour ta gentillesse et ta disponibilité, tu resteras une de mes meilleures rencontres de thèse. Merci à toutes les personnes qui ont participé au projet TAPP abondant. Merci **Mathieu R**, tu t'es beaucoup impliqué dans ce projet dès le premier jour malgré un emploi du temps déjà bien rempli. Merci ton acharnement à faire en sorte qu'on ait toujours des prélèvements de la meilleure qualité possible, merci pour ton aide sur le projet murin et surtout merci pour ta bonne humeur permanente (même quand je te harcelais un peu pour avoir le planning opératoire !). Merci **Morgane**, malgré la difficulté de ton travail sur le projet, malgré les mises au point longues et difficiles et les échecs, tu es restée motivée, toujours fiable et ça a été très agréable de travailler avec toi. Merci **Mohamed** pour ta bonne humeur permanente, tes pâtisseries faites maison et tous les échantillons que tu nous as ramené du bloc. Merci **Charlotte** pour m'avoir appris à compter les CLS et t'être autant investie dans la mise au point du modèle murin mais surtout merci pour ton énergie et ta motivation au quotidien, grâce à toi, le mardi était clairement le meilleur jour de la semaine ! :) Merci **David**, bien qu'ayant rejoint le projet plus tardivement, les discussions qu'on a eues m'ont beaucoup apporté et permis de réfléchir différemment à mon projet, ton aide sur les analyses de protéomique, en plus de ta curiosité et de ta bonne humeur permanentes ont vraiment fait de toi un élément très important de ce projet et de l'équipe. Merci **Camille** pour ta participation précieuse au papier NOX, tes explications toujours très pédagogiques sur le métabolisme, ton soutien et ta gentillesse. Votre arrivée, à David et toi, dans l'équipe a vraiment amené un vent d'air frais, plein de discussions scientifiques, d'humour et de bonne humeur qui ont vraiment été un tournant dans la vie de l'équipe ! Merci également à **Steph** pour ton aide précieuse en microscopie, surtout sur le projet NOX et autour de la mise en place des nouveaux marquages avec David et Morgane. Je tiens également à remercier **Laurence**, bien que n'ayant pas participé directement au projet TAPP abondant, les discussions avec toi m'ont beaucoup apporté, tu m'as formée à plusieurs techniques pendant mon M2 et au début de ma thèse, j'admire ta rigueur et ta culture scientifique très vaste et je n'ai pas oublié que tu as été présente aux moments les plus difficiles de ma thèse et que tu étais souvent là pour me reconforter les soirs de déprime. Merci **Emily**, ça a été un plaisir de partager ces années de thèse avec toi. J'ai vraiment apprécié qu'on se soutienne tout au long de nos thèses respectives, aussi bien dans nos tentatives de networking que dans les démarches administratives. Merci **Rémi**, ça a été un vrai bonheur de partager le bureau

avec toi pendant quelques mois, toujours le sourire et toujours motivé. Avec ta bonne humeur, ta mousse au chocolat vegan et tes photos paradisiaques du Brésil, tu as vraiment été un collègue de rêve ! Et le meilleur pour la fin, merci **Mathieu C** pour tous les bons moments passés ensemble en M2, ça a été un vrai plaisir de travailler avec toi, nos discussions qu'elles soient scientifiques ou pas du tout m'ont enrichie et je suis contente qu'on soit restés en contact et qu'on ait continué à se soutenir tout au long de cette thèse, tu resteras ma plus belle rencontre de thèse :)

Je tiens également à remercier l'ensemble de nos collaborateurs sans qui ce travail n'aurait pas été possible. Tout d'abord **Daniel Portalez**, merci pour toute l'aide que vous nous avez apportée dès le début du projet, votre motivation à mettre en place cette mesure de TAPP, merci d'avoir pris le temps de me former alors que je n'y connaissais rien en IRM ! Ce projet n'aurait pas pu voir le jour sans vous. Merci également à **Bernard Malavaud** et à l'équipe de bio-statisticiens de l'IUCT (**Thomas Filleron et Julia Gilhodes**) pour votre aide sur toute la partie clinique du projet. Merci à **Karima** et **Manue** de la plate-forme de protéomique de l'IPBS pour votre gentillesse et votre patience à nous expliquer les résultats très complexes qui sortent de la protéomique !

Un merci tout particulier à nos collaborateurs de l'I2MC et tout d'abord **l'équipe d'Anne Bouloumié**. Merci **Anne** pour cette collaboration qui s'est mise en place rapidement au début de ma thèse et s'est faite très facilement grâce à votre gentillesse et votre disponibilité. Merci également à **Chloé** avec qui j'ai commencé cette collaboration et qui m'a appris toutes les bases de la digestion de tissu adipeux et de l'utilisation du FACS. Cette collaboration avec toi a été là aussi très facile, ta bonne humeur rendant tous mes passages à l'I2MC de bons moments de rigolade. Merci à **Florence** qui a repris la suite avec brio, tu t'es très vite adaptée et ton aide a été précieuse. Merci à tous les autres membres de l'équipe, en particulier **Fanny, Pauline et Jean**, que j'ai eu l'occasion de croiser et dont la curiosité a toujours lancé des discussions très intéressantes. Merci également à **l'équipe de Philippe Valet** pour notre collaboration toujours très stimulante. Un merci particulier à **Sophie**, merci merci merci pour ta bonne humeur, ça a été un vrai plaisir de travailler avec toi malgré le fait que je ne sois pas très portée sur le vivo. Merci pour ton implication, ta gentillesse, ta motivation à toujours trouver des solutions aux (nombreux) problèmes rencontrés, ton aide a été inestimable. Merci également à **Alizée**, j'ai adoré notre collaboration, tu es d'une efficacité impressionnante et tu t'es beaucoup investie dans ce projet dès la première réunion qu'on a fait ensemble ainsi que pour les marquages au picosirius, j'ai beaucoup apprécié cette collaboration.

Je tiens également à remercier tous **mes amis** qui m'ont permis de me rappeler qu'il y a aussi un monde en dehors du labo et qu'il est plutôt cool ! Un merci particulier à **Edith** pour toutes nos virées albigeoises et toulousaines à écumer les librairies et nos discussions sans fin. Merci à **Marie** pour le stage de M1 qu'on a partagé, toujours dans la bonne humeur et avec des pâtisseries marocaines faites maison (je ne m'en suis toujours pas remise !). Et merci à vous les filles pour nos super vacances landaises ! Un grand merci à toute la team escalade (en particulier **Damien, Louis, Filipe, Patrice, Mylène, Emmy, Aurélie, Laurent, Camille, Alex**), nos sorties falaise du week-end m'ont permis de m'évader, surtout dans la dernière ligne droite, et votre bonne humeur a été une vraie bouffée d'air frais ! Un merci tout particulier à **Arnaud**, tu as commencé comme un pote d'escalade avant de devenir beaucoup plus que ça, merci pour ton soutien qui a été très important ces derniers mois, merci pour toutes les aventures qu'on a partagées, merci d'accepter de te lever à 5h du matin parce que je veux voir des montgolfières, d'apprendre à cuisiner végétarien ou encore de m'attendre dans le froid pendant que je prends un milliard de photos, mais surtout merci de toujours me pousser à me dépasser !

Enfin, je remercie toute **ma famille** qui m'a soutenue tout au long de mes études et plus particulièrement au cours de ces longues années de thèse. Merci pour votre soutien inconditionnel, votre confiance en moi et votre bonne humeur qui m'ont permis de me ressourcer et de tenir le coup malgré les épreuves.

**Rôle du tissu adipeux périprostatique
(TAPP) abondant dans la dissémination du
cancer de la prostate**

**PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 08 janvier 2018**

Professeurs Emérites

M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
M. MOULIS C.	Pharmacognosie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SIE P.	Hématologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BARRE A.	Biologie
Mme BAZIARD G.	Chimie pharmaceutique
Mme BENDERBOUS S.	Mathématiques – Biostat.
Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
M. GAIRIN J-E.	Pharmacologie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
Mme MULLER-STAU MONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. SALLES B.	Toxicologie
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
Mme DE MAS MANSAT V. (*)	Hématologie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique
Mme SERONIE-VIVIEN S.	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C.	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
Mme BOUTET E. (*)	Toxicologie - Sémiologie
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS-VIATGE C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme DERAEEVE C.	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MIREY G. (*)	Toxicologie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. Olichon A.	Biochimie
Mme REYBIER-VUATTOUX K. (*)	Chimie Analytique
M. Sainte-Marie Y.	Physiologie
M. Stigliani J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALO A.	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme COOL C.	Physiologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. METSU D.	Pharmacologie
Mme PALUDETTO M.N.	Chimie thérapeutique
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
M. PERES M.	Immunologie
Mme SALABERT A.S	Biophysique

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	5
INTRODUCTION	7
Introduction générale.....	7
Partie I – Le cancer de la prostate	8
I - La prostate : anatomie et physiologie.....	8
1. Localisation et fonction	8
2. Développement.....	9
3. Anatomie zonale.....	9
4. Organisation cellulaire	10
5. Rôle physiologique de la testostérone sur la prostate.....	11
II - Epidémiologie du cancer de la prostate.....	12
III - Diagnostic du cancer de la prostate	13
IV - Classifications des cancers de la prostate.....	15
V - Traitements.....	20
VI - Facteurs de risque et d’agressivité du cancer de la prostate	24
1. Facteurs de risque.....	24
2. Facteurs d’agressivité.....	26
Partie II - Le tissu adipeux physiologique et pathologique	28
I - Généralités.....	28
1. Distribution du tissu adipeux (TA).....	28
2. Composition du TA en condition physiologique.....	29
a) Composants cellulaires.....	29
b) Matrice extracellulaire (MEC)	31
3. Adipogenèse	34
II - Rôles du tissu adipeux.....	34
1. Stockage des lipides	34
2. Lipolyse.....	35
3. Sécrétions	36
III - Non pas un, mais des tissus adipeux	37
1. Adipogenèse	37
2. Lipolyse.....	38
3. Composition	39

4. Sécrétions	39
IV - Modifications du tissu adipeux en situation physiopathologique.....	40
1. Obésité.....	40
2. Dépôts ectopiques.....	44
a) Effet systémique : cas des patients Metabolically Unhealthy Normal Weight	45
b) Effet local : l'exemple du TA péricardique.....	46
Partie III – Tissu adipeux périprostatique et cancer de la prostate.....	48
I - Microenvironnement tumoral.....	48
II - Tissu adipeux périprostatique (TAPP)	51
1. Anatomie	51
2. Influence des androgènes	52
3. Composition	53
III - Tissu adipeux périprostatique et cancer de la prostate	53
1. Sécrétions du TAPP entier.....	54
2. Composants cellulaires.....	55
IV - Tissu adipeux périprostatique, obésité et cancer de la prostate.....	56
V - Un nouveau concept : le TAPP abondant.....	59
RESULTATS	64
CONCLUSION & PERSPECTIVES.....	67
REFERENCES	75
RESUME DE LA THESE.....	87

LISTE DES ABREVIATIONS

ADSC	Adipose-Derived Stem Cell
ADT	Androgen-Deprivation Therapy
AG	Acides Gras
AGL	Acides Gras Libres
ARE	Androgen Response Element
ATGL	Adipose Triglyceride Lipase
CAA	Cancer-Associated Adipocytes
CAF	Cancer-Associated Fibroblasts
CCL7	Chemokine [C-C motif] Ligand 7
CCR3	Chemokine [C-C motif] Receptor 3
CLS	Crown-Like Structure
CRPC	Castration-Resistant Prostate Cancer
CSC	Cancer Stem Cells
DAG	Diacylglycerol
DHT	5 α -dihydrotestostérone
GnRH	Gonadotropin-Releasing Hormone
HBP	Hypertrophie Bénigne de la Prostate
HFD	High Fat Diet
HIF-1	Hypoxia-Inducible Factor-1
HIFU	High Intensity Focused Ultrasound
HSL	Hormone-Sensitive Lipase
IGF	Insulin-like Growth Factor
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
LHRH	Luteinizing Hormone-Releasing Hormone

MAG	Monoacylglycerol
MAGL	Monoacylglycerol lipase
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinases
MEC	Matrice Extracellulaire
MHO	Metabolically Healthy Obese
MMP14	Matrix Metalloprotease 14
MSC	Mesenchymal Stem Cell
MUNW	Metabolically Unhealthy Normal Weight
NOX	NADPH Oxidase
PI3K	Phosphoinositide 3-Kinase
PIN	Prostatic Intraepithelial Neoplasia
PSA	Prostate Specific Antigen
PTEN	Phosphatase and Tensin Homolog
ROS	Reactive Oxygen Species
SVF	Stroma-Vascular Fraction
TA	Tissu Adipeux
TAPP	Tissu Adipeux PériProstatique
TG	Triglyceride
TNM	Tumor, Nodes, Metastases
UCP1	Uncoupling Protein 1

INTRODUCTION

Introduction générale

Il est aujourd'hui largement reconnu que l'instauration d'un dialogue entre les cellules tumorales et leur microenvironnement joue un rôle essentiel dans la progression tumorale^{1,2}. Les adipocytes ont longtemps été négligés alors qu'ils sont des composants majeurs du microenvironnement de certains cancers comme le cancer du sein ou de la prostate invasif³. Dans le cas du cancer de la prostate, qui est mon modèle d'étude, l'infiltration du tissu adipeux périprostatique (TAPP) est un critère anatomo-pathologique majeur de mauvais pronostic⁴. L'obésité est également un facteur de mauvais pronostic dans de nombreux cancers dont le cancer de la prostate⁵. L'identification des mécanismes par lesquels les adipocytes favorisent la progression tumorale constitue donc un enjeu majeur.

Mon équipe a montré l'importance du rôle paracrine du TAPP dans les différentes étapes de dissémination du cancer de la prostate en condition d'obésité. En effet, nous avons identifié une chimiokine adipocytaire (CCL7) qui, en se liant à son récepteur CCR3 à la surface des cellules tumorales, attire ces dernières, favorisant ainsi la dissémination locale du cancer de la prostate, ce phénomène étant amplifié en conditions d'obésité⁶. Une fois que les cellules tumorales ont franchi la capsule prostatique qui les sépare du TAPP, nous avons montré que les adipocytes relarguent des acides gras qui sont captés par les cellules tumorales dans lesquelles ils vont stimuler l'expression d'enzymes pro-oxydantes qui, en activant toute une cascade de signalisation, vont augmenter l'invasion tumorale. Cette voie de signalisation est également amplifiée dans un contexte d'obésité (article en révision à *Molecular Cancer Research*).

L'objectif de ma thèse a été de caractériser le rôle du TAPP dans la dissémination du cancer de la prostate, dans un contexte physiopathologique différent de l'obésité : celui d'accumulation ectopique de TAPP. Avant de présenter mes résultats, je ferai l'état de l'art du cancer de la prostate, des tissus adipeux physiologiques et pathologiques et de l'influence du TAPP sur la progression du cancer de la prostate. Je finirai en introduisant un nouveau concept émergent dans la littérature : le TAPP abondant.

Mes travaux de thèse sont centrés sur l'étude de ce concept de TAPP abondant : une accumulation de TAPP, indépendamment de l'indice de masse corporelle (IMC), corrélée à des cancers de la prostate agressifs. Nous avons réalisé une étude clinique confirmant l'existence de ce phénotype et l'avons combinée, pour la première fois, à une caractérisation biologique des TAPP abondants. Le phénotype des TAPP abondants est très différent des TA obèses avec une hypertrophie adipocytaire sans infiltration par des cellules immunes et dans une matrice extracellulaire plus lâche avec une diminution d'expression de plusieurs collagènes. Des résultats préliminaires suggèrent qu'un fragment de clivage du collagène VI, l'endotrophine, qui a déjà été décrit comme jouant un rôle majeur dans la progression du cancer du sein, serait augmenté dans les TAPP abondants (article en préparation).

Partie I – Le cancer de la prostate

I - La prostate : anatomie et physiologie

1. Localisation et fonction

La **prostate** est une glande exocrine qui appartient à l'appareil génital masculin. Située sous la vessie, en arrière du pubis et en avant du rectum, elle entoure l'urètre de sa base (partie supérieure) à son apex (extrémité inférieure) (Figure 1). Au niveau de sa base, la prostate est délimitée dans sa partie ventrale par la vessie et dans sa partie dorsale par les canaux déférents et les vésicules séminales⁷.

La principale fonction de la prostate est de produire le **liquide prostatique**⁸, qui représente environ 20% du liquide séminal, les 80% restants étant sécrétés par les vésicules séminales. C'est le liquide séminal, en se mélangeant aux spermatozoïdes issus des testicules, qui formera le sperme. Le liquide prostatique contient de nombreux ions, polyamines et protéines ainsi que des enzymes qui permettent au sperme de rester sous forme liquide en empêchant sa coagulation⁸.

Une des enzymes majeures sécrétée par la prostate et spécifique de cet organe est le **PSA** (Antigène Spécifique de la Prostate), une sérine protéase de la famille des kallikréines dont le rôle principal est de cliver la protéine majoritaire des sécrétions séminales et de permettre la liquéfaction du sperme⁹. Sa production est régulée par l'intermédiaire des androgènes et elle est sécrétée dans le liquide séminal. Physiologiquement, les taux de PSA libérés dans la circulation sanguine sont minimes mais en cas de pathologie prostatique (inflammation, prolifération bénigne ou maligne) cette quantité augmente¹⁰.

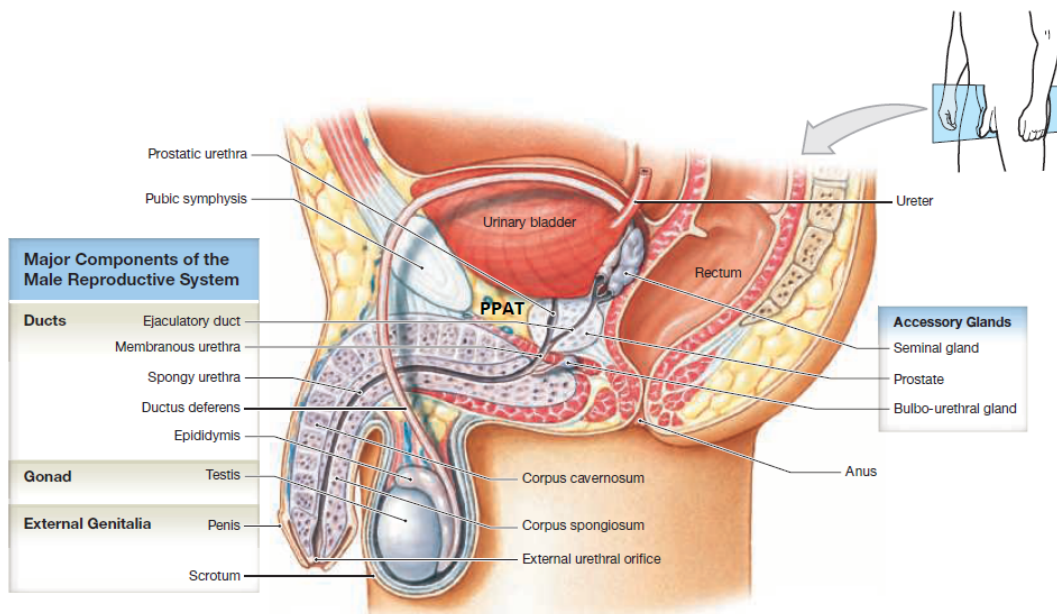


Figure 1. Anatomie de l'appareil urogénital masculin. PPAT : Periprostatic Adipose Tissue. D'après Martini F., Tallitsch R. et Nath J. (2017). *Human Anatomy*, 9^e ed. New York : Pearson, 852p.

2. Développement

La prostate est un organe qui connaît plusieurs phases de croissance au cours de la vie : très peu développée à la naissance, elle se développe brutalement à la puberté sous l'effet de la testostérone. A l'âge de 20 ans, elle a atteint un poids d'environ 20g qui va rester relativement stable jusqu'à l'âge de 40 ans, après quoi une deuxième phase de croissance va démarrer¹¹.

Cette croissance est à l'origine d'une pathologie bénigne qui touche quasiment tous les hommes avec l'âge : l'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP). En effet, cette pathologie concerne environ 50% des hommes entre 51 et 60 ans et 90% des hommes de plus de 80 ans¹². Elle est caractérisée par des troubles urinaires qui sont dus à la compression de l'urètre par une prostate devenue trop volumineuse.

3. Anatomie zonale

La prostate est entourée d'une couche de fibres de collagènes et de cellules musculaires lisses qu'on appelle capsule prostatique. On distingue 4 zones dans la prostate, chacune avec une composition et une évolution particulière (Figure 2) : la zone centrale, la zone de transition et la zone périphérique qui constituent la partie glandulaire et le stroma fibro-musculaire antérieur qui est une zone non glandulaire¹³. La zone de transition est la région de la base de la prostate directement autour de l'urètre. C'est dans cette zone que se développent la majorité des HBP alors que c'est très rarement le cas pour les cancers (seulement 10% des cas)¹⁴. La zone centrale est la région de la base de la prostate qui entoure les canaux éjaculateurs. La zone périphérique est la plus importante, elle représente 80% de la prostate et se situe dans la zone postérieure de la prostate, en contact avec le rectum. C'est dans cette partie que se développent la grande majorité des cancers ainsi que les prostatites (inflammation de la prostate). La dernière région est la zone antérieure qui est la plus proche de l'abdomen et composée d'un stroma fibro-musculaire (c'est-à-dire principalement des cellules musculaires lisses et des fibres de collagène). La prostate est donc composée à 70% de tissu glandulaire et à 30% d'un tissu non glandulaire qui comprend, en plus du stroma fibro-musculaire antérieur, de nombreux vaisseaux et nerfs¹³.

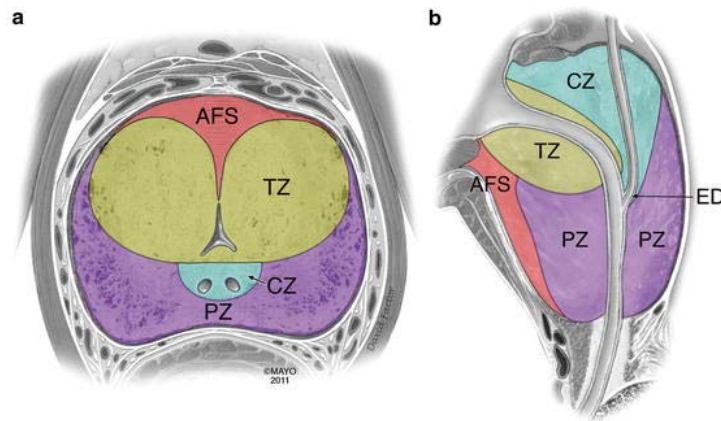


Figure 2. Anatomie zonale de la prostate telle que décrite par McNeal. Schéma de la prostate en coupe axiale (a) et sagittale (b). AFS : stoma fibromusculaire antérieur, CZ : zone centrale, PZ : zone périphérique, TZ : zone de transition, ED : canal éjaculateur. D'après Hamm B. et Ros P. (2013). *Abdominal Imaging, volume 2*. Berlin : Springer, 2316p.

4. Organisation cellulaire

La prostate est une glande composée, formée de 30 à 50 glandes tubulo-alvéolaires formant des unités fonctionnelles qu'on pourrait appeler lobules⁷. On distingue les acini, où est produit le liquide prostatique et les canaux où il est excrété. Les zones glandulaires de la prostate sont constituées de trois types cellulaires (Figure 3) : les cellules luminales, bien différenciées, représentent la population principale, sécrètent le liquide prostatique et le PSA et sont à l'origine des cancers ; les cellules basales indifférenciées sont localisées en profondeur, entre les cellules luminales et la membrane basale sous-jacente et une partie d'entre elles sont des cellules souches ; et enfin, les cellules neuro-endocrines, une population très minoritaire située au contact de la membrane basale et dont l'action est nécessaire à la viabilité et la croissance des cellules luminales¹⁵. Les cellules luminales sont androgéno-dépendantes et la castration les conduit à la mort par apoptose. A l'inverse, 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 complet¹⁶.

Les cellules glandulaires sont séparées du stroma fibro-musculaire par une membrane basale. Ce stroma, composé entre autres de fibroblastes, de myofibroblastes, de cellules musculaires lisses, de cellules immunitaires et de vaisseaux sécrète un grand nombre de facteurs de croissances, cytokines et protéines de la matrice extracellulaire¹⁷. La composition de ce stroma est dépendante des androgènes et varie avec l'âge. Les interactions stroma-épithélium sont indispensables au développement physiologique de la prostate¹⁸ mais il a été montré qu'il joue aussi un rôle majeur dans le développement de pathologies prostatiques comment l'hypertrophie bénigne de la prostate et le cancer^{17,19,20}.

Prostate tissue structure

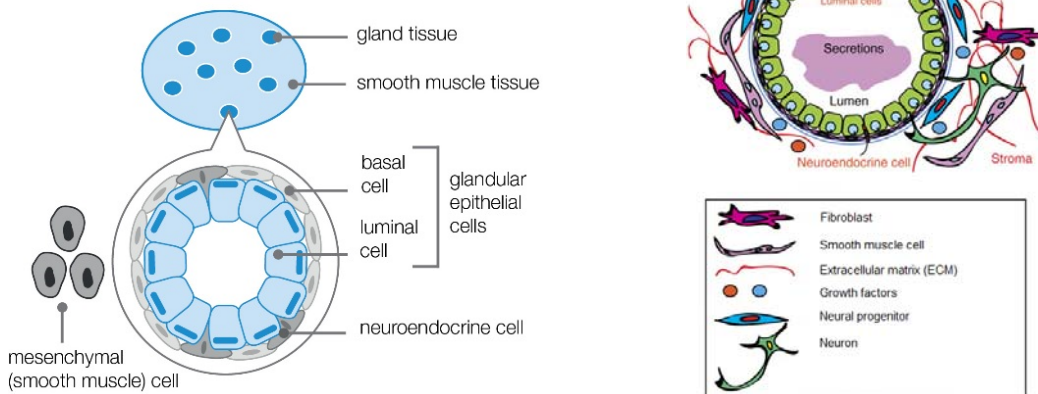


Figure 3. Organisation cellulaire de la prostate. A gauche, représentation schématique de l'organisation générale de la prostate. D'après Prostate Cancer UK : <https://prostatecanceruk.org/prostate-information/further-help/rare-prostate-cancer>. A droite, représentation schématique d'un épithélium prostatique et de son stroma. D'après Zhang et al., *Nature communications*, 2016.

5. Rôle physiologique de la testostérone sur la prostate

La testostérone est la principale hormone sexuelle masculine circulante, majoritairement synthétisée par les cellules de Leydig au niveau des testicules. Les androgènes ont un rôle majeur dans la différenciation des canaux de Wolff, de la prostate et des organes génitaux masculins. A l'inverse, dans la prostate, l'androgène majoritaire est la 5α -dihydrotestostérone (DHT), métabolisée dans les cellules à partir de la testostérone par une enzyme appelée 5α -réductase²¹. Le récepteur aux androgènes est un récepteur nucléaire qui se lie à la fois à la testostérone et à la DHT mais avec une plus grande affinité pour la DHT. Le complexe androgène-récepteur entre ensuite dans le noyau pour stimuler la transcription de certains gènes en se liant à un Androgen Response Element (ARE). L'importance des androgènes et principalement de la DHT dans la prolifération et le maintien des cellules prostatiques est attestée par la croissance majeure de cet organe au moment de la puberté mais aussi par le fait que des hommes atteints de déficience congénitale en 5-AR ou traités par des inhibiteurs de la 5-AR (traitement de l'hypertrophie bénigne de la prostate) présentent une régression prostatique et une diminution de la production de PSA^{17,21}.

Dans la prostate adulte, les androgènes ont un effet à la fois sur les cellules épithéliales en les maintenant dans un état différencié et relativement quiescent et sur les cellules du stroma. Les androgènes sont donc des médiateurs majeurs des interactions paracrines entre cellules épithéliales et cellules stromales qui permettent le maintien de l'homéostasie prostatique¹⁷. De façon intéressante, la prostate du jeune adulte prolifère peu et les maladies prolifératives de la prostate (telles que l'HBP et le cancer) surviennent chez

l'homme âgé bien que les taux de testostérone soient plus faibles dans cette population. Plus que les androgènes, ce serait surtout les modifications du stroma dans cette population âgée (diminution des cellules musculaires lisses, augmentation des myofibroblastes et des cellules inflammatoires) qui favoriseraient la prolifération cellulaire et l'apparition de ces pathologies, en particulier du cancer de la prostate²².

II -Epidémiologie du cancer de la prostate

D'après les dernières données épidémiologiques disponibles, le cancer de la prostate est le plus fréquent dans le monde et le cinquième en terme de mortalité. On estime qu'en 2015 il a été diagnostiqué chez environ 1,6 millions d'hommes dans le monde dont une majorité (70%) dans les pays développés (Figure 4)²³.

Comme dans la plupart des pays développés, en France, avec 56 841 nouveaux cas par an, le cancer de la prostate est le cancer le plus fréquent chez l'homme et il est responsable de 8 606 décès chaque année, se classant troisième en terme de mortalité par cancer (après les cancers du poumon et du colon-rectum)²⁴.

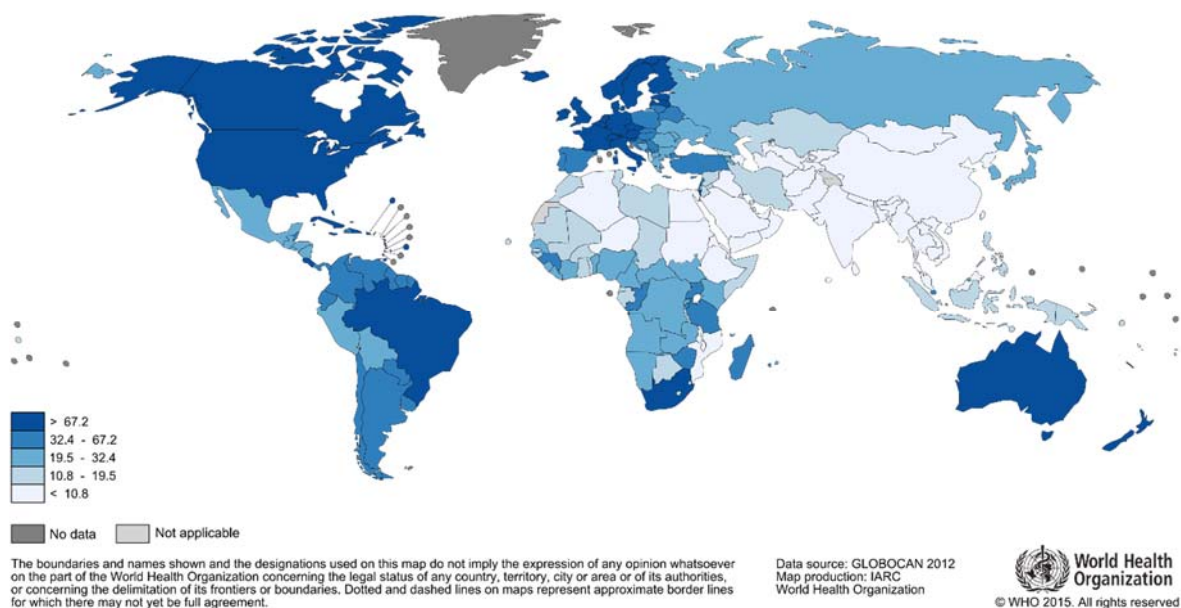


Figure 4. Epidémiologie du cancer de la prostate. Incidence mondiale du cancer de la prostate. D'après GLOBOCAN 2012, OMS.

De grandes disparités existent à travers le monde en terme d'incidence du cancer de la prostate : il y a un facteur 25 entre les hommes avec l'incidence la plus élevée (Afro-Américains aux Etats-Unis) et la plus faible (hommes asiatiques vivant dans leur pays d'origine)²⁵.

En terme d'évolution, l'incidence du cancer de la prostate a été multipliée par 5 entre 1980 et 2005 (pour atteindre 124,5 / 100 000 personnes-années), en réponse à la mise en place généralisée du dépistage par dosage du PSA, puis a diminué nettement (97,7 / 100 000 en 2011). En parallèle, le taux de mortalité a diminué depuis les années 1990. En cela, la France ne constitue pas une exception mais reflète un phénomène observable dans tous les pays qui ont mis en place le diagnostic à grande échelle du cancer de la prostate par dosage du PSA^{26,27}. C'est un cancer de bon pronostic avec une survie à 5 ans supérieure à 80% (mais ce chiffre diminue quand le cancer est détecté à un stade déjà avancé ou chez des patients jeunes).

De façon intéressante, concernant le cancer de la prostate, l'incidence n'est pas corrélée à la prévalence. En effet, des données issues d'autopsies d'hommes décédés de causes diverses à travers le monde, ont révélé la présence de lésions cancéreuses chez 70 à 90% des hommes à l'âge de 80-90 ans, indépendamment de leur origine ethnique ou géographique²⁸. On peut donc dire que la plupart des hommes meurent avec un cancer de la prostate mais pas nécessairement à cause de ce dernier. Il est donc particulièrement important de comprendre les facteurs favorisant l'agressivité du cancer de la prostate.

III - Diagnostic du cancer de la prostate

Symptômes : La grande majorité des cas de cancers de la prostate sont asymptomatiques. Les troubles urinaires chez les hommes âgés sont le plus souvent dus à une hypertrophie bénigne de la prostate, très fréquente chez ces patients et qui peut coexister avec le cancer. Quand la tumeur se développe, les symptômes les plus souvent retrouvés sont une hématurie (présence de sang dans l'urine) ou une obstruction des voies urinaires. La dissémination à distance de la tumeur peut causer des œdèmes des membres inférieurs par obstruction des ganglions lymphatiques régionaux ou des douleurs osseuses dues aux métastases. Ces symptômes apparaissent très tardivement au cours de l'histoire de la maladie²⁹.

Dépistage : Le dépistage consiste à détecter une maladie avant l'apparition de symptômes. Il est important dans le cas des cancers où il permet de détecter la maladie à un stade précoce et plus facile à traiter. Le cancer de la prostate restant asymptomatique pendant très longtemps, il est important de le détecter avant l'apparition des symptômes. Le dépistage comprend deux tests³⁰ :

- **Dosage du PSA** : il consiste en une simple prise de sang. Le PSA est sécrété quasi exclusivement par les cellules prostatiques. La majorité de ce PSA est sécrété dans le sperme mais une petite fraction passe dans le sang. La majorité des hommes sains présentent un taux de PSA sanguin < 4 ng/ml. Les cellules tumorales sécrétant plus de PSA que les cellules saines, en général l'apparition d'un cancer s'accompagne d'une augmentation du taux de PSA sanguin mais ce n'est pas toujours le cas (10-15% des patients avec un cancer présentent des taux de PSA normaux)³⁰. Il est recommandé de réaliser ce dosage plusieurs fois car certains facteurs peuvent conduire à une augmentation du PSA en dehors de tout cancer (rapports sexuels, activité physique comme le vélo, prostatite, ...). De plus une hypertrophie bénigne de la prostate peut également conduire à des taux élevés de PSA car elle est liée à une hyperplasie prostatique mais la vitesse de progression du PSA peut aider à discriminer les deux pathologies. Cependant aucun consensus n'existe aujourd'hui sur le nombre de dosages à réaliser, l'intervalle entre deux dosages, ... A l'inverse, certains facteurs peuvent diminuer les taux de PSA circulants, rendant le diagnostic plus difficile : l'usage de médicaments contre l'hypertrophie bénigne de la prostate (inhibiteurs de la 5 α -réductase), l'obésité ainsi que certains médicaments (aspirine, statine, diurétiques thiazidiques)³⁰.
- **Toucher rectal** : c'est un examen réalisé par un médecin qui palpe la prostate en introduisant un doigt ganté dans le rectum du patient. Cela permet d'évaluer le volume, la consistance et la texture de la surface de la prostate. C'est un examen peu sensible (il faut déjà que la tumeur soit bien développée pour qu'elle soit palpable) mais qui permet de détecter certains cancers en présence d'un PSA normal³⁰.

Aujourd'hui le bénéfice d'un dépistage systématique du cancer de la prostate par dosage du PSA n'a pas été clairement mis en évidence^{31,32} et son utilisation est controversée. C'est pourquoi en France et à l'étranger, aucune autorité de santé ne recommande de mettre en place un dépistage systématique chez les hommes asymptomatiques³³. En effet ce dépistage pose plusieurs problèmes :

- Le dosage de PSA manque de spécificité.
- Le toucher rectal manque de sensibilité (entre 33 et 58% seulement)³⁰.
- Un autre problème majeur est que même quand le diagnostic de cancer de la prostate est posé, il n'y a pas d'éléments permettant de distinguer ceux qui vont devenir agressifs et doivent impérativement être traités de ceux qui vont rester latents pendant plusieurs années et ne nécessitent donc pas de traitement (environ 50% des cancers dépistés). Il y a donc un risque élevé de surtraitement, particulièrement problématique dans le cas du cancer de la prostate qui touche des patients âgés donc plus à risque³⁰. De plus, le traitement consiste souvent en une chirurgie ou de la radiothérapie qui présentent des effets secondaires importants (incontinence urinaire, impuissance sexuelle), qui affectent la qualité de vie des patients

Les recommandations actuelles sont donc de ne pas mettre en place de dépistage systématique et d'informer les hommes qui envisagent de faire un dosage du PSA des avantages et inconvénients potentiels de cette approche³⁰.

Diagnostic complet du cancer de la prostate : Si un cancer est suspecté sur la base d'un PSA ou d'un toucher rectal anormal, des tests supplémentaires sont nécessaires pour confirmer le diagnostic. Le seul moyen permettant d'affirmer avec certitude la présence d'un cancer est de réaliser des biopsies prostatiques²⁹. En général, ce test est précédé d'une IRM permettant de repérer la localisation probable du cancer et de réaliser des biopsies ciblées qui augmentent les chances de mettre en évidence le cancer.

La **biopsie prostatique** consiste à prélever au minimum 12 « carottes » de tissu prostatique qui seront ensuite observées au microscope pour détecter la présence éventuelle de cellules cancéreuses²⁷. Elle se fait par voie rectale, le médecin introduit une sonde d'échographie dans le rectum ce qui va lui permettre de voir la prostate. La biopsie se fait à l'aiguille et est guidée par l'échographie. Certaines biopsies sont réalisées « en aveugle » c'est-à-dire que les carottes sont prélevées au hasard dans les différentes zones de la prostate mais de plus en plus sont faites en ciblant des zones prédéfinies grâce à l'analyse d'IRM (on parle alors de biopsies ciblées)²⁷.

IV - Classifications des cancers de la prostate

Une fois le cancer avéré, il est important de déterminer son grade (= son agressivité) et son stade (= son étendue). Dans le cancer de la prostate, le grade est défini par le **score de Gleason**^{34,35}, déterminé par les anatomopathologistes sur les biopsies prostatiques (on parle de score de Gleason biopsique), puis éventuellement sur la pièce de prostatectomie (Gleason sur pièce de prostatectomie). Ils évaluent sur une échelle de 1 à 5 à quel point les cellules cancéreuses présentent une morphologie et une architecture similaire aux cellules prostatiques saines : 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^{34,36}. Les cancers de la prostate n'étant en général pas homogènes, les anatomopathologistes notent les deux populations de cellules majoritaires et font la somme des deux nombres obtenus. Le score de Gleason correspond donc à une notation entre 2 et 10 en théorie. En pratique, le score de Gleason a été beaucoup modifié depuis sa mise en place dans les années 1970 et aujourd'hui. Les critères d'évaluation des tumeurs ont évolué (Figure 5) et en pratique, ce score s'échelonne entre 6 et 10, 6 correspondant à des cancers peu agressifs et 10 à des cancers très agressifs. Il faut noter une exception à cette règle : s'il y a 3 aspects différents sur des biopsies prostatiques, le grade le plus élevé sera pris en compte dans le score de Gleason final, même s'il est minoritaire.

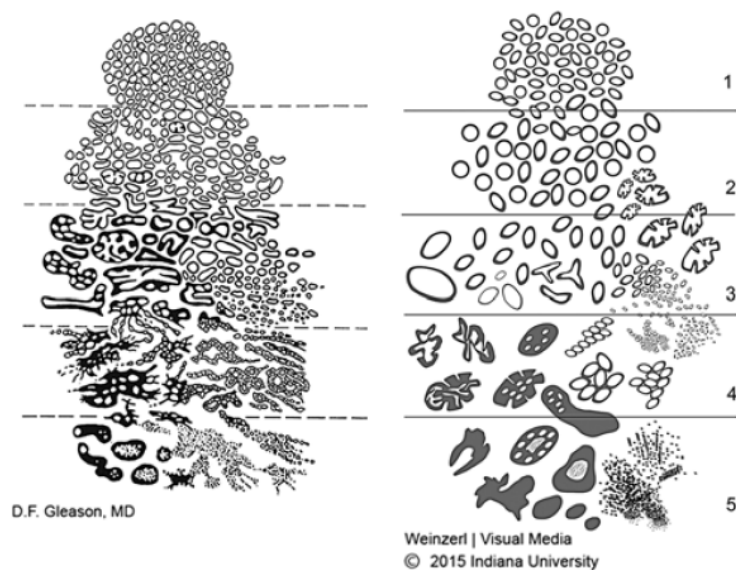


Figure 5. Aspects histologiques de l'adénocarcinome prostatique. Schéma original du Dr. Gleason (à gauche) et schéma modifié à l'occasion de la conférence ISUP de 2015 (à droite). D'après Epstein et al., *American Journal of Surgical Pathology*, 2016.

Un des problèmes de ce score est qu'il regroupe des cancers dont on sait aujourd'hui qu'ils ont des pronostics très différents. En effet, au sein du groupe des Gleason 7, il faut distinguer les cancers avec une majorité de grade 3 (aussi appelés 7(3+4)) de ceux qui ont une majorité de grade 4 (7(4+3)) car ces derniers progressent plus rapidement et forment plus de métastases³⁷ et sont également associés à une mortalité 3 fois supérieure³⁸. Ce problème a abouti à la mise en place d'une nouvelle stratification des scores de Gleason acceptée majoritairement lors de la conférence de consensus de l'ISUP de 2014 et recommandée par l'OMS³⁶. La valeur pronostique de cette classification a depuis été validée par une étude multicentrique³⁹ :

- Grade 1 (scores de Gleason ≤ 6) : 96% de survie sans rechute après prostatectomie
- Grade 2 (score de Gleason 7 = 3+4) : 88%
- Grade 3 (score de Gleason 7 = 4+3) : 63%
- Grade 4 (score de Gleason 8) : 48%
- Grade 5 (scores de Gleason 9 – 10) : 26%

Le **stade** tumoral décrit l'étendue de la dissémination au moment du diagnostic. La principale classification utilisée aujourd'hui est appelée TNM (tumeurs, ganglions lymphatiques, métastases)⁴⁰ et comme son nom l'indique elle prend en compte à la fois :

- L'étendue de la tumeur primaire (T)
- L'infiltration éventuelle des ganglions lymphatiques à proximité (N)
- La présence éventuelle de métastases dans d'autres organes (M)

Il existe deux types de T : le T clinique, évalué par le clinicien sur les résultats du toucher rectal et le T pathologique, déterminé par les anatomopathologistes sur la pièce de prostatectomie (pour le distinguer de l'autre T on le nomme pT pour « pathological T »)²⁷. Le pT est plus fiable que le T mais au moment du diagnostic, seul le T clinique est disponible. Les radiologistes peuvent également évaluer le stade T sur l'IRM pré-opératoire (on parle alors de « T IRM »).

Le stade T se divise en 4 catégories⁴⁰ :

- T1 : la tumeur est indétectable cliniquement, ni palpable ni visible à l'imagerie
- T2 : la tumeur est confinée dans la prostate mais palpable ou visible à l'imagerie
- T3 : la tumeur a franchi la capsule prostatique ou envahi le col vésical ou les vésicules séminales
- T4 : la tumeur s'est répandue dans des tissus en dehors de la prostate et des vésicules séminales (mur pelvien, rectum, ...)

Chaque catégorie se subdivise en sous-groupes (Figure 6).





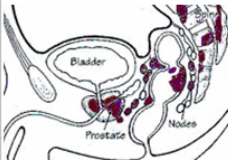
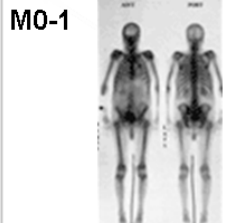
T1	T2	T3	T4
			
<p>T1 Clinically inapparent; tumor not palpable or visible by imaging</p> <p>T1a Incidental finding during transurethral resection of prostate; < 5% of tissue resected</p> <p>T1b Incidental finding during transurethral resection of prostate; > 5% of tissue resected</p> <p>T1c Tumor identified by needle biopsy (e.g. because of elevated PSA)</p>	<p>T2 Tumor confined within prostate (palpable or visible on TRUS)</p> <p>T2a Involves half of a lobe or less</p> <p>T2b Involves more than half of a lobe one lobe but not both lobes</p> <p>T2c Tumor involves both lobes</p>	<p>T3 Tumor extends through prostatic capsule, bladder neck or seminal capsule</p> <p>T3a Unilateral extracapsular extension</p> <p>T3b Bilateral extracapsular extension</p> <p>T3c Tumor invades seminal vesicle(s)</p>	<p>T4 The tumor has spread or attached to tissues next to the prostate (other than the seminal vesicles).</p> <p>T4a The tumor has spread to the neck of the bladder, the external sphincter (muscles that help control urination), or the rectum.</p> <p>T4b The tumor has spread to the floor and/or the wall of the pelvis.</p>
		<p>N0 Cancer has not spread to any lymph nodes.</p> <p>N1 Cancer has spread to a single regional lymph node (inside the pelvis) and is not larger than 2 centimeters</p> <p>N2 Cancer has spread to one or more regional lymph nodes and is larger than 2 centimeters (¾ inch), but not larger than 5 centimeters</p> <p>N3 Cancer has spread to a lymph node and is larger than 5 centimeters</p> <p>M0 The cancer has not metastasized (spread) beyond the regional lymph nodes</p> <p>M1 The cancer has metastasized to distant lymph nodes (outside of the pelvis), bones, or other distant organs such as lungs, liver, or brain</p>	

Figure 6. Classification TNM du cancer de la prostate (TNM). D'après Prostate Health : <http://www.prostatehealth.org.au/home/about-prostate-cancer/staging-grading>

Classification de d'Amico : La classification de d'Amico prend en compte à la fois le score de Gleason biopsique, le stade T de la tumeur et le taux de PSA pré-opératoire dans le but d'évaluer le potentiel d'agressivité des tumeurs localisées et de mettre en place le traitement le plus approprié⁴¹. Elle se divise en 3 groupes :

- Cancer à faible risque évolutif :
 - o T1 – T2a ET PSA \leq 10 ng/ml ET Gleason \leq 6
 - o Survie sans récurrence biologique supérieure à 75% à 5 ans après traitement
- Cancer à risque intermédiaire :
 - o T2b OU PSA 10 – 20 ng/ml OU Gleason = 7
 - o Survie sans récurrence biologique entre 50 et 75% à 5 ans après traitement
- Cancer à haut risque évolutif :
 - o T2c – T3 OU PSA $>$ 20 ng/ml OU Gleason \geq 8
 - o Survie sans récurrence biologique inférieure à 50% à 5 ans après traitement

Toutefois, cette classification présente des limitations, et en particulier le fait qu'elle regroupe au sein du risque intermédiaire tous les patients avec un Gleason à 7 qui, comme on l'a vu précédemment, présentent une grande hétérogénéité³⁶.

D'autres paramètres sont évalués au moment du diagnostic et permettent aux cliniciens d'affiner le pronostic du cancer. En particulier, la réalisation d'une IRM²⁷ peut permettre de déterminer si la tumeur a franchi la capsule prostatique ou non ainsi que d'évaluer la **taille tumorale** qui est un facteur prédictif indépendant de la rechute biologique⁴².

Classification moléculaire du cancer de la prostate : Devant les limitations importantes des classifications actuelles, un domaine est en pleine expansion aujourd'hui : celui de la classification moléculaire du cancer de la prostate. Le but est que cette pathologie hétérogène, de pronostic très variable devienne un ensemble de sous-types de maladies plus homogènes, avec des caractéristiques moléculaires propres, définissant un pronostic précis et permettant éventuellement la mise en place de thérapies ciblées. Cette classification est plus complexe dans le cadre du cancer de la prostate que dans d'autres cancers car il est très hétérogène en terme d'anomalies génétiques⁴³. Cependant, certaines d'entre elles sont retrouvées assez fréquemment et sont communes à d'autres cancers comme l'altération des voies PI3K (Phosphoinositide 3-kinase)/Akt ou Ras/Raf/MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) ou encore des anomalies des suppresseurs de tumeur p53 ou PTEN. D'autres aberrations génétiques sont spécifiques au cancer de la prostate. En particulier, la plus étudiée est la fusion d'un gène régulé par les androgènes avec un gène de la famille ETS (Erythroblast Transformation-Specific, une famille de facteurs de transcription), la fusion la plus connue étant entre le gène TMPRSS2 et le facteur de transcription ERG (ETS-related gene). Ce type de fusion est retrouvé dans environ 50% des cancers de la prostate et a été associé à un mauvais pronostic⁴³. Des analyses génomiques et transcriptomiques ont commencé à émerger qui tentent de classer les cancers de la prostate primaires en combinant plusieurs de ces anomalies génétiques et de les associer à un pronostic pour le patient (Figure 7). Une étude récente a créé une classification moléculaire avec 7 sous-groupes basés sur

diverses anomalies génétiques (fusions de gènes (ERG, ETV1/4, FLI1) ou mutations (SPOP, FOXA1, IDH1) qui permet de classer 74% des tumeurs primaires. Ils ont également identifié des sous-populations de patients qui seraient de bons candidats pour certaines thérapies ciblées (19% des patients présentent des défauts de la réparation de l'ADN ce qui en fait de bons candidats pour l'olaparib, un inhibiteur de PARP ; une minorité de patients présentent des réarrangements touchant BRAF ou RAF1 et pourraient être de bons réponders aux inhibiteurs de Raf déjà disponibles)⁴⁴.

Une étude a également été faite sur les caractéristiques génomiques des cancers de la prostate avancés (Cancers de la Prostate Résistants à la Castration métastatiques, CRPCm). En effet, à ce stade, la pathologie est actuellement incurable et l'identification de cibles moléculaires est indispensable pour améliorer la prise en charge de ces patients. Cette étude a montré que 90% des patients avec un cancer avancé présentent des altérations génétiques pouvant être des cibles thérapeutiques, soulignant l'importance d'une caractérisation moléculaire de ces cancers et le développement de nouvelles thérapies ciblées pour développer une médecine de précision dans ces cancers aujourd'hui incurables⁴⁵.

Ce domaine est donc très prometteur mais davantage d'études sont nécessaires pour qu'une classification moléculaire claire puisse voir le jour et être utilisée en clinique.

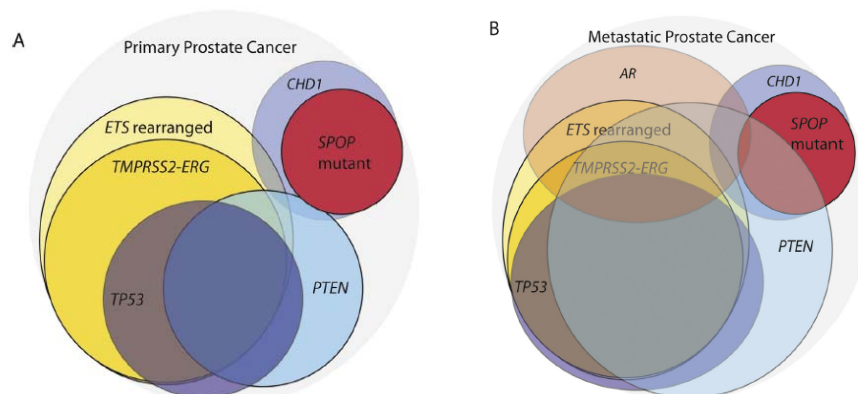


Figure 7. Classification moléculaire du cancer de la prostate. D'après Barbieri et al., *European Urology*, 2013.

Histoire de la maladie : De façon générale, le cancer de la prostate est une maladie lente qui évolue sur plusieurs années. L'origine la plus probable (mais controversée⁴⁶) de cette maladie est un stade de Néoplasie Intraépithéliale Prostatique de Haut Grade (ou HGPIN, aussi appelé PIN de façon usuelle) qui est un stade précancéreux caractérisé par des cellules prostatiques qui acquièrent une morphologie et un comportement anormaux⁴⁷. Ces PIN présentent de nombreuses caractéristiques moléculaires communes avec les cellules cancéreuses : anomalies cytogénétiques (type aneuploïdie), dérégulation de voies de signalisations cellulaires comme mTor, amplification de c-myc, ... Avec le temps, les cellules anormales de ces PIN vont commencer à proliférer excessivement et devenir résistantes à l'apoptose ce

qui va aboutir à une croissance incontrôlée typique des cancers. Le franchissement de la membrane basale par les cellules signe la transition en cancer. Cette transition peut se faire en 5 à 10 ans⁴⁸.

Plus de 95% des cancers de la prostate sont des adénocarcinomes acinaires qui se développent à partir des cellules épithéliales prostatiques, en particulier dans la zone périphérique^{47,49}. Il existe également des formes plus rares de cancers de la prostate (adénocarcinomes à cellules transitionnelles, carcinomes à petites cellules voire sarcomes) mais nous ne les aborderons pas ici.

Initialement, tous les adénocarcinomes de la prostate sont hormono-sensibles et répondent bien à l'hormonothérapie (déprivation androgénique) cependant avec le temps, on observe systématiquement une androgéno-résistance⁵⁰. On parlait avant de « cancers androgéno-indépendants » mais on sait aujourd'hui que ce n'est pas le cas car les cellules tumorales développent en réalité des capacités de synthèse endogène d'androgènes ainsi qu'une surexpression du récepteur aux androgènes, ce qui les rend plus sensible à des doses faibles de ces hormones. Les androgènes restent donc un élément central de la progression de ces tumeurs appelées « cancers résistants à la castration » (ou CRPC pour Castration-Resistant Prostate Cancer), ce qui a conduit au développement des hormonothérapies de 2^e ligne⁵¹.

L'autre évolution importante dans l'histoire du cancer de la prostate est la colonisation de localisations secondaires par les cellules tumorales : ce sont les métastases. Dans le cadre du cancer de la prostate, les métastases sont le plus souvent retrouvées au niveau de l'os (dans 85% des cas)⁵² et des ganglions lymphatiques à distance mais il existe aussi de rares cas de métastases au foie, aux poumons, ...

V - Traitements

Plusieurs types de traitements sont disponibles dans le cas du cancer de la prostate, le choix se fera au cas par cas en fonction du grade et du stade du cancer, de l'âge du patient et de son état de santé général, ... (Figure 8) Les possibilités de traitements incluent :

- La surveillance active
- La chirurgie (prostatectomie)
- La radiothérapie
- La thérapie par ultrasons focalisés de haute intensité (HIFU)
- L'hormonothérapie
- La chimiothérapie
- La vaccination
- Le traitement ciblé des métastases osseuses

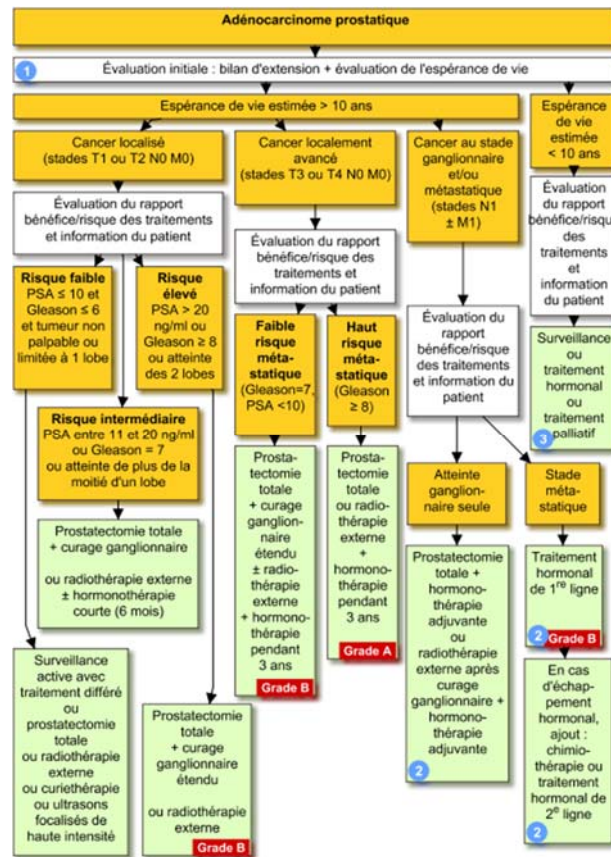


Figure 8. Prise en charge thérapeutique du cancer de la prostate. Arbre décisionnel des possibilités de traitement de l'adénocarcinome prostatique. D'après Caulin C. (2015). *Vidal Recos, recommandations en pratique : 185 stratégies thérapeutiques*, 6th ed. Issy-les-Moulineaux : Vidal, 2800p.

Le concept de la **surveillance active** est basé sur le fait que de nombreux cancers de la prostate sont d'évolution lente et que quand ils sont détectés à un stade très précoce chez des patients âgés présentant de multiples pathologies, ils n'auront probablement aucun impact sur l'espérance de vie ou la qualité de vie des patients et ne justifient donc pas de traitement. Cette théorie a été confirmée par plusieurs études cliniques⁵³⁻⁵⁵ dont l'étude PIVOT (Prostate cancer Intervention Versus Observation Trial) qui, avec un recul de maintenant 20 ans, n'a pas montré de bénéfice de la prostatectomie comparé à la surveillance active en terme de survie spécifique ou globale chez des patients avec un cancer localisé. Il est donc actuellement recommandé, pour les patients avec des cancers localisés à bas risque (T1-T2, PSA < 10, Gleason 6) de contrôler le PSA tous les 3 à 6 mois, d'effectuer un toucher rectal tous les 6 à 12 mois et de réaliser un contrôle biopsique entre 3 et 24 mois après la biopsie initiale pour s'assurer qu'il n'y ait pas d'évolution du cancer^{27,56}.

La **chirurgie** est un des traitements de référence pour les cancers localisés qui restent confinés dans la prostate. C'est en général une prostatectomie radicale qui consiste à retirer toute la prostate et les tissus environnants, en particulier les vésicules séminales. La plupart du temps maintenant, cette opération se

fait par voie laparoscopique et le chirurgien peut être assisté par un robot²⁷. La prostatectomie a fait la preuve de son efficacité chez les patients avec un cancer localisé à risque intermédiaire ou élevé de dissémination en améliorant à la fois la survie globale et spécifique dans un essai randomisé⁵⁷. C'est un traitement très efficace mais qui présente des effets indésirables importants qui affectent la qualité de vie des patients. En effet, ces effets indésirables comprennent l'incontinence urinaire (transitoire mais touchant davantage les patients âgés et se résorbant lentement sur plusieurs semaines voire plusieurs mois), l'impuissance sexuelle (là encore le phénomène est généralement transitoire mais peut durer plusieurs mois à plusieurs années), stérilité, ...⁵⁸

La **radiothérapie** présente plusieurs indications : les cancers localisés à risque faible, en 1^e ligne de traitement (avec l'hormonothérapie) pour les cancers qui ont disséminé localement, pour les rechutes après prostatectomie ou encore pour diminuer les symptômes des cancers très avancés²⁷. Il existe deux types de radiothérapies : la radiothérapie externe et la brachythérapie. La radiothérapie externe est un traitement locorégional qui consiste à irradier la tumeur de façon ciblée. Elle présente globalement les mêmes effets secondaires que la prostatectomie et expose également à un risque de tumeur secondaire⁵⁹. La brachythérapie (aussi appelée curiethérapie) correspond à l'implantation de grains d'iode radioactif dans la prostate qui agissent localement par émission radioactive sur quelques millimètres. Ses indications sont limitées aux cancers localisés à risque faible mais elle est très efficace dans ce cadre (90% de contrôle biochimique à 10 ans)⁶⁰.

Le traitement du cancer de la prostate par **ultrasons focalisés de haute intensité (HIFU en anglais)** peut être proposé à des patients âgés (ou présentant des comorbidités qui ne leur permettent pas d'être candidats à la chirurgie) présentant des cancers localisés de risque évolutif faible²⁷. Les recommandations varient selon les pays et il n'y a pas de consensus principalement à cause d'un manque d'essai clinique contrôlé randomisé et d'une qualité assez faible des études publiées jusqu'ici⁶¹. Dans ce traitement, des ultrasons de haute intensité sont dirigés spécifiquement sur la prostate pour la détruire avec les cellules tumorales et induire une fibrose secondaire. La procédure est moins lourde que la prostatectomie mais les effets secondaires sont similaires (incontinence urinaire et dysfonction érectile)^{62,63}.

L'**hormonothérapie** ou thérapie anti-androgénique (ou ADT pour Androgen-Deprivation Therapy) a pour but de diminuer les taux d'androgènes circulants (le seuil est fixé à 50 ng/dl) ou de bloquer leurs effets sur les cellules cancéreuses prostatiques. Elle est utilisée dans le cadre de cancers localement avancés ou métastatiques, dans les cas de rechute, parfois en association avec la radiothérapie ou avant pour améliorer son efficacité²⁷. Il existe plusieurs types d'hormonothérapie :

- L'orchidectomie ou castration physique consiste à l'ablation chirurgicale des testicules qui sont la principale source d'androgènes.

- La castration chimique par agonistes ou antagonistes de la LHRH (Luteinizing Hormone-Releasing Hormone, aussi appelée GnRH pour Gonadotropin-Releasing Hormone) qui consiste à inhiber la sécrétion de testostérone en modulant les hormones hypothalamiques en amont⁶⁴. C'est le traitement de référence aujourd'hui.

Les agonistes de la LHRH sont injectés ou implantés en sous-cutané entre une fois par mois et une fois par an. Les agonistes de la LHRH commercialisés actuellement sont le leuprolide, la goséréline, la triptoréline et l'histréline. Ces agonistes augmentent de façon transitoire la production de testostérone (phénomène de flare-up ou flambée androgénique) mais au bout de quelques temps, cette stimulation constante et supraphysiologique aboutit à une diminution des taux de testostérone⁶⁴.

A l'inverse, le dégarélix est un antagoniste de la LHRH qui inhibe donc immédiatement la sécrétion de testostérone. Il pourrait donc potentiellement être plus efficace que les antagonistes, cependant cette molécule étant très récente, on manque encore de recul sur son intérêt comparé aux agonistes de LHRH plus « classiques »⁶⁵.

Une approche plus récente prend en compte le fait que les testicules ne sont pas les seuls sites de production de la testostérone. En effet les cellules tumorales elles-mêmes ainsi que les glandes surrénales sont une source non négligeable d'androgènes. L'abiratérone est un inhibiteur de CYP17, une enzyme indispensable à la production d'androgènes, qui permet donc d'inhiber avec encore plus d'efficacité la production de testostérone. Ce traitement est actuellement utilisé dans les cas de CRPC, en combinaison avec un agoniste ou un antagoniste de LHRH. Deux études récentes (STAMPEDE et LATITUDE)^{66,67} suggèrent un bénéfice à l'utilisation d'abiratérone chez des patients hormono-naïfs en combinaison avec l'ADT comparé à l'ADT seule. Il manque cependant encore des études comparant cette combinaison au traitement de référence actuel qui est la combinaison ADT / docétaxel voire à une trithérapie ADT / docétaxel / abiratérone.

Une autre méthode permettant de bloquer l'action des hormones sur le cancer est d'inhiber directement le récepteur aux androgènes avec des antagonistes, empêchant la liaison des androgènes. Plusieurs molécules de ce type sont disponibles sur le marché : le flutamide, le bicalutamide et le nilutamide. Ces traitements étant moins efficaces que la castration⁶⁸, ils ne sont pas utilisés en monothérapie mais peuvent être utilisés de façon transitoire en combinaison avec les agonistes de LHRH en début de traitement pour contrer le phénomène de flambée androgénique. Plus récemment, l'enzalutamide, un anti-androgène de 2^e génération a montré son efficacité dans le traitement des CRPC^{69,70}.

La **chimiothérapie** était principalement utilisée pour les cancers métastatiques en 2^e ligne après échec de l'hormonothérapie. Cependant des études récentes, en particulier l'étude CHAARTED⁷¹, ont montré un bénéfice à traiter les cancers métastatiques hormono-naïfs avec une bithérapie combinant chimiothérapie et ADT d'emblée. C'est donc le nouveau traitement de référence pour les patients dont l'état de santé permet la mise en place d'une chimiothérapie, avec les effets secondaires lourds qu'elle

implique²⁷. Les molécules utilisées sont des taxanes comme le docétaxel et le cabazitaxel, la mitoxantrone ou l'estrามustine. En général le docétaxel est préféré en 1^e intention, en combinaison avec la prednisone.

Récemment, un nouveau traitement original est venu s'ajouter à l'arsenal thérapeutique des CRPC en échec thérapeutique : le sipuleucel-T, qui est un **vaccin**. C'est un traitement personnalisé fabriqué pour chaque patient de façon spécifique. La première étape consiste à prélever les cellules dendritiques du patient par leucophérèse puis à activer ces cellules et à les « éduquer » *in vitro* à reconnaître les cellules tumorales avant de les ré-injecter au patient. Ces cellules vont ainsi pouvoir activer les lymphocytes et les « diriger » contre la tumeur. L'effet a été validé dans plusieurs études cliniques, montrant un gain médian de survie de 4 mois⁷² cependant ce traitement n'est plus disponible en Europe pour des raisons commerciales.

Enfin il existe des **traitements palliatifs** qui visent simplement à soulager les symptômes causés par les **métastases osseuses** (douleurs, fractures et autres complications)²⁷. Les **biphosphonates** sont des molécules qui inhibent l'action des ostéoclastes (cellules responsables de la dégradation de l'os). En effet, l'os est soumis à un turnover constant et résulte d'un équilibre entre l'action des ostéoblastes, qui construisent l'os et des ostéoclastes qui le détruisent. Dans la plupart des cas (75%), les métastases osseuses du cancer de la prostate sont de type ostéolytiques c'est-à-dire qu'elles entraînent une destruction de l'os par augmentation de l'activité des ostéoclastes. L'acide zolédronique, le chef de file de cette classe, est utilisé en injection IV toutes les 3 à 4 semaines⁷³. Une approche plus récente est l'inhibition par un anticorps monoclonal (le **dénosumab**) de RANKL, une protéine essentielle à la formation, la fonction et la survie des ostéoclastes. Cette approche a montré sa supériorité par rapport à l'acide zolédronique dans la prévention des complications osseuses⁷⁴. Enfin, un dernier traitement apparu très récemment dans cette catégorie est le radium-223, un radio-isotope proche du calcium. Cette molécule va se localiser préférentiellement dans les zones osseuses à turnover important comme les métastases et émettre des particules α qui ont une faible diffusion et vont donc détruire préférentiellement les cellules tumorales en épargnant l'os sain. Contrairement aux autres, ce traitement n'est pas palliatif, il a été montré qu'il prolonge la survie des patients⁷⁵ et aurait également un bénéfice en association avec les hormonothérapies de 2^e génération⁷⁶.

VI - Facteurs de risque et d'agressivité du cancer de la prostate

1. Facteurs de risque

Le cancer de la prostate présente seulement quatre facteurs de risque clairement établis, qui sont tous intrinsèques au patient et ne peuvent donc pas être modifiés : ce sont l'âge, l'origine ethnique, des antécédents familiaux de cancer de la prostate et des prédispositions génétiques^{77,78}. Cependant, de

nombreuses études suggèrent que des facteurs extrinsèques (c'est-à-dire liés à l'environnement plus qu'au patient lui-même) et donc potentiellement modifiables pourraient également être impliqués, mais les données sont encore limitées et souvent contradictoires.

- **Age**

Le cancer de la prostate est un cancer principalement lié au vieillissement puisqu'il est très rarement diagnostiqué avant 50 ans et que plus de 85% des patients sont diagnostiqués entre 55 et 85 ans. Bien que l'introduction du dépistage par dosage du PSA ait fait avancer l'âge médian au diagnostic, ce dernier reste de 66 ans⁷⁹.

- **Origine ethnique**

Les origines ethniques sont également un facteur déterminant dans l'apparition du cancer de la prostate : en effet les hommes d'origine asiatique sont moins sujets à cette maladie alors que les hommes africains et afro-américains présentent un risque augmenté (d'un facteur 1.6 comparé aux hommes caucasiens)⁸⁰. Les raisons de ces différences ne sont pas encore totalement élucidées et sont probablement multifactorielles : elles reflètent des différences génétiques, d'exposition à des facteurs de risque et de détection.

- **Antécédents familiaux de CaP**

Les antécédents familiaux jouent également un rôle majeur car le risque de développer un cancer de la prostate double pour les patients avec un apparenté de premier degré qui a lui-même développé un cancer de la prostate (et ce risque augmente encore si plusieurs apparentés ont développé la maladie). 20% des cas de cancer de la prostate sont associés à un antécédent familial mais dans la majorité des cas, cette hérédité est polygénique et plus d'une centaine de variants génétiques ont été associés à une augmentation du risque de cancer de la prostate⁸¹.

- **Prédisposition génétique**

Récemment, plusieurs études d'association pangénomiques (GWAS) ont mis en évidence qu'il existe une prédisposition génétique au cancer de la prostate. Dans des populations de diverses origines ethniques, plus d'une centaine de loci génétiques ont été identifiés et confirmés comme favorisant l'apparition du cancer de la prostate^{81,82}. Les 105 loci identifiés jusqu'ici sont responsables pour un tiers de l'héritabilité du cancer de la prostate.

De très nombreuses études s'intéressent aux facteurs environnementaux, et en particulier aux habitudes alimentaires, qui pourraient favoriser ou au contraire prévenir l'apparition du cancer de la prostate. On peut citer par exemple l'activité physique, une alimentation riche en soja et lycopène (principalement retrouvé dans la tomate) et les anti-inflammatoires qui seraient potentiellement protecteurs vis-à-vis de l'apparition du cancer de la prostate mais qui nécessitent davantage d'études pour être établis

définitivement⁷⁸. A l'inverse, la consommation excessive de certains produits laitiers pourrait être un facteur de risque⁸³, de même qu'une alimentation riche en graisses, bien que les dernières études soient contradictoires^{84,85}.

2. Facteurs d'agressivité

En dehors de ces facteurs de risque, il existe également des facteurs d'agressivité, qui ne prédisposent pas plus les patients à développer un cancer de la prostate mais qui, s'ils en développent un, en augmentent l'agressivité. Parmi ces facteurs d'agressivité, l'**obésité** a été très étudiée⁸⁶. L'obésité est définie par l'OMS comme une accumulation excessive de graisse qui favorise l'apparition de nombreuses autres pathologies chroniques (maladies cardio-vasculaires et cancer en particulier). Concrètement, un individu ayant un IMC (Indice de Masse Corporelle, qui correspond au poids de la personne divisé par le carré de sa taille) supérieur à 30 kg/m² est considéré comme obèse⁸⁷. Concernant le cancer de la prostate, l'obésité est associée à plusieurs facteurs d'agressivité. Tout d'abord, une méta-analyse rassemblant 13 études prospectives a montré que les patients obèses ont plus de risque de présenter un cancer avancé au diagnostic (RR = 1,07 par augmentation de 5 kg/m² d'IMC) et moins de risque de présenter un cancer localisé (RR = 0,94 par augmentation de 5 kg/m² d'IMC)⁸⁸. Une étude a également montré une augmentation du risque de progression biologique du cancer de la prostate chez les patients obèses sous surveillance active (augmentation par 5 kg/m² d'IMC de 50% du risque de progression pathologique et de 40% du risque de progression thérapeutique)⁸⁹. Les patients obèses répondent également moins bien aux différents traitements du cancer de la prostate. En effet, une méta-analyse a montré une augmentation du risque de récurrence après prostatectomie dans un contexte d'obésité (21% par augmentation de 5 kg/m² d'IMC)⁹⁰ et la même tendance est retrouvée pour les patients traités par radiothérapie externe, même si les études sont moins nombreuses. De même, les patients obèses présentent un risque augmenté de progression tumorale sous hormonothérapie (la progression tumorale étant définie par l'apparition d'un cancer résistant à la castration (CRPC) ou de métastases)⁹¹. Enfin, le risque de décès lié au cancer de la prostate est augmenté de 15 à 20% par augmentation de 5 kg/m² d'IMC⁹⁰. Toutefois, ce lien entre obésité et agressivité du cancer de la prostate est débattu car plusieurs études, particulièrement en Europe, ne retrouvent pas d'association entre l'IMC et l'agressivité du cancer de la prostate. Cette divergence pourrait refléter des différences importantes entre les populations étudiées. En effet, les cohortes nord-américaines présentent un pourcentage plus important de patients obèses, ainsi que des patients afro-américains qui présentent des cancers de la prostate plus agressifs et sont davantage touchés par l'obésité⁹².

Un lien entre obésité et cancers de la prostate agressifs pourrait en partie être expliqué par des difficultés techniques dans le dépistage et le traitement du cancer de la prostate chez le patient obèse. En effet, les patients obèses présentent des taux de PSA plus faibles et la réalisation de toucher rectal est plus difficile

chez ces patients, rendant le diagnostic plus compliqué. Une fois le diagnostic posé, le traitement est aussi plus difficile chez ces patients avec des chirurgies plus longues et plus risquées et une difficulté d'adapter les doses d'hormonothérapie en particulier⁸⁶. Cependant, en dehors de ces biais techniques, des mécanismes moléculaires intrinsèques à l'obésité peuvent aussi expliquer ce lien. Les principales hypothèses évoquées sont :

- L'augmentation des taux circulants d'insuline et d'IGF-1 (insulin-like growth factor-1) causée par l'insulinorésistance souvent retrouvée dans un contexte d'obésité, qui ont un effet pro-prolifératif sur les cellules tumorales.
- La dérégulation des hormones stéroïdiennes due à l'aromatase des précurseurs androgéniques en œstrogènes par une enzyme du tissu adipeux, l'aromatase. Chez l'homme obèse, on retrouve donc une augmentation des taux d'œstrogènes et une diminution des taux de testostérone. Plusieurs études ont montré qu'un environnement pauvre en testostérone conduisait à l'apparition de cancers moins différenciés et plus agressifs⁹³⁻⁹⁵.
- La dérégulation des adipokines qui induisent un état inflammatoire chronique pro-tumoral. Cette hypothèse du rôle paracrine du tissu adipeux dans la progression tumorale sera discutée ultérieurement.

En dehors de l'obésité, un **régime alimentaire dit « occidental »** (riche en charcuterie, viande rouge, produits laitiers riches en matières grasses et céréales raffinées) est considéré comme un facteur d'agressivité probable du cancer de la prostate depuis longtemps, sur la base d'études épidémiologiques^{77,96}.

Le cancer de la prostate est donc une pathologie encore mal comprise et très hétérogène, allant de la pathologie indolente sans risque de conséquence majeure pour le patient au cancer très agressif, résistant à la castration et formant des métastases osseuses de très mauvais pronostic. Il est donc d'une importance majeure d'identifier des facteurs pronostiques permettant d'anticiper l'évolution d'un cancer détecté à un stade précoce. On a vu que dans cet objectif, une caractérisation plus précise de la tumeur elle-même avait son importance avec le développement d'une classification moléculaire des cancers de la prostate. Cependant, on sait aussi que le microenvironnement tumoral joue un rôle très important, et le fait que l'obésité soit un facteur d'agressivité du cancer de la prostate, nous a poussé à nous intéresser à l'influence que pouvait avoir le tissu adipeux périprostatique (et en particulier son abondance) sur la progression tumorale. Cet aspect sera développé dans la troisième partie de cette introduction mais avant cela, je m'intéresserai au tissu adipeux en général, à la fois en physiologie et en pathologie.

Partie II - Le tissu adipeux physiologique et pathologique

I - Généralités

1. Distribution du tissu adipeux (TA)

L'expression « tissu adipeux » fait souvent référence au tissu adipeux blanc. C'est un raccourci car il existe en fait d'autres types de tissu adipeux (et en particulier le tissu adipeux brun) maintenant bien caractérisés et qui jouent plusieurs rôles majeurs dans l'organisme. Cependant, j'utiliserai cette approximation dans la suite de mon exposé car je m'intéresserai seulement à ce TA blanc. Le tissu adipeux a pour principale fonction de stocker de l'énergie sous forme de lipides pour ensuite pouvoir la libérer sous forme d'acides gras libres (AGL) par lipolyse. Cependant, on sait aujourd'hui que c'est également un organe endocrine qui régule le métabolisme et de nombreuses autres fonctions⁹⁷.

Le TA est un tissu conjonctif composé d'adipocytes et d'autres cellules (progéniteurs adipocytaires, cellules endothéliales, fibroblastes et cellules immunitaires) regroupées sous le terme de Fraction Stroma-Vasculaire (SVF)⁹⁸. Morphologiquement, les adipocytes se présentent sous forme d'une grosse gouttelette lipidique uniloculaire qui occupe 90% du volume cellulaire et repousse en périphérie les organelles (comme les mitochondries, petites et peu nombreuses) et le noyau⁹⁹.

On distingue différents types de tissu adipeux selon leur localisation et leur fonction : le tissu adipeux sous-cutané et le tissu adipeux viscéral (Figure 9). Le **tissu adipeux sous-cutané** est, comme son nom l'indique, situé sous la peau, dans une zone appelée hypoderme. Il est en fait constitué de deux couches distinctes : le TA sous-cutané superficiel et profond. Il est réparti dans tout l'organisme, les principaux dépôts étant le fémoral, le glutéal, l'abdominal ainsi que le TA mammaire chez la femme. Il représente 80% de la masse grasse totale chez les individus normopondéraux. Le **tissu adipeux viscéral** est constitué de dépôts plus profonds qui entourent les organes renfermés dans les grandes cavités du corps (les principaux dépôts sont l'omental, l'ombilical et le mésentérique). Bien que minoritaire (5-10% chez les femmes et 10-20% chez les hommes normopondéraux), c'est ce TA qui est le plus actif métaboliquement et responsable des complications cardiovasculaires et métaboliques de l'obésité^{100,101}.

D'un point de vue morphologique et fonctionnel, il existe des différences entre ces deux types de TA. Les adipocytes viscéraux sont de plus petite taille que les adipocytes sous-cutanés chez des individus normopondéraux¹⁰² et la composition cellulaire présente également des variations avec en particulier plus de macrophages dans le tissu adipeux viscéral^{103,104}. Les sécrétions sont également différentes avec principalement l'adiponectine et la leptine relarguées par le TA sous-cutané alors que le TA viscéral produit plus de cytokines pro-inflammatoires de type TNF α , IL6, MCP-1, VEGF et PAI1³. Ces différences seront détaillées ultérieurement.

D'autres dépôts adipeux minoritaires sont répartis dans l'organisme : les TA périprostatique, médullaire, péri-vasculaire, péricardique ou encore rétropéritonéaux (péri-pancréatique, péri-rénal). Bien qu'usuellement classés dans le TA viscéral, je ne les inclurai pas dans cette catégorie dans la suite de mon exposé car ils sont beaucoup moins étudiés et présentent des spécificités propres. En effet, de plus en plus d'études montrent que tous ces dépôts ont une certaine indépendance et des spécificités qui font qu'on ne peut plus considérer le tissu adipeux comme une entité homogène mais bien comme un ensemble hétérogène de tissus¹⁰⁵.

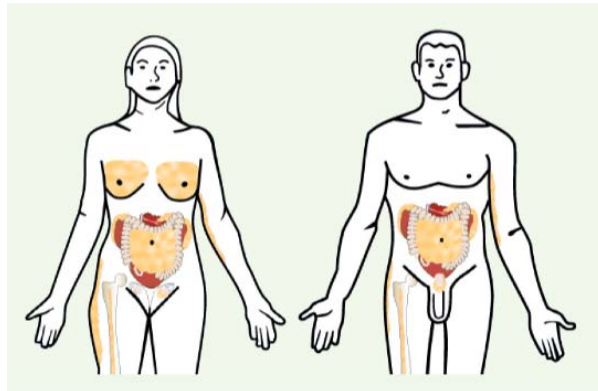


Figure 9. Distribution des dépôts adipeux chez la femme et l'homme. Le tissu adipeux se répartit dans des dépôts sous-cutanés et viscéraux. On en retrouve également dans l'os, au niveau mammaire chez la femme et en périprostatique chez l'homme. D'après Laurent et al., *Médecine/Sciences*, 2014.

2. Composition du TA en condition physiologique

a) Composants cellulaires

Le TA est un tissu conjonctif composé d'adipocytes et d'autres types cellulaires comme les cellules progénitrices adipocytaires, les cellules endothéliales, les fibroblastes et les cellules immunitaires, regroupés sous le nom de Fraction Stroma-Vasculaire (SVF)⁹⁸. Les adipocytes se rassemblent en lobules (de taille variable selon le type de TA) séparés les uns des autres par de fines couches de tissu conjonctif lâche.

La présence de cellules immunitaires dans le TA influe sur sa façon de réguler le métabolisme ce qui a donné naissance à un nouveau champ de recherche : **l'immuno-métabolisme**¹⁰⁶. Ces cellules immunitaires peuvent avoir un rôle positif, par exemple chez les sujets normopondéraux, elles interviennent dans le maintien de l'homéostasie tissulaire : élimination des cellules apoptotiques, remodelage de la matrice extracellulaire et angiogenèse. A l'inverse, dans des pathologies comme l'obésité, l'accumulation de certaines cellules immunitaires conduit à un état inflammatoire chronique associé à des dysfonctionnements du TA¹⁰⁶.

Physiologiquement, 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** sont les cellules majoritaires en nombre, qui peuvent représenter jusqu'à 10% de la SVF chez des individus normopondéraux. Classiquement, on distingue deux types de macrophages : les macrophages M1, activés par la voie classique, plutôt pro-inflammatoires et caractérisés par la sécrétion de TNF α et l'expression de NOS (Nitrite Oxide Synthase) et les macrophages M2, activés par la voie alternative, plutôt anti-inflammatoires, exprimant le marqueur de surface CD206 et sécrétant majoritairement de l'IL10 et du TGF β ¹⁰⁷. Les macrophages sont des cellules plastiques et leur orientation vers l'un ou l'autre de ces deux phénotypes dépend de leur microenvironnement : les cytokines de type Th2 IL4 et IL13 les orientent vers le phénotype M2 tandis que les cytokines Th1 comme l'IFN γ conduit plutôt à un phénotype M1. En réalité, le microenvironnement des macrophages étant un mélange complexe de diverses cytokines en proportions variables, leurs phénotypes représentent plutôt un continuum de formes mixtes entre ces deux extrêmes. Les macrophages retrouvés dans le TA "sain" sont majoritairement anti-inflammatoires et jouent un rôle crucial dans l'insulino-sensibilité du TA via la sécrétion d'IL10, une cytokine qui potentialise la voie de signalisation de l'insuline dans les adipocytes¹⁰⁷.

Concernant les granulocytes (polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles), une étude a montré que les **polynucléaires éosinophiles**, bien que minoritaires en quantité, jouent un rôle majeur dans l'homéostasie du tissu adipeux sain. En effet, les adipocytes sécrétant peu d'IL4, sa source principale dans le TA de souris normopondérales est constituée par les éosinophiles. En l'absence de ces cellules, les macrophages perdent leur phénotype M2 pour devenir majoritairement M1, ce qui entraîne un phénomène d'insulino-résistance¹⁰⁸.

Les **lymphocytes T** retrouvés dans le TA "sain" ont également un phénotype particulier. Ce sont majoritairement des lymphocytes T régulateurs (Tregs) Foxp3+ qui sont normalement impliqués dans la tolérance aux antigènes du soi et ont un profil d'expression particulier dans le TA, avec une expression très élevée de l'IL10¹⁰⁹. Le phénotype unique de ces Tregs est lié au fait qu'ils expriment de façon inhabituelle PPAR γ ¹¹⁰.

Ces résultats montrent que les cellules immunitaires du TA sain sécrètent de nombreux facteurs pouvant participer à l'homéostasie tissulaire et à la régulation du métabolisme. Cependant les mécanismes impliqués ne sont pas encore élucidés : elles pourraient agir par leurs propriétés anti-inflammatoires ou encore en sécrétant des facteurs insulino-sensibilisants qui amélioreraient l'homéostasie du glucose.

b) Matrice extracellulaire (MEC)

Comme dans tout tissu conjonctif, les cellules du TA sont incluses dans une matrice extracellulaire (MEC) composée à la fois de protéines structurales, les collagènes, et de protéines d'adhésion type fibronectine, laminine, élastines et protéoglycanes¹¹¹. Cette MEC ressemble fortement à celle qu'on peut trouver dans les autres tissus conjonctifs mais avec des spécificités sur lesquelles je me concentrerai.

Principaux composants de la MEC : Les principales protéines structurales de la MEC sont les collagènes, qui sont des trimères de chaînes α polypeptidiques associées par des liaisons hydrogène et covalentes sous forme de triple hélice¹¹². Aujourd'hui, 28 types de collagènes ont été identifiés. Certains d'entre eux s'associent pour former des fibres, on parle alors de collagènes fibrillaires : ce sont les I, II, III, V et XI¹¹². Les autres sont dits non fibrillaires. Les collagènes I, III, IV, V, VI, XII, XIV, XV and XVIII ont été décrits dans le TA humain^{113,114}. Le collagène VI semble être un composant particulièrement important de la MEC du TA. En effet, c'est un des collagènes les plus abondamment exprimés dans le TA et il est bien plus fortement exprimé dans ce TA que dans d'autres tissus (foie, muscle, pancréas, cœur)^{115,116}. Bien que les fibroblastes soient une source majeure de collagènes en général, ce sont les adipocytes matures qui sont la source principale de collagène VI dans le TA^{117,118}.

L'élastine est également une protéine structurale mais contrairement aux collagènes, elle donne de l'élasticité au tissu, leur permettant de s'étirer et de revenir ensuite à leur état basal. La MEC est également composée de glycoprotéines comme la fibronectine, qui en se liant à la fois aux fibres de collagènes et aux intégrines présentes à la surface cellulaire, permet aux cellules de se déplacer à travers la matrice. Les laminines sont des glycoprotéines qui s'associent aux collagènes pour renforcer la structure de la membrane basale cellulaire¹¹⁹. La MEC contient également des protéoglycanes comme l'héparane sulfate, qui sont des molécules capables de lier de nombreux ligands permettant à la fois de les protéger de la dégradation mais aussi de les séquestrer et les relarguer de façon spécifique¹²⁰⁻¹²². Enfin, la MEC contient des protéines comme SPARC (Secreted Protein Acidic and Rich in Cystein) qui n'ont pas de fonction structurelle mais « supervisent » le turnover et l'organisation des autres protéines de la matrice¹²³.

Organisation de la matrice péri-adipocytaire (Figure 10) : Dans le TA, chaque adipocyte est entouré d'une fine membrane basale composée de collagène IV associé à la laminine¹²⁴, elle-même entourée d'une couche de collagène fibrillaire¹²⁵. Des fibres plus épaisses de collagène I entourant plusieurs adipocytes forment une architecture en lobules. Les molécules de collagène de type V constituent des micro-fibres qui s'associent avec les fibres plus épaisses de collagène I. Les molécules de collagène VI forment des microfibrilles à l'interface entre la membrane basale et les fibres épaisses de collagène I¹²⁵.

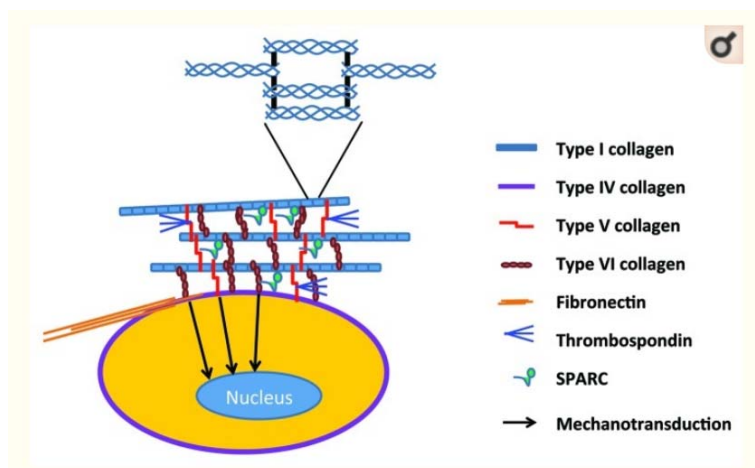


Figure 10. Les adipocytes sont entourés d'une matrice complexe. SPARC = Secreted protein, acidic and rich in cysteine. D'après Chun, *Adipocyte*, 2012.

Dégradation / remodeling de la MEC : La MEC du TA est constamment remodelée par l'action de métalloprotéinases, les deux principales familles étant les MMP (Matrix Metalloproteinases) et les ADAMTS (A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs)¹²⁶. Il existe 23 membres dans la famille des MMP. Chacune d'entre elle a pour cible plusieurs types de collagènes et de protéines de la MEC mais avec une affinité et une efficacité différentes selon les cibles. De même, la famille des ADAMTS comprend 19 membres capables de dégrader des protéines de la MEC et en particulier les protéoglycanes¹²⁶. L'activité de ces enzymes est fortement régulée. En effet, la plupart des MMP sont sécrétées sous forme inactive et nécessitent une étape de clivage pour devenir actives et, une fois actives, leur action est limitée par des inhibiteurs endogènes, les TIMP (Tissue Inhibitors of Metalloproteinases). Les TIMP sont une famille de 4 molécules capables d'inhiber les différentes MMP avec plus ou moins d'affinité. Tout ceci conduit à un système finement régulé¹²⁶.

Cette dégradation de la MEC par les métalloprotéinases, en plus de générer un remodelage du tissu, permet la maturation des précurseurs du collagène, le relargage de facteurs de croissance séquestrés, la conversion de protéines structurales en molécules bioactives et la différenciation adipocytaire.

Rôles de la MEC : La MEC a non seulement un rôle de maintien de l'architecture du TA mais exerce aussi des fonctions biologiques. En particulier, elle joue un rôle majeur dans le développement et le maintien du TA ainsi que dans la disponibilité des facteurs de croissance.

Dans un premier temps, la différenciation adipocytaire s'accompagne de grands remaniements de la MEC avec une diminution des collagènes fibrillaires I et III et une accumulation très importante du collagène IV qui va former la membrane basale de l'adipocyte, ainsi que des collagènes V et VI¹²⁷. Les sécrétions adipocytaires sont modifiées au cours de ce processus avec en particulier une augmentation

des MMP2, 9 et 14 qui permettent la protéolyse des collagènes fibrillaires et l'expansion de la taille adipocytaire due à l'accumulation de lipides¹²⁸⁻¹³⁰. Ces remaniements de la matrice sont indispensables à la différenciation adipocytaire car une inhibition de la synthèse des collagènes V et VI ou des MMP empêche tout processus de différenciation adipocytaire¹³¹.

Le remaniement de la MEC ne se limite pas au phénomène de différenciation adipocytaire et se poursuit chez les adipocytes matures. En effet, une étude des sécrétions d'adipocytes 3T3-L1 matures a identifié plusieurs composants de la MEC dont le COL1A1, le COL1A2 et la calréticuline. Les collagènes représentaient les protéines les plus abondantes du sécrétome, suggérant un turnover important de la MEC, même chez des adipocytes matures¹³². Ce remaniement de la MEC par les adipocytes matures est, entre autres, régulé par l'insuline qui stimule la sécrétion de plusieurs molécules de collagènes, sans affecter leur niveau de transcription¹³³.

La MEC a également un 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 de façon temps-dépendante et site-dépendante grâce à l'action de protéases. On peut citer l'exemple du FGF-2 (basic Fibroblast Growth Factor) qui est lié à l'héparane sulfate qui va à la fois augmenter sa stabilité et permettre la formation de tétramères en stabilisant deux récepteurs au FGF liés à deux molécules de FGF-2, permettant ainsi l'action de ce facteur de croissance^{120,121}. De même la libération du 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 sulfate¹²².

La MEC est également un réservoir de ce qu'on appelle des matrikines. Ce terme désigne des peptides issus de macromolécules de la MEC, capables, en se liant à des récepteurs de surface, de réguler des fonctions cellulaires à la façon des facteurs de croissance¹³⁴. Le terme de matricryptines désigne quant à lui des peptides inactifs qui nécessitent d'être révélés ou libérés par protéolyse partielle pour devenir actifs¹³⁵. Plusieurs matrikines et matricryptines ont été décrites dans le TA, cependant elles ont été étudiées dans un contexte d'obésité et leur rôle physiologique est encore inconnu. Par exemple, les Elastine-Derived Peptides (EDP) sont augmentés dans un contexte d'obésité et, en se liant à leur récepteur ECR (Elastin Receptor Complex), ils jouent un rôle dans l'apparition de l'insulino-résistance et de l'hypertrophie adipocytaire par augmentation de PPAR γ et des enzymes de la lipogenèse¹³⁶. 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^{137,138}. Enfin, l'endotrophine est un 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 TA¹¹⁷ et favorise la progression tumorale du cancer du sein en augmentant la prolifération cellulaire, le phénomène d'EMT et également la résistance au traitement par

cisplatine^{139,140}. Les mécanismes sous-jacents sont très mal décrits car on ne connaît ni la protéase à l'origine de ce clivage ni le ou les récepteurs sur lesquels l'endotrophine agit.

3. Adipogenèse

Chez l'Homme, les dépôts adipeux se développent majoritairement avant la naissance et chez le nouveau-né¹⁴¹. Cependant, le TA se renouvelle tout au long de la vie (environ 10% de turnover chaque année)¹⁴² et garde une capacité d'expansion qui lui permet de répondre aux excédents d'énergie. Deux mécanismes permettent au tissu adipeux de se développer : l'hypertrophie, qui correspond à une augmentation de la taille adipocytaire, et l'hyperplasie, qui correspond à l'augmentation du nombre d'adipocytes par le recrutement et la différenciation de nouveaux progéniteurs¹⁴³.

Ce phénomène de différenciation adipocytaire, appelé adipogenèse, se déroule en deux étapes. Dans un premier temps, les cellules souches adipeuses (Adipose-Derived Stem Cells, ADSC) s'engagent dans la lignée adipocytaire : on parle de **détermination**¹⁴⁴. Ces cellules souches adipeuses ont été identifiées récemment dans le TA. Comme les MSC (Mesenchymal Stem Cells) issues de la moelle osseuse, elles sont multipotentes et capables de proliférer et de se différencier en différents types cellulaires (*in vitro* et *in vivo*) dont les adipocytes, ostéoblastes, chondrocytes et myoblastes¹⁴⁵. On parle de « détermination » car après cette étape, les cellules deviennent des pré-adipocytes et ne peuvent plus se différencier en d'autres types cellulaires. Dans un deuxième temps, ces pré-adipocytes passent par un processus appelé **différenciation terminale** qui en fera des adipocytes matures. Ce processus est très étudié à l'aide de lignées cellulaires¹⁴⁴.

II - Rôles du tissu adipeux

Le rôle principal du tissu adipeux est de réguler les réserves énergétiques de l'organisme en stockant les acides gras libres en excès sous forme de triglycérides et en les libérant ensuite à la demande pour répondre aux besoins des différents organes. Plus récemment, il est apparu que c'est également un organe endocrine capable de sécréter de nombreuses molécules regroupées sous le nom d'adipokines¹⁴⁶.

1. Stockage des lipides

Chez l'Homme, le tissu adipeux constitue la plus grande réserve de triglycérides (TG) et d'énergie de l'organisme. Ces TG sont stockés dans les gouttelettes lipidiques des adipocytes. Les triglycérides sont synthétisés dans les adipocytes à partir de trois molécules d'acides gras (AG) estérifiés et d'un glycérol-3-phosphate¹⁴⁷.

La principale source **d'acides gras** est l'alimentation. Les triglycérides sont incorporés dans des lipoprotéines appelées VLDL (Very Low Density Lipoprotein, au niveau du foie) ou chylomicrons (au niveau des intestins) et transportés dans le plasma. Ces lipoprotéines sont hydrolysées au niveau des capillaires du tissu adipeux par une enzyme appelée Lipoprotein Lipase (LPL) qui libère les AG¹⁴⁸. Le passage de la membrane plasmique des adipocytes se fait principalement grâce à des transporteurs comme CD36 (aussi appelé Fatty Acid Translocase (FAT)) mais peut également se faire par diffusion passive¹⁴⁹.

La première étape de la réaction de synthèse des TG est l'activation des AG en acyl-coA par l'acyl-coA synthase-1¹⁴⁷. Il existe aussi une voie de synthèse des AG à partir des glucides, appelée lipogenèse *de novo*, mais elle est très minoritaire et ne sera donc pas détaillée ici. La synthèse de TG nécessite aussi une molécule de **glycérol-3-phosphate** (G3P) pour la première étape d'estérification des AG. La glycérokinase étant très peu active dans les adipocytes, le G3P est produit, soit à partir de glucose lors des premières étapes de la glycolyse, ou à partir de métabolites du glucose (lactate, pyruvate) par glycéronéogenèse. La disponibilité du G3P dans la cellule est un régulateur majeur car il contrôle à la fois le taux d'estérification des AG et la ré-estérification partielle des AG issus de la lipolyse. La **biosynthèse des TG**, qui a lieu dans le réticulum endoplasmique, consiste en l'estérification successive des groupements alcool du G3P par différentes enzymes¹⁴⁷.

2. Lipolyse

La lipolyse se fait en plusieurs étapes successives d'hydrolyse du TG, d'abord en diacylglycerol (DAG) puis en monoacylglycerol (MAG) et enfin en glycérol, chaque étape s'accompagnant du relargage d'une molécule d'AG. Trois enzymes sont responsables, respectivement ATGL (Adipose Tissue Triglyceride Lipase), HSL (Hormone-Sensitive Lipase) et MAGL (Monoacylglycerol Lipase)¹⁵⁰. Les adipocytes possédant une très faible activité de la glycérol kinase, le glycérol est relargué dans la circulation et disponible pour être utilisé dans d'autres tissus. A l'inverse, les AG peuvent soit être relargués dans la circulation, soit être ré-estérifiés¹⁵¹.

La lipolyse est principalement régulée par l'activité de l'enzyme HSL. HSL est une sérine protéase qui peut à la fois hydrolyser les TAG et les DAG mais avec une activité préférentielle sur les DAG. La lipolyse est stimulée par les catécholamines, à travers les récepteurs β -adrénergiques qui activent la voie de signalisation adénylate cyclase / AMPc / PKA. La PKA va pouvoir phosphoryler HSL qui, du cytoplasme, va venir se localiser à la membrane de la gouttelette lipidique et exercer son activité de lipase. La périlipine 1 est une protéine localisée à la surface des gouttelettes lipidiques des adipocytes qui joue un rôle majeur dans la coordination du stockage et de l'utilisation des lipides. A l'état basal, elle séquestre la protéine CGI-58 (Comparative Gene Identification 58) et l'empêche de jouer son rôle d'activateur d'ATGL. Suite à une stimulation β -adrénergique, la périlipine 1 est phosphorylée par la

PKA, se dissocie de CGI-58 qui va interagir avec ATGL et l'activer. Plus récemment, une autre voie d'activation de la lipolyse a été découverte qui implique les peptides natriurétiques¹⁵². A l'inverse, la lipolyse peut être inhibée par les catécholamines, à travers leurs récepteurs α -adrénergiques, ainsi que par l'insuline, qui est la principale hormone anti-lipolytique¹⁵¹.

Les acides gras, toxiques et insolubles dans le cytosol, ils sont ensuite pris en charge par des protéines de transport appelées FABP (Fatty Acid Binding Protein) 4 et 5¹⁵³.

3. Sécrétions

Au-delà de son rôle de réservoir d'énergie, le tissu adipeux est maintenant largement reconnu comme un organe endocrine dont les sécrétions sont regroupées sous le terme d'adipokines¹⁴⁶.

La **leptine** a été la première adipokine à être découverte (avec le TNF α), en 1994¹⁵⁴, révolutionnant la vision que l'on avait du TA comme un simple réservoir d'énergie relativement inerte. Elle est principalement (mais pas exclusivement) sécrétée par les adipocytes et le TA en est la source majeure dans l'organisme. Elle joue un rôle clé dans la régulation du métabolisme. En effet, elle contrôle le poids en régulant les sensations de faim et de satiété au niveau de l'hypothalamus.

L'**adiponectine** est une adipokine exclusivement sécrétée par le tissu adipeux et c'est la plus abondante en terme de quantité¹⁵⁵. Elle a des propriétés anti-athérogènes en inhibant l'adhésion des macrophages aux cellules endothéliales, la transformation des macrophages en cellules spumeuses et l'activation des cellules endothéliales^{156,157}. Elle participe au maintien d'un microenvironnement anti-inflammatoire en induisant la sécrétion de grandes quantités d'IL10 par les macrophages¹⁵⁸. Elle augmente également l'insulino-sensibilité des muscles et du foie en augmentant la β -oxydation et diminuant la production hépatique de glucose¹⁴⁶.

Le **TNF α** est la première cytokine pro-inflammatoire sécrétée par le tissu adipeux qui a été découverte¹⁵⁹. Tout comme l'**IL6**, une autre cytokine pro-inflammatoire importante sécrétée par le tissu adipeux, elle est sécrétée par de nombreuses cellules dont les adipocytes, les cellules immunitaires ou encore les fibroblastes. Elles ont un rôle pro-athérogène en augmentant l'inflammation des vaisseaux et pro-diabétique en inhibant les voies de signalisation de l'insuline^{160,161}.

La **résistine** est une adipokine sécrétée par les adipocytes chez la souris et par les macrophages chez l'Homme¹⁶². Son rôle est controversé du fait que la plupart des études aient été réalisées chez la souris qui ne semble pas un bon modèle d'étude pour cette protéine. Chez la souris, elle participe à l'insulino-résistance chez les sujets obèses alors que chez l'Homme, étant principalement sécrétée par les monocytes circulants et corrélée aux taux d'IL6, l'hypothèse d'un rôle pro-inflammatoire est privilégiée¹⁶².

De nombreuses autres adipokines ont été décrites, en particulier PAI-1 (Plasminogen Activating Inhibitor-1), l'angiotensinogène, RBP-4 (Retinol Binding Protein-4), ...¹⁶³ Au-delà de leur action systémique, les adipokines peuvent jouer un rôle autocrine ou paracrine dans le TA car les adipocytes présentent plusieurs récepteurs dont ceux de la leptine, de l'adiponectine, de l'IL6 et du TNF α ¹⁶³.

III - Non pas un, mais des tissus adipeux

Les dépôts viscéral et sous-cutané ont des phénotypes et des rôles différents dans le stockage des lipides. Le TA sous-cutané représente le réservoir physiologique où s'accumulent les excès d'acides gras. Quand les capacités de stockage de ce TA sous-cutané sont dépassées ou qu'il perd sa capacité à former de nouveaux adipocytes à partir de précurseurs, les AG vont s'accumuler ailleurs, dans des dépôts qu'on appelle « ectopiques ». Au sens primaire du terme, ces dépôts ectopiques correspondent à une accumulation d'AG dans des cellules qui ne sont pas des adipocytes (en particulier hépatocytes, cellules musculaires, ...). De façon plus large, on peut étendre cette définition d'accumulation ectopique de graisse à toute accumulation d'AG dans des dépôts adipeux qui ne sont pas sous-cutanés, associée à différentes pathologies. Ils comprennent donc en particulier le TA viscéral, le TA médullaire, péri-cardique, péri-rénal, péri-prostatique, ...¹⁶⁴.

1. Adipogenèse

Des données suggèrent que chaque dépôt adipeux aurait une population d'ASC particulière, ce qui pourrait expliquer les différences régionales entre ces dépôts adipeux et leurs caractéristiques uniques. De façon générale, il a été montré que les préadipocytes issus du TA sous-cutané ont un cycle de réplication plus rapide, se différencient davantage en adipocytes dans un milieu approprié et sont moins sensibles à l'apoptose, comparé au TA viscéral omental¹⁶⁵.

Ces différences de dynamique cellulaire (équilibre entre réplication, différenciation et apoptose) observées entre les préadipocytes des différents dépôts sont conservées après 40 passages *in vitro* ce qui montre qu'elles sont propres aux préadipocytes et non à leur microenvironnement, lui aussi différent selon le dépôt adipeux¹⁶⁶. Les télomères sont également plus longs dans les préadipocytes de TA viscéral ce qui peut expliquer que les différents dépôts adipeux varient différemment avec le vieillissement (ce point sera développé ultérieurement). De même, les préadipocytes des différents dépôts adipeux ont des profils d'expression génique différents, en particulier concernant les gènes du développement, et ces différences persistent après 40 passages *in vitro*¹⁶⁷.

Il existe probablement aussi des différences au sein même des TA viscéraux et sous-cutanés selon la localisation des dépôts. En effet, une étude comparant des progéniteurs adipocytaires de deux TA

viscéraux (mésentérique et omental) et d'un TA sous-cutané a révélé que les préadipocytes du TA viscéral mésentérique avaient un profil d'expression génique plus proche de celui du TA sous-cutané que du TA viscéral omental suggérant de grandes variations au sein même du TA viscéral¹⁶⁷.

En terme de secrétome également, on observe des différences entre les préadipocytes selon leur origine¹⁶⁸. En effet, les préadipocytes du TA viscéral omental sécrètent plus de molécules susceptibles de chimioattirer des monocytes/macrophages (CCL5, IL6, MCP-1) ce qui suggère que les préadipocytes pourraient être des éléments centraux à l'origine des différences de composition cellulaire existant entre les différents dépôts adipeux.

Enfin, ces différences en terme de préadipocytes pourraient expliquer les variations dans les modes d'expansion des différents TA. En effet, le TA viscéral se développe principalement par une hypertrophie des adipocytes (augmentation de taille) alors que le TA sous-cutané se développe plutôt par hyperplasie (augmentation du nombre des adipocytes), peut-être à cause de la plus grande capacité de ses préadipocytes à se répliquer et à former de nouveaux adipocytes^{169,170}.

2. Lipolyse

En terme de **métabolisme**, le TA viscéral est plus actif que le sous-cutané. En effet, Le TA viscéral abdominal présente une activité lipolytique supérieure, répond davantage aux signaux lipolytiques comme les catécholamines et moins aux signaux anti-lipolytiques comme l'insuline, comparé aux TA sous-cutanés fémoral et glutéal¹⁵¹. Ainsi, le TA sous-cutané constituerait plutôt une réserve à long terme, qui neutralise efficacement la toxicité des AGL mais est difficile à mobiliser alors que le TA viscéral est une réserve mobilisable rapidement, avec un turnover important.

Ces variations de réponse aux signaux lipolytiques observées entre les différents dépôts adipeux peuvent s'expliquer par les niveaux d'expression relatifs de leurs récepteurs β versus α -adrénergiques¹⁵¹. En effet, les adipocytes du TA abdominal présentent plus de récepteurs $\beta 1$ et $\beta 2$ -adrénergiques et y sont plus sensibles, tandis qu'ils présentent moins de récepteurs $\alpha 2$ -adrénergiques que les adipocytes des TA fémoral ou glutéal¹⁷¹.

Les autres dépôts adipeux ont été bien moins étudiés mais les quelques études réalisées sur le TA mammaire par exemple montrent que ce dépôt a des caractéristiques assez proches du TA viscéral. En effet, ses capacités lipolytiques stimulées par la norépinéphrine sont similaires au TA viscéral abdominal¹⁷². Cependant, sa localisation particulière fait que, pendant la grossesse, sous l'effet des modifications de la glande mammaire, il subit des modifications importantes et en particulier une expansion due à une diminution de ses capacités lipolytiques¹⁷³.

3. Composition

La première différence observée concerne les **adipocytes** eux-mêmes : ils sont de plus petite taille dans le TA viscéral que dans le TA sous-cutané¹⁰². Les adipocytes du TA mammaire ont également tendance à être plus gros que ceux du TA viscéral et, au cours de la grossesse, on retrouve une hypertrophie encore plus marquée de ces adipocytes^{172,173}.

En terme de **composition cellulaire** également, on observe des différences importantes entre les dépôts adipeux, par exemple avec plus de macrophages dans le TA viscéral^{103,104}. Chez la souris, il a également été montré des différences en terme de cellules lymphocytaires avec une majorité de lymphocytes de l'immunité innée (NK, NKT et T $\gamma\delta$) dans le TA épididymal et une majorité de lymphocytes participant à l'immunité acquise dans le TA sous-cutané¹⁷⁴.

En dehors de la composition cellulaire, la matrice extracellulaire varie également selon les dépôts adipeux. On retrouve une augmentation des fibres de collagène I sous forme de travées fibreuses (« bundles »), ainsi que des collagènes III et V dans le TA sous-cutané comparé au viscéral¹¹⁶.

4. Sécrétions

Le type d'**adipokines** sécrétées est également très dépôt-dépendant et on peut généralement les grouper selon qu'elles présentent des caractéristiques pro- ou anti-inflammatoires (Figure 11). Ainsi, le sécrétome du TA sous-cutané sain est majoritairement anti-inflammatoire alors que le TAV est plutôt pro-inflammatoire. Le TA sous-cutané est la principale source de leptine¹⁷⁵ tandis que le TA viscéral, infiltré par davantage de cellules inflammatoires, sécrète plus de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF α , l'IL6 ou encore la CRP. Il en est de même pour d'autres adipokines comme PA-1 et l'angiotensinogène³.

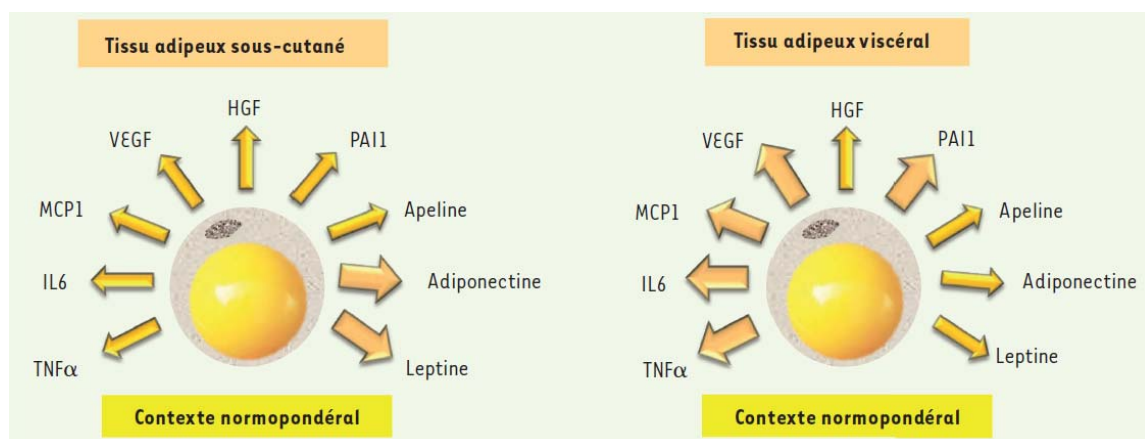


Figure 11. Variations du profil d'adipokines sécrétées par le tissu adipeux selon son origine.

D'après Laurent et al., *Médecine/Sciences*, 2014.

Bien que les autres dépôts adipeux soient peu étudiés, certains éléments laissent à penser qu'ils pourraient également présenter des spécificités en terme de sécrétions. Par exemple, la sécrétion d'IGF-1 est davantage induite par les œstrogènes dans le TA mammaire comparé à un autre TA¹⁷⁶.

IV - Modifications du tissu adipeux en situation physiopathologique

Il existe plusieurs situations physiopathologiques au cours desquelles le tissu adipeux est modifié et devient ainsi délétère pour l'organisme. Nous détaillerons ici deux de ces situations physiopathologiques : l'obésité et l'accumulation de dépôts ectopiques.

1. Obésité

L'obésité est définie comme une accumulation excessive de graisses qui a des conséquences néfastes sur la santé⁸⁷. Dans un contexte d'obésité, le tissu adipeux doit se développer pour stocker l'excès d'apport énergétique. Il peut le faire par deux moyens : l'hypertrophie, qui correspond à une augmentation de taille des adipocytes et l'hyperplasie, qui correspond à une augmentation du nombre d'adipocytes formés par recrutement, multiplication et différenciation de progéniteurs adipocytaires. Plusieurs études ont montré que l'hypertrophie adipocytaire précédait l'apparition de l'hyperplasie^{177,178}. Une hypothèse actuelle est que les adipocytes hypertrophiques, en atteignant une taille critique, sécrèteraient des molécules favorisant la prolifération et la différenciation des progéniteurs, et seraient ainsi à l'origine de l'hyperplasie qui s'ensuit^{177,179}.

Cependant, cette hypothèse paracrine n'est probablement pas le seul facteur à entrer en jeu car l'équilibre entre hypertrophie et hyperplasie semble varier selon les dépôts adipeux et selon le terrain génétique^{177,180}. La plupart des études réalisées chez l'Homme¹⁶⁶ et chez la souris^{181,182} suggèrent que le TA viscéral se développe majoritairement par hypertrophie alors que le sous-cutané plutôt par hyperplasie. En plus de la taille critique adipocytaire, les caractéristiques propres aux progéniteurs adipocytaires, le degré d'innervation et le flux sanguin jouent probablement un rôle dans le mode d'expansion des différents TA. En effet, des différences d'expression génique, de capacités de différenciation et de réponse aux facteurs de croissance entre ADSC de différentes origines pourraient expliquer les différences observées entre les tissus adipeux en réponse à un régime riche en graisses. Par exemple, les ADSC du TA sous-cutané différencient mieux alors que les ADSC du TA viscéral ont une relative « résistance » à la différenciation, ce qui peut expliquer pourquoi en obésité, le TA viscéral se développe principalement par hypertrophie et le sous-cutané par hyperplasie¹⁸¹. Il a également été montré qu'il y a plus de progéniteurs dans le TA sous-cutané et qu'ils prolifèrent plus en réponse à un régime riche en graisses¹⁸². Enfin, chez l'Homme, il a été montré que les progéniteurs issus du TA sous-

cutané se répliquaient plus rapidement et se différenciaient plus efficacement que ceux issus du TA viscéral¹⁶⁶. Cependant, plus récemment, l'équipe du Pr. Scherer a développé le modèle murin AdipoChaser dont le concept est d'exprimer de façon inductible XGal dans les adipocytes à un temps t. Quand ces souris aux adipocytes marqués sont soumises à un régime riche en graisses, leur TA viscéral se développe par hypertrophie puis par hyperplasie alors que leur TA sous-cutané se développe uniquement par hypertrophie¹⁸³. Cette étude, bien que réalisée chez la souris, souligne l'importance du microenvironnement dans l'équilibre entre hypertrophie / hyperplasie adipocytaire.

De plus, la taille critique adipocytaire n'est pas absolue et dépend, entre autres, du microenvironnement des adipocytes, et en particulier de la composition de la matrice extracellulaire. En effet, une étude a montré que l'inhibition du collagène VI chez des souris obèses conduit à une expansion non limitée des adipocytes et à une amélioration du métabolisme malgré une hypertrophie encore plus importante que chez les individus obèses *wild type*¹¹⁵. Cette inhibition du collagène VI s'accompagnait d'une diminution de l'élastine et d'une altération des MMP suggérant une matrice plus lâche qui pourrait permettre une expansion des adipocytes non limitée par des contraintes mécaniques. Tout ceci résulte en une hypertrophie adipocytaire « saine » non accompagnée d'un phénomène d'inflammation locale¹¹⁵.

Quand les capacités d'hyperplasie du TA sont dépassées, les adipocytes doivent dépasser leur taille critique pour compenser l'excès d'apport énergétique, ce qui conduit à des dysfonctions adipocytaires. En effet, une hypertrophie critique conduit à la mort cellulaire. On retrouve alors une structure caractéristique du TA obèse, appelée CLS pour Crown-Like Structure, qui correspond à l'accumulation de macrophages qui entourent des adipocytes mourants¹⁸⁴. De nombreuses publications ont aujourd'hui montré que les complications de l'obésité viennent en grande partie de l'incapacité du TA sous-cutané à s'étendre pour stocker de façon saine le surplus d'énergie ce qui conduit à l'accumulation de lipides dans le TA viscéral et sous forme de dépôts ectopiques dans d'autres organes ainsi qu'à l'insulino-résistance due à la lipotoxicité¹⁸⁵. De même, les complications de l'obésité sont dues au fait que les capacités d'hyperplasie du TA sont dépassées et qu'une hypertrophie se met en place, avec toutes les conséquences exposées précédemment¹⁸⁶ (Figure 12).

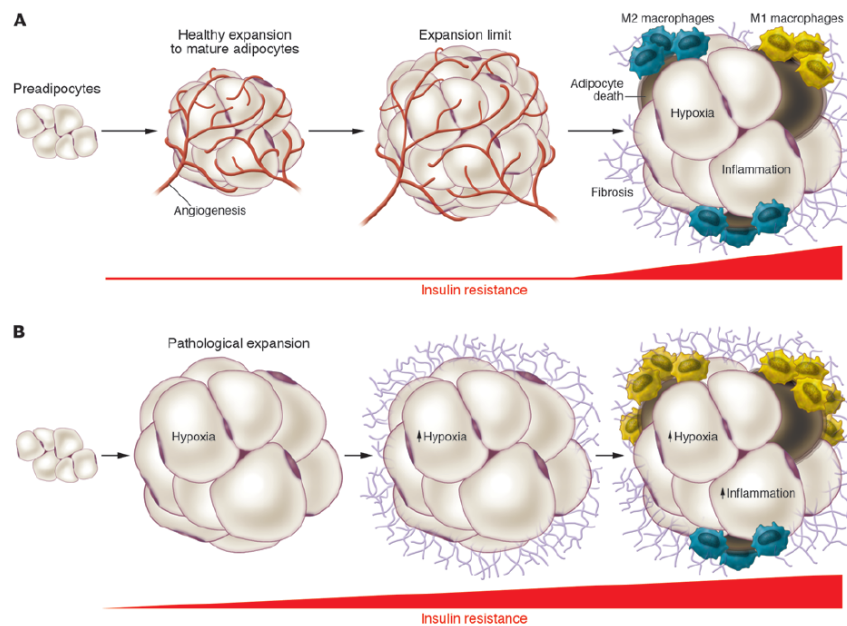


Figure 12. Hypertrophie vs. hyperplasie du tissu adipeux. D'après Sun et al., *JCI*, 2011. **(A)** L'expansion saine du TA consiste en une hyperplasie associée à une néoangiogenèse et à un remodelage adaptés de la MEC. **(B)** A l'inverse, une expansion pathologique du TA correspond à une hypertrophie adipocytaire associée à une angiogenèse limitée conduisant à l'apparition de zones d'hypoxie puis à une fibrose locale et à une infiltration par des cellules immunes.

Chez le rongeur et chez l'Homme, la dysfonction du TA obèse est caractérisée par une accumulation précoce de **lymphocytes T** qui s'accompagne d'un switch phénotypique^{109,187,188}. En effet, la proportion de lymphocytes T CD8⁺ par rapport aux CD4⁺ et aux Tregs augmente, ce qui s'accompagne d'une sécrétion accrue de cytokines Th1 pro-inflammatoires. Ce switch phénotypique joue un rôle majeur dans les complications de l'obésité et notamment l'insulino-résistance¹⁸⁹. L'infiltration du TA par des **mastocytes** joue également un rôle dans l'apparition de l'insulino-résistance¹⁹⁰.

Dans un deuxième temps, on voit apparaître une accumulation de **macrophages** dans le TA. Cette accumulation peut être majeure, en effet les macrophages, initialement minoritaires (10% dans le TA d'individus normopondéraux) peuvent constituer jusqu'à 40% des cellules dans un contexte d'obésité¹⁷⁰. Usuellement, on considère que cette accumulation de macrophages s'accompagne d'un switch phénotypique^{170,191} : les macrophages passent d'un phénotype majoritairement M2 (« alternatively activated », anti-inflammatoire, sécrétant majoritairement de l'IL10) à un phénotype M1 (pro-inflammatoire, « classically activated »), caractérisé par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, entre autres le TNF α et l'IL6, connus pour inhiber l'action de l'insuline sur les adipocytes ; ce qui pourrait faire le lien entre l'inflammation et l'insulino-résistance. Cependant, il faut noter que la réalité est plus complexe car *in vivo*, les macrophages sont soumis à un microenvironnement complexe, avec

un mélange de cytokines, leur conférant un phénotype majoritairement « mixte », entre M1 et M2^{192,193}. Le recrutement de ces macrophages est probablement secondaire à la sécrétion de plusieurs chimiokines par différentes cellules de la SVF : IFN γ par les lymphocytes T et les mastocytes^{189,190,194}, MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein 1) par les préadipocytes entre autres¹⁹⁵, ...

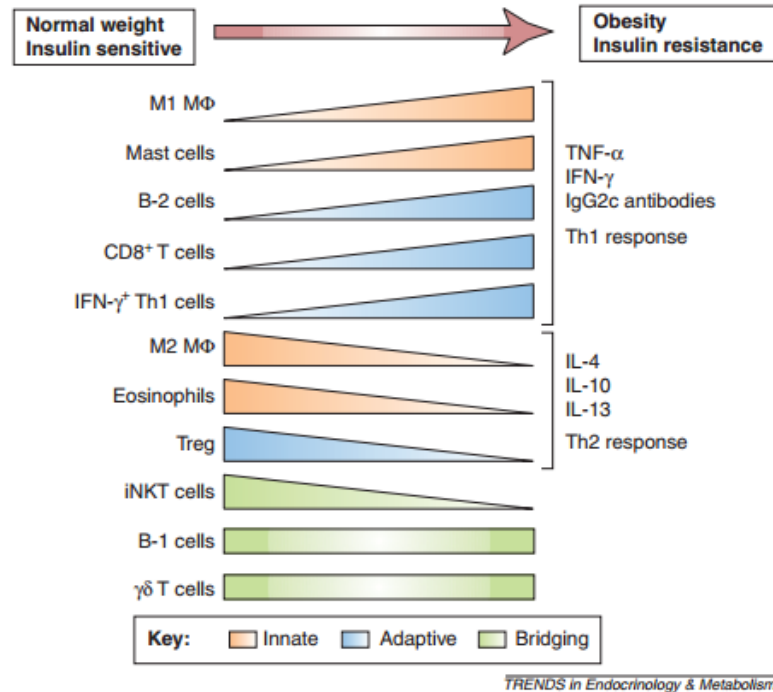


Figure 13. Modifications du profil de cellules immunitaires dans le tissu adipeux dans un contexte d'obésité. D'après Schipper et al., *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2012.

Dans un contexte d'obésité, toutes les sécrétions d'adipokines sont augmentées, sauf l'adiponectine qui est diminuée. En particulier, l'hyperleptinémie est caractéristique de l'obésité et c'est un facteur prédictif très sensible du risque cardiovasculaire et du syndrome métabolique. Elle s'accompagne d'une « leptino-résistance ». De même, de nombreuses cytokines pro-inflammatoires sont augmentées (IL6, TNF α) ainsi que MCP-1 qui participe au recrutement et à l'infiltration du TA par une grande quantité de macrophages¹⁹⁶.

Les effets de l'obésité ont souvent été étudiés grâce à un modèle de rongeurs engraissés par un régime alimentaire particulièrement riche en lipides (HFD = High Fat Diet composé en général à 60% de lipides). Ces régimes entraînent l'augmentation des cytokines pro-inflammatoires et des protéines de remodelage de la matrice extracellulaire dans le TA. Cet état inflammatoire chronique est la caractéristique principale du TA obèse et serait la principale cause des conséquences métaboliques telles que l'insulino-résistance, le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires^{187,197} (Figure 14). Par ailleurs, on distingue un sous-type de patients obèses (environ 25%), appelés Metabolically Healthy

Obese, dont le TA s'accumule principalement en sous-cutané plutôt qu'en viscéral et est caractérisé par une inflammation moindre, qui présente un métabolisme « normal » et peu de risque de maladie cardiovasculaire^{198,199}.

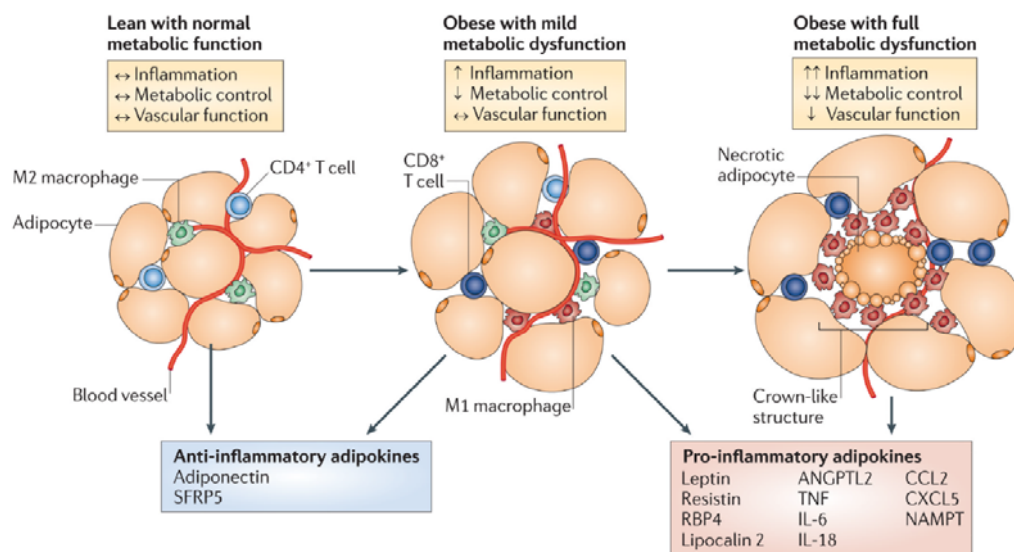


Figure 14. Modifications phénotypiques du tissu adipeux dans un contexte d'obésité. D'après Ouchi et al., *Nature Reviews Immunology*, 2011.

2. Dépôts ectopiques

Un autre concept qui a pris récemment de l'importance dans la littérature est celui des dépôts adipeux ectopiques. L'idée est que l'IMC n'est qu'une mesure très rudimentaire qui ne reflète pas toute la complexité de « l'adiposité » d'un individu. En effet pour un même IMC, deux individus peuvent non seulement avoir des masses grasses très différentes mais aussi une répartition de ces TA et des risques métaboliques très différents. Ainsi, on a découvert qu'une partie des patients obèses n'était pas plus à risque de complications métaboliques (on les appelle les MHO pour Metabolically Healthy Obese) alors qu'une proportion significative des patients normopondéraux ont un risque métabolique important malgré un poids normal (ce sont les MUNW pour Metabolically Unhealthy Normal Weight)¹⁸⁵. De même, des accumulations de TA à des localisations spécifiques ont été associées de façon indépendantes à des pathologies. Comme vu précédemment, on parle alors de TA « ectopiques ». Ce terme regroupe deux situations : les TA ectopiques à effet systémique (viscéral, intra-pancréatique, intra-hépatique, ...) et ceux à effet paracrine local (par exemple les TA péricardique et périvasculaire et les maladies cardiovasculaires)²⁰⁰.

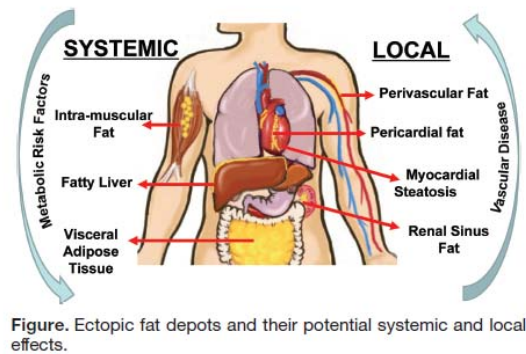


Figure 15. Rôles des dépôts adipeux ectopiques. D'après Britton et al., *Circulation*, 2011.

a) Effet systémique : cas des patients Metabolically Unhealthy Normal Weight

Les personnes appelées MUNW (Metabolically Unhealthy Normal Weight) sont caractérisées par un poids normal (IMC entre 18.5 et 25 selon l'OMS) accompagné de plusieurs symptômes signant un syndrome métabolique, c'est-à-dire une augmentation de la CRP, une insulino-résistance, une hypercholestérolémie, de l'hypertension ou encore du diabète¹⁸⁵. Cette population représente une part non négligeable des personnes normopondérales (entre 7 et 27% selon les études)²⁰¹⁻²⁰⁵. Il faut noter qu'aujourd'hui, il n'y a pas de consensus sur la définition exacte de cette population ce qui explique la variabilité entre les résultats des différentes études sur le sujet. Ces patients présentent un phénotype qu'on pourrait appeler « lipodystrophy-like » avec une capacité très réduite du TA sous-cutané à stocker les lipides et une accumulation privilégiée en viscéral. Des études ont en effet montré que ces patients présentaient, non seulement une masse adipeuse augmentée, principalement dans la région abdominale²⁰⁴, mais également un ratio TA viscéral / TA sous-cutané significativement plus important que les sujets normopondéraux métaboliquement sains^{203,206}. Une étude visant à expliquer cette répartition particulière des graisses a montré chez les patients MUNW une infiltration plus importante du TA sous-cutané par des macrophages ainsi qu'une adipogenèse diminuée, suggérant qu'une dysfonction adipocytaire couplée à une inflammation locale du TA sous-cutané pourrait être à l'origine de ce phénotype²⁰⁷.

Cette accumulation préférentielle de TA viscéral pourrait être à l'origine des complications métaboliques observées chez ces patients. Une deuxième possibilité serait que le TA, au lieu de se développer de façon « saine » par hyperplasie, privilégie l'expansion par hypertrophie. En effet, une étude a montré que ces MUNW présentaient une hypertrophie plus importante dans le TAV que les contrôles sains²⁰⁸.

Enfin, en terme de sécrétions, plusieurs études ont montré que les taux de cytokines circulantes (IL1, IL6, IL10, IL15 et TNF α) étaient plus élevés chez les patients MUNW comparés aux contrôles sains et

comparables à des obèses présentant des complications métaboliques²⁰⁹⁻²¹¹. Ces études confirment l'idée que l'inflammation, quel que soit l'IMC, joue un rôle majeur dans le risque cardiométabolique.

b) Effet local : l'exemple du TA péricardique

Il existe de nombreux dépôts ectopiques présentant un effet délétère local sur les organes qu'ils entourent, et en particulier le tissu adipeux périprostatique, que je détaillerai plus loin. Cependant, le dépôt ectopique le plus étudié est le TA qui entoure le cœur, c'est pourquoi je l'utiliserai comme exemple. Au sein de ce TA, il faut distinguer (Figure 16) :

- le TA épicaudique : situé entre le péricarde viscéral et le myocarde, il est en contact direct avec le myocarde (et les artères coronaires) et recouvre 80% de sa surface
- et le TA paracardiaque : qui recouvre le péricarde pariétal.

Les TA épicaudique et paracardiaque sont regroupés sous le terme TA péricardique²¹².

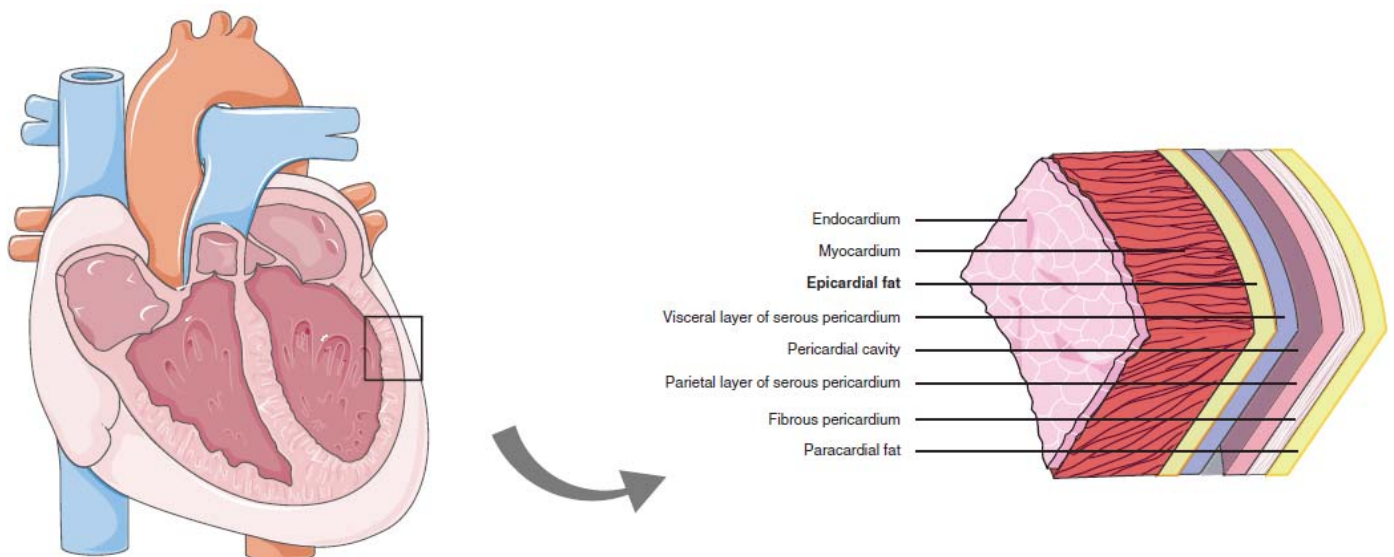


Figure 16. Composition du cœur et du TA péricardique. D'après Gaborit et al., *Comprehensive Physiology*, 2017.

Le TA épicaudique est présent physiologiquement et en quantité importante chez l'Homme car il constitue en moyenne 20% du poids du cœur et son volume augmente, entre autres, chez les patients obèses²¹². Physiologiquement, ce TA a pour rôles principaux le métabolisme (fournir des acides gras libres au cœur comme source d'énergie), la thermogénèse et la protection mécanique du cœur et des artères coronaires. C'est un TA très particulier qui présente d'importantes différences avec les autres TA. Par exemple, ses adipocytes sont de plus petite taille²¹³ et il présente des caractéristiques de tissu

adipeux brun ou beige (expression élevée d'UCP1, de PRDM16, PGC1 α et PPAR γ qui ne sont retrouvés ni dans les TA sous-cutané ni dans le viscéral paracardiaque)^{214,215}.

Une étude a montré que le volume de ce TA épicardique était corrélé à la calcification des artères coronaires mais pas au risque cardiovasculaire (une fois ajusté au TA viscéral) alors que le TA viscéral n'est pas associé au risque de calcification des coronaires, suggérant une toxicité paracrine²¹⁶. Bien que des facteurs mécaniques entrent probablement en jeu (une augmentation de la masse grasse autour du cœur augmente le « travail » cardiaque, d'où une corrélation avec le volume de l'oreillette gauche et un lien avec l'apparition de fibrillation auriculaire et leur récurrence²¹⁷), ce ne sont pas les seuls. En effet, testées dans un modèle d'organo-culture d'oreillette cardiaque, les sécrétions de TA épicardique ont un effet pro-fibrotique comparé au TA sous-cutané et cet effet est inversé par l'utilisation d'anticorps neutralisant anti-activine A suggérant un rôle important de cette adipokine. Chez l'Homme, cette adipokine est présente à des taux plus importants chez les patients avec des dysfonctions du ventricule gauche²¹⁸. Ce TA épicardique est une source importante de cellules et de cytokines inflammatoires : en particulier il sécrète des taux d'IL1 β , d'IL6, de MCP-1 et de TNF α bien supérieurs au TA sous-cutané, indépendamment de l'IMC des patients ou de leurs taux de cytokines circulantes. De plus, on note une forte réaction inflammatoire dans ce dépôt adipeux chez les patients atteints d'une maladie coronarienne ou de fibrillation atriale^{219,220}.

Pour conclure, le tissu adipeux est un organe qui a longtemps été injustement considéré comme un réservoir de stockage des graisses passifs et donc négligé dans les études scientifiques. Cependant, depuis que l'on s'y intéresse plus spécifiquement, il ressort que c'est d'une part un organe très hétérogène dont il est important de caractériser tous les différents dépôts, mais aussi un organe endocrine capable d'influencer l'organisme entier par des mécanismes endocrines et également les organes qu'il entoure de façon paracrine. C'est également un organe qui subit des modifications importantes dans des contextes physiopathologiques comme l'obésité. Le phénomène d'accumulation ectopique de TA spécifiquement autour de certains organes et qui a des conséquences négatives sur ces mêmes organes est un concept plus récent mais qui prend de l'importance car il soulève l'importance du rôle paracrine du TA ainsi que la nécessité de méthodes de mesure plus fines de l'accumulation et de la répartition des graisses chez les patients qui permettraient de mieux évaluer leurs risques. Dans la dernière partie de cette introduction, je vais donc me concentrer sur le tissu adipeux périprostatique, les modifications qu'il peut subir dans un contexte d'obésité ou d'accumulation ectopique et son influence sur la progression du cancer de la prostate.

Partie III – Tissu adipeux périprostatique et cancer de la prostate

I - Microenvironnement tumoral

La théorie selon laquelle la progression tumorale serait uniquement due à l'accumulation d'altérations génétiques est aujourd'hui largement remise en question. En effet, depuis quelques dizaines d'années maintenant, les notions de microenvironnement tumoral et d'un dialogue entre cellules cancéreuses et stroma qui favoriserait la progression tumorale se sont imposées comme des éléments primordiaux dans l'évolution du cancer^{1,2}. Ce microenvironnement est composé de nombreux types cellulaires tels que des cellules immunitaires, des fibroblastes ainsi que des vaisseaux sanguins, compris dans une matrice extracellulaire modifiée (Figure 17). Les cellules tumorales modifient le phénotype de ces cellules environnantes et les activent de façon constitutive et permanente. En contrepartie, les cellules du stroma sécrètent des facteurs de croissance, des cytokines et des chimiokines qui favorisent la prolifération cellulaire, la survie et la migration des cellules tumorales^{1,2}.

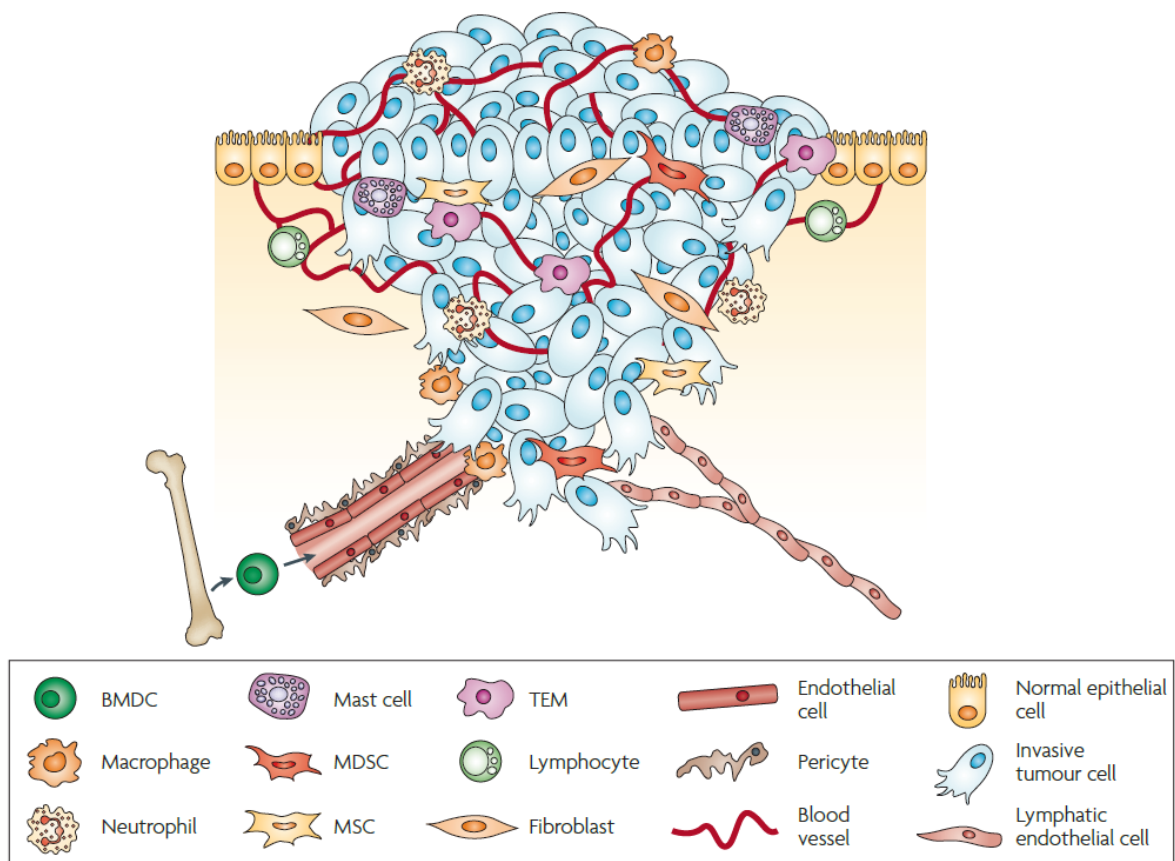


Figure 17. Le microenvironnement tumoral. BMDC : Bone Marrow-Derived Cells, TEM : TIE2-Expressing Monocytes, MDSC : Myeloid-Derived Suppressor Cells, MSC : Mesenchymal Stem Cells. D'après Joyce et al., *Nature Reviews Cancer*, 2009.

Le tissu adipeux a été particulièrement sous-estimé alors qu'il constitue le microenvironnement de nombreux types de cancers dont le cancer du sein, le mélanome, le cancer colorectal ainsi que le cancer de la prostate invasif (Figure 18)³. Les adipocytes, longtemps considérés comme de simples cellules stockant les graisses sont désormais reconnus comme étant capables de sécréter un certain nombre de molécules regroupées sous le terme d'adipokines qui peuvent favoriser la progression tumorale. Notre équipe a d'ailleurs été l'une des première à mettre en évidence qu'il existe un dialogue bidirectionnel entre les adipocytes et les cellules tumorales mammaires²²¹.

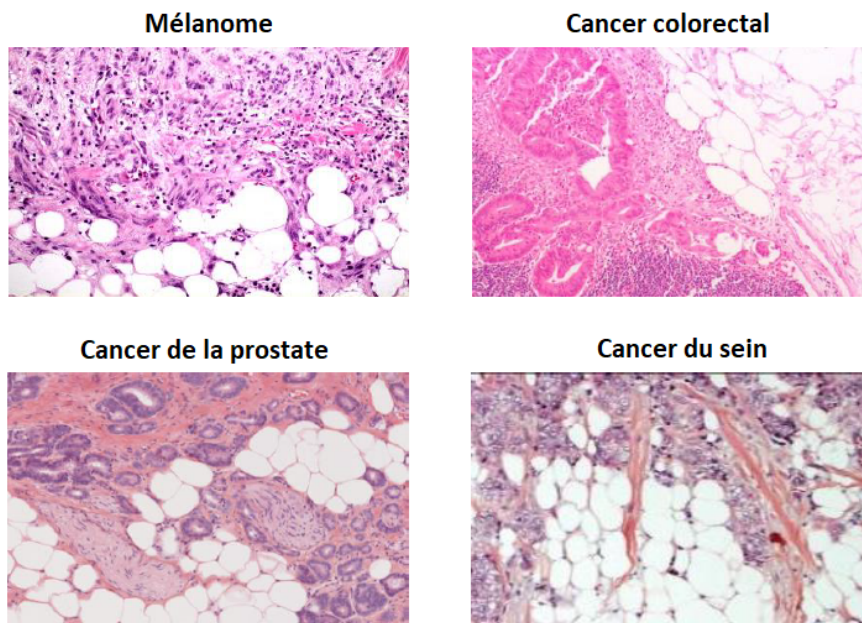


Figure 18. Le tissu adipeux constitue le microenvironnement de nombreux types de cancers. Marquage hématoxyline/éosine du front invasif de mélanome, de cancer colorectal, de cancer de la prostate invasif et de cancer du sein. D'après Laurent et al., *Obésité*, 2014.

Nous avons montré que les adipocytes co-cultivés avec des cellules tumorales mammaires présentent des modifications phénotypiques importantes avec en particulier une diminution de leur taille, de leur contenu lipidique et des marqueurs adipocytaires et un état d'« activation » marqué par une surexpression des cytokines pro-inflammatoires (en particulier l'IL6) et des enzymes de remodelage de la matrice extracellulaire (MMP11). Par analogie avec les CAF (Cancer-Associated Fibroblasts), nous avons nommé ces adipocytes dé-différenciés et activés CAA pour Cancer-Associated Adipocytes²²¹. Dans l'équipe, nous avons montré que ces CAA augmentent l'agressivité des cellules tumorales mammaires en augmentant leurs capacités migratoires²²². D'autres études ont montré que l'existence des CAA n'était pas limitée au cancer du sein mais était également retrouvée dans les cancers du côlon et de l'ovaire métastatiques ainsi que dans le mélanome²²³. Ces CAA favorisent la progression tumorale en sécrétant des facteurs solubles, des protéines de la matrice extracellulaire et des enzymes de

remodelage de la matrice (Figure 19). Par exemple, plusieurs adipokines comme la leptine, l'Hepatocyte Growth Factor (HGF) ou encore l'Insulin-Like Growth Factor 1 (IGF-1) ont un effet pro-prolifératif direct sur les cellules tumorales. La sécrétion de protéines de remodelage de la matrice extracellulaire comme la MMP11 facilite l'invasion tumorale²²³. Il a également été montré qu'un fragment de clivage du collagène VI (par une protéase encore non identifiée), appelé endotrophine, agit comme une molécule de signalisation favorisant l'agressivité tumorale et les métastases en augmentant l'angiogenèse, l'inflammation locale et l'EMT dans les cellules tumorales mammaires¹³⁹. Les CAA modifient également le métabolisme des cellules tumorales. En effet, la diminution du contenu lipidique dans les CAA est due à la fois à un processus de « dé-différenciation » des adipocytes mais également à une lipolyse induite par les cellules tumorales et conduisant au relargage d'acides gras libres (AGL)^{222,224}. Ces AGL sont transférés et stockés dans des gouttelettes lipidiques, dans les cellules tumorales, où ils vont participer à un remodelage métabolique en favorisant la β -oxydation^{222,224}. En dehors de ce transfert de lipides par les CAA, notre équipe a également montré que dans le mélanome, les adipocytes sécrètent des exosomes contenant des enzymes de la β -oxydation, qui, via une augmentation de cette β -oxydation dans les cellules tumorales, augmentent leurs capacités invasives²²⁵. Cette symbiose métabolique entre cellules tumorales et adipocytes semble être un élément très important du dialogue entre les deux types cellulaires mais ce n'est probablement pas le seul, les AGL pouvant aussi participer à la formation des membranes cellulaires ou encore jouer le rôle de molécules de signalisation.

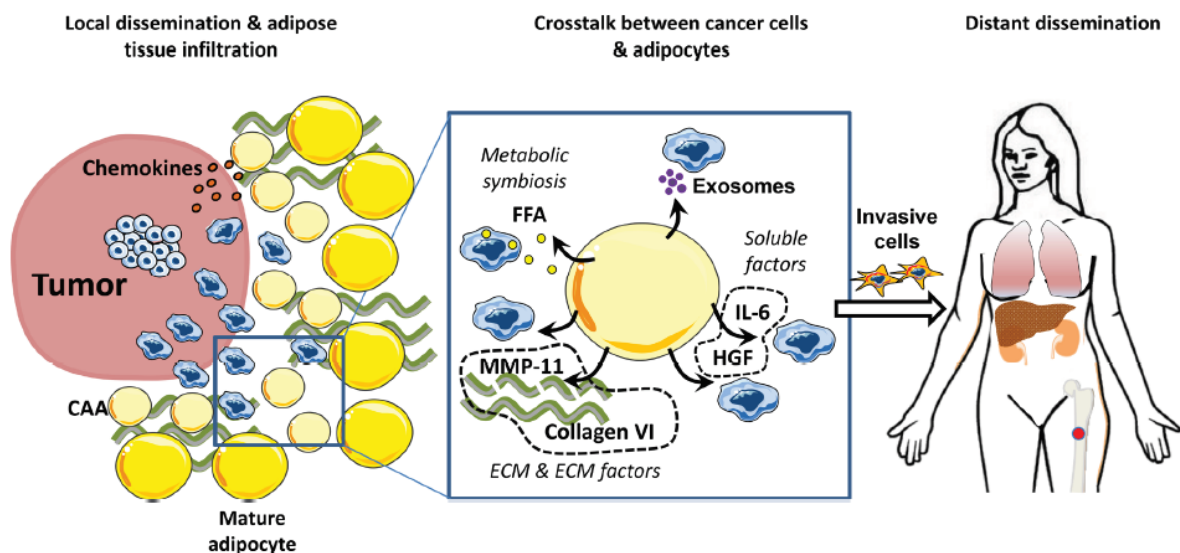


Figure 19. Les adipocytes favorisent la progression tumorale et les métastases. Les sécrétions adipocytaires favorisent la migration des cellules tumorales dans le TA environnant. Une fois que ce TA est envahi, un dialogue bidirectionnel s'établit entre les cellules tumorales et les adipocytes matures qui deviennent des CAA (Cancer-Associated Adipocytes). Ce nouveau phénotype se caractérise, entre autres, par la sécrétion de facteurs solubles, d'exosomes et de composants de la matrice extracellulaire qui stimulent les propriétés invasives des cellules tumorales. D'après Duong et al., *Oncotarget*, 2017.

L'obésité est reconnue comme un facteur de mauvais pronostic dans de nombreux cancers, en particulier dans le cancer du sein²²⁶. De nombreux arguments laissent à penser que ce pronostic défavorable pourrait s'expliquer par le fait que les adipocytes présents dans le microenvironnement tumoral soient encore plus enclins à stimuler la dissémination locale et à distance des cellules tumorales. En effet, comme on l'a vu précédemment, le tissu adipeux du patient obèse est caractérisé par une expansion importante s'accompagnant d'une hypoxie locale avec une mort adipocytaire importante, le relargage d'acides gras libres, et un recrutement massif de macrophages qui vont former des CLS et sécréter des cytokines pro-inflammatoires, tout ceci conduisant à un état inflammatoire chronique²²⁷. Un phénomène de fibrose apparaît également en réponse à l'hypoxie locale et à l'inflammation¹²⁵. On peut donc noter de nombreuses similitudes entre les adipocytes d'un TA obèse et les CAA (libération d'acides gras libres, sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et augmentation de la sécrétion de constituants de la MEC) suggérant que les adipocytes obèses pourraient interagir avec les cellules tumorales et avoir un effet encore plus important sur la progression tumorale. Aujourd'hui, des modèles animaux ont montré de façon convaincante que l'obésité favorise la progression tumorale de différents types de cancers, sans que le caractère paracrine ou endocrine de cet effet n'ait été démontré²²⁸.

II - Tissu adipeux périprostatique (TAPP)

La prostate est une glande entourée de tissu adipeux appelé tissu adipeux périprostatique (TAPP) (Figure 20). Seule une fine couche de matrice extracellulaire et de cellules musculaires lisses, appelée capsule prostatique, sépare la prostate du TAPP environnant. Ce TAPP constitue donc un composant majeur du microenvironnement du cancer de la prostate, surtout à partir du stade localement avancé où la tumeur a franchi la capsule prostatique et rentre en contact direct avec les adipocytes de ce TAPP.

1. Anatomie

La capsule prostatique n'est pas une réelle barrière anatomique majeure car elle ne couvre que 60% de la surface de la prostate, tandis que sur les 40% restants, les deux tissus sont en contact direct²²⁹. Le tissu adipeux périprostatique est délimité par plusieurs barrières anatomiques : la symphyse pubienne en antérieur, les muscles obturateurs en latéral et le fascia de Denonvilliers en postérieur qui sépare la prostate et les vésicules séminales du rectum. L'apex de la prostate (partie la plus basse), est délimité par le sphincter de l'urètre et la base (partie la plus haute) par la vessie²³⁰.

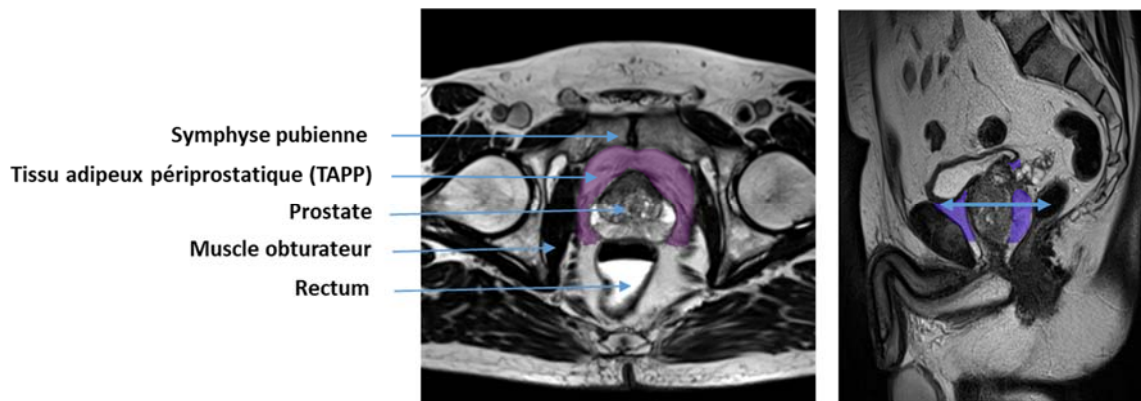


Figure 20. La prostate est entourée de tissu adipeux périprostatique (TAPP). Le TAPP est ici en violet sur une coupe axiale (à gauche) et une coupe sagittale (à droite) d'IRM prostatique. Ce TAPP est délimité en avant par la symphyse pubienne, en latéral par les muscles obturateurs et en postérieur par le fascia de Denonvilliers qui sépare la prostate et les vésicules séminales du rectum.

La prostate est drainée par les ganglions iliaques mais on peut noter que des ganglions lymphatiques sont aussi parfois retrouvés dans le tissu adipeux périprostatique. Bien que présentant des variations, plusieurs études se sont concentrées sur ce sujet et il semble qu'en moyenne, on retrouve ces ganglions lymphatiques chez 10% (5 à 15% selon les études) des patients²³¹⁻²³⁵.

2. Influence des androgènes

La proximité du TAPP avec la prostate pose la question de l'influence des androgènes sur son développement. En effet, la croissance prostatique est sous l'effet des androgènes mais la prostate transforme aussi la testostérone en dihydrotestostérone (DHT, forme plus active). Il a été montré que la concentration locale de DHT autour de la prostate est augmentée d'un facteur deux par rapport à la concentration sérique et corrélée à la taille de la prostate²³⁶.

On sait également que les hormones jouent un rôle majeur sur l'accumulation et la distribution du tissu adipeux, ce qui expliquerait en partie le dimorphisme sexuel observé chez l'Homme²³⁷ :

- Les femmes ont en général une masse grasse plus importante que les hommes, avec une distribution dite « gynoïde » qui consiste principalement en une accumulation de tissu adipeux sous-cutané dans le dépôt glutéo-fémoral
- Les hommes ont une masse grasse généralement plus basse avec une distribution « androïde » qui se manifeste par une accumulation de graisse viscérale abdominale

Les androgènes ont majoritairement un rôle inhibiteur sur le développement du tissu adipeux. En effet, plusieurs études démontrent un effet inhibiteur des androgènes sur la différenciation adipocytaire, la

prolifération des préadipocytes et un effet activateur de la lipolyse²³⁷. On observe souvent des différences entre les dépôts adipeux, le viscéral étant généralement plus sensible aux hormones que le sous-cutané à cause d'un taux d'expression plus élevé de récepteurs aux androgènes¹⁷¹. En clinique, on observe également que les patients présentant une obésité abdominale ont des taux de testostérone plus faibles que la normale (ce qui peut être une cause ou une conséquence de l'obésité). Chez des patients souffrant d'hypogonadisme (défaut de production des hormones sexuelles par les gonades), une supplémentation en testostérone diminue l'accumulation de graisse viscérale²³⁸, suggérant que cette hormone a un effet inhibiteur sur le développement du TA.

La seule étude réalisée dans ce domaine sur le lien androgènes / TAPP semble aller dans le sens inverse²³⁹. En effet, cette étude a analysé l'effet des inhibiteurs de la 5 α -réductase (5-ARI) sur le volume de TAPP de patients atteints de cancer de la prostate. Il a montré que le volume de TAPP était réduit chez les patients traités par 5-ARI cependant la mesure n'a pas été faite sur les mêmes patients avant et après traitement mais dans deux cohortes différentes. Et la cohorte traitée par 5-ARI était composée de patients avec des cancers significativement moins agressifs, ce qui est problématique sachant que le volume de TAPP et l'agressivité du cancer de la prostate ont été corrélés dans plusieurs études (cf. partie 3). On ne peut donc pas vraiment conclure entre une diminution du volume de TAPP qui serait causée par les 5-ARI ou la sélection biaisée d'un groupe de patients présentant au départ un plus faible volume de TAPP associé à des cancers peu agressifs.

3. Composition

Biologiquement, on sait très peu de choses sur les caractéristiques de ce dépôt adipeux qui a été très peu étudié jusqu'ici. Cependant, au vu des différences qui existent entre les dépôts adipeux selon leur localisation, il serait très intéressant de mieux caractériser ce tissu, sachant qu'il ne peut pas être considéré comme un dépôt adipeux sous-cutané ni comme un viscéral et qu'il a probablement des caractéristiques propres. La seule étude réalisée dans ce sens sur des patients atteints d'hypertrophie bénigne de la prostate semble aller dans ce sens, en effet elle montre que le TAPP contient plus de précurseurs adipocytaires que le TA viscéral²⁴⁰.

III - Tissu adipeux périprostatique et cancer de la prostate

Pour comprendre le rôle du TAPP dans la progression tumorale, une étude a comparé l'agressivité des cancers de la prostate en les classant en trois groupes : les tumeurs confinées dans la prostate sans invasion de la capsule prostatique, les tumeurs confinées avec invasion de la capsule prostatique et celles ayant complètement franchi la capsule et atteint le TAPP. Quand on compare les patients avec ou sans

invasion de la capsule, bien que ceux avec invasion aient des volumes tumoraux et des scores de Gleason plus élevés, on ne voit pas de différence en terme de survie sans rechute alors que les patients avec atteinte du TAPP ont des rechutes beaucoup plus précoces. Ceci suggère que le degré d'invasion de la tumeur ne forme pas un continuum de risque mais plutôt que l'entrée en contact avec le TAPP est un déterminant bien plus important de l'évolution de la maladie, suggérant un rôle majeur de ce dernier dans la progression tumorale⁴.

1. Sécrétions du TAPP entier

Les sécrétions de TAPP ont un effet pro-prolifératif et pro-invasif sur les cellules tumorales prostatiques ainsi qu'un effet pro-angiogénique^{241,242}. C'est en fait un dialogue qui se met en place entre cellules tumorales et TAPP car sous l'effet du milieu conditionné de cellules tumorales, le TAPP est modifié et son profil de sécrétion d'adipokines est altéré, en particulier avec une augmentation de la sécrétion d'ostéopontine, de TNF α et d'IL6 ainsi que de MMP9 et une diminution de l'adiponectine²⁴³. Une étude a également comparé l'expression génique de TAPP associé à un cancer ou non et des différences d'expression au sein du TAPP sont apparues : des gènes impliqués dans le cycle cellulaire, dans la prolifération et la réduction de l'immunosurveillance²⁴⁴. Ces résultats indiquent un véritable dialogue entre les deux tissus : non seulement le TAPP peut influencer l'évolution tumorale mais réciproquement, le cancer modifie le TAPP à son propre avantage.

Les premières études sur le sujet se sont concentrées sur les facteurs sécrétés par les adipocytes et qui augmentent la prolifération des cellules tumorales prostatiques. La **leptine** agit comme un facteur de croissance sur les cellules androgéno-indépendantes en activant diverses voies de signalisation²⁴⁵⁻²⁴⁷ et a également un effet pro-invasif sur les cellules androgéno-dépendantes (LNCaP) ou non (PC-3, Du-145)²⁴⁸. Une autre adipokine, **MCP-1** (Monocyte Chemotactic Protein 1), participe également à l'effet pro-prolifératif du milieu conditionné d'adipocytes sur les cellules tumorales et augmente leurs capacités invasives en activant MMP2 et en augmentant l'expression de leur récepteur aux chimiokines CCR2²⁴⁹.

Le TAPP est une source majeure d'**IL6** (taux 375 fois supérieur au taux circulant et corrélé au stade tumoral)²⁵⁰. Une étude a montré, grâce à un modèle de souris transgéniques qui surexpriment l'IL6 dans la prostate (à l'aide d'un promoteur spécifique, la probasine), que cette cytokine se comportait comme un oncogène atypique. En effet, ces souris développent des cancers de la prostate par stimulation de la voie STAT3 dans les cellules prostatiques et augmentation de l'inflammation dans le tissu adipeux périprostatique²⁵¹ suggérant que l'inflammation du TAPP pourrait également jouer un rôle central dans la progression tumorale. D'autres adipokines sont fortement sécrétées par le TAPP, en particulier MMP2 et MMP9, des métalloprotéinases matricielles dont le rôle est de dégrader la matrice extracellulaire et qui jouent ainsi un rôle majeur dans le processus d'invasion des cellules tumorales²⁴². Ce résultat a été confirmé dans une autre étude qui montre que le TAPP humain sécrète de la **pro-MMP9** dont l'activité

est plus importante chez les patients atteints de cancer que chez ceux ayant une hypertrophie bénigne de la prostate²⁵². De plus, les sécrétions de ces cancers prostatiques augmentent la capacité des cellules tumorales LNCaP à sécréter elles-mêmes de la pro-MMP9 et donc à adopter un phénotype plus invasif. Cet effet n'est pas retrouvé chez les PC-3, qui sont des cellules déjà très agressives, suggérant que cet effet pro-invasif du TAPP est particulièrement important dans les stades précoces de la maladie²⁵².

Une étude récente a comparé les transcriptomes de TAPP associés à des cancers de la prostate de bas risque versus ceux associés à des cancers à haut risque et a montré que les voies de signalisation majoritairement uprégulées dans le TAPP associé à des cancers à haut risque sont celles impliquées dans l'inflammation et la réponse immunitaire. On note en particulier une augmentation des gènes de l'IL6, des chimiokines CCL2 et CXCL12 ainsi que des immunoglobulines²⁵³. Les auteurs ont réussi à identifier une signature de 3 gènes dont le niveau d'expression permet de discriminer les cancers agressifs des non agressifs soulignant l'importance de ce phénomène. Cependant, cette étude ne permet pas de trancher si l'inflammation du TAPP est une cause ou une conséquence de l'agressivité des cancers de la prostate.

Récemment, une étude a comparé la composition en acides gras du TAPP de patients caucasiens ou afro-antillais (qui présentent des cancers plus agressifs) et montré qu'il existe des différences entre ces deux populations ainsi que des différences, au sein de la population afro-antillaise, entre les patients qui ont des cancers agressifs et ceux qui ont des cancers indolents²⁵⁴. Quand les acides gras de ces TAPP sont extraits, les lipides extraits de TAPP associés à des cancers agressifs ont un effet pro-migratoire plus important que ceux de TAPP associés à des cancers indolents. Ces différences sont corrélées à des différences de composition en acide linoléique et en acide palmitique suggérant un lien causal entre un TAPP riche en acide palmitique et pauvre en acide linoléique et un effet pro-migratoire augmenté sur les cellules tumorales²⁵⁴. Une étude précédente ayant montré que les adipocytes sont capables de transférer des lipides aux cellules tumorales prostatiques qui les stockent dans des gouttelettes lipidiques²⁵⁵, ce transfert d'acides gras pourrait donc jouer un rôle important dans la progression tumorale.

2. Composants cellulaires

Adipocytes : Plusieurs études ont montré que l'effet pro-prolifératif et pro-invasif du TAPP entier sur les cellules tumorales prostatiques était plus important que l'effet de la SVF seule, suggérant un rôle central des adipocytes sur la progression tumorale^{241,242}. L'importance des adipocytes a également été montrée par des expériences de co-culture avec des adipocytes isolés qui ont, à eux seuls, un effet pro-prolifératif sur les cellules tumorales prostatiques²⁵⁶.

Une autre voie par laquelle les adipocytes peuvent favoriser l'agressivité du cancer de la prostate est en promouvant le phénotype de **Cellules Souches Cancéreuses (CSC)**. En effet ces cellules sont connues

pour résister à la chimiothérapie, à la radiothérapie et pour être la cause des rechutes après traitement. On pense également que ce sont ces cellules qui sont impliquées dans le phénomène de métastases^{257,258}. Il a été montré que la co-culture d'adipocytes avec des cellules tumorales prostatiques entraîne chez ces dernières une augmentation de la sécrétion de cholécystokinine (CCK) qui stimule la capacité d'auto-renouvellement des CSC. De plus, cette CCK induit l'uprégulation de la cathepsine B qui à son tour stimule la production de CCK, entraînant une boucle de rétrocontrôle positive favorisant d'autant plus ce phénotype souche²⁵⁹. La sécrétion d'IL6 par le TAPP²⁵⁰ pourrait également jouer un rôle dans ce phénomène car elle favorise, entre autre, le phénotype de CSC dans les cellules tumorales prostatiques²⁶⁰.

Macrophages : On sait que dans un contexte d'obésité, on observe un état inflammatoire du tissu adipeux, caractérisé, entre autres, par l'infiltration du TA par des macrophages qui forment des CLS autour des adipocytes morts. Une étude a montré que ces CLS sont en fait également présentes chez près de 40% des patients normopondéraux et que la présence de ces structures est corrélée à l'agressivité du cancer de la prostate (score de Gleason) même après ajustement à l'IMC²⁶¹.

Recrutement de progéniteurs adipocytaires : Le TAPP contient une grande quantité de précurseurs adipocytaires comparé au TA viscéral, même en l'absence de cancer car ce résultat a été confirmé chez des patients atteints d'hyperplasie bénigne de la prostate²⁴⁰. Cependant, en présence de cancer, la quantité de progéniteurs diminue dans le TAPP en parallèle à une augmentation dans la prostate, suggérant que le TAPP pourrait être un réservoir de progéniteurs qui seraient recrutés dans la prostate par les cellules tumorales. Ce recrutement de progéniteurs adipocytaires par la tumeur a été montré dans un modèle in vivo et, une fois recrutés, ces progéniteurs ont un effet pro-prolifératif et pro-migratoire sur les cellules tumorales prostatiques²⁶².

IV - Tissu adipeux périprostatique, obésité et cancer de la prostate

L'obésité, de même que le cancer de la prostate, est un problème de santé publique majeur aujourd'hui. Etant reconnu comme un facteur d'agressivité du cancer de la prostate⁸⁶ qui augmente à la fois le risque de rechute après chirurgie, radiothérapie mais aussi le risque de CRPC après hormonothérapie, plusieurs études se sont concentrées sur les modifications du TAPP dans un contexte d'obésité et leurs effets sur la progression du cancer de la prostate.

Les sécrétions de TAPP de patients obèses ont un effet pro-prolifératif et pro-angiogénique augmentés comparé aux patients normopondéraux²⁴¹. Ces différences s'expliquent probablement par des modifications de sécrétion du TAPP dans un contexte d'obésité. Par exemple, les TAPP de patients en surpoids ont une activité de la MMP9 plus importante que les normopondéraux²⁴². La leptine est

également surexprimée dans le TAPP de patients obèses²⁴⁴ et il a été montré récemment, qu’avec l’IL6, elle jouait un rôle majeur dans la résistance des cellules tumorales prostatiques à la cytotoxicité induite par les cellules NK (Natural Killer)²⁶³. En effet, en activant la voie de signalisation JAK/Stat3 dans les cellules tumorales, ces deux adipokines altèrent l’expression de PD-L1 et NKG2D (deux ligands des cellules NK) à la surface des cellules tumorales ce qui les rend moins sensible à la cytotoxicité induite par ces cellules²⁶³.

Une autre étude a comparé les gènes exprimés dans les TAPP de patients obèses et normopondéraux : la majorité des gènes surexprimés chez les patients obèses sont pro-prolifératifs, anti-apoptotiques, anti-lipolytiques ou impliqués dans la réponse inflammatoire (Figure 21)²⁴⁴. En plus des variations d’expression génique, des modifications épigénomiques ont également été décrites dans le TAPP de patients obèses ou en surpoids (comparé à des patients normopondéraux). Ces modifications, qui vont dans le sens d’un métabolisme lipidique altéré et d’une dérégulation du système immunitaire pourraient également participer à la formation d’un microenvironnement favorable à la progression tumorale²⁶⁴.

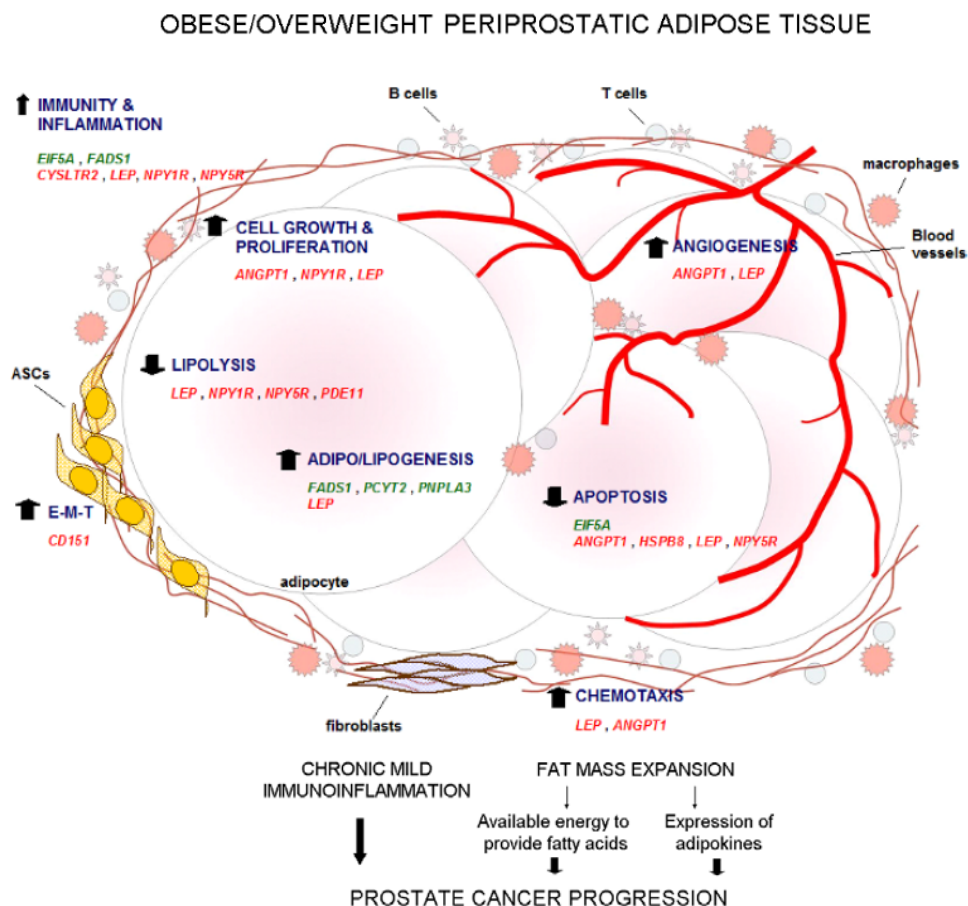


Figure 21. Modifications géniques du TAPP dans un contexte d’obésité. Les gènes dont l’expression est modifiée induisent une expansion du tissu adipeux associée à un état inflammatoire chronique susceptibles de favoriser la progression tumorale. Les gènes dont l’expression est diminuée sont indiqués 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.

Comme on l'a vu précédemment, l'inflammation du TAPP semble jouer un rôle majeur dans la progression tumorale. Dans un contexte d'obésité, on observe plus fréquemment un état inflammatoire du TAPP. En effet, les structures de CLS existent déjà chez 40% des patients normopondéraux mais cette proportion augmente nettement dans un contexte d'obésité et cette inflammation locale est corrélée à l'agressivité du cancer (score de Gleason)²⁶¹.

Un autre phénomène important au cours de l'inflammation est la sécrétion de chimiokines comme CXCL12 (aussi appelée SDF-1 pour Stromal Derived Factor 1), qui participe à la chimioattraction des cellules hématopoïétiques. Il a été montré que cette chimiokine est sécrétée de façon plus importante par le TAPP de souris obèses et qu'elle a un effet pro-invasif sur les cellules tumorales prostatiques en se liant à ses récepteurs CXCR4 et CXCR7 exprimés à leur surface²⁶⁵.

Plus récemment, une équipe a montré, grâce à un modèle original de souris transgéniques TRAMP⁺/p62^{Adipo} (souris obèses qui développent spontanément des cancers de la prostate) que dans le cadre de l'obésité, les macrophages infiltrant le TA sécrétaient de l'ostéopontine, qui augmente l'agressivité des cellules tumorales par augmentation du transporteur CPT1 (Carnitine PalmitoylTransférase 1) et de la β -oxydation dans ces cellules. C'est un véritable dialogue qui s'instaure entre les deux types cellulaires car les cellules tumorales ont également un effet sur les adipocytes : elles inhibent le browning du tissu adipeux ainsi que l'utilisation de nutriments (pour des processus comme la lipogenèse par exemple) dans les adipocytes de sorte que davantage de nutriments sont disponibles pour la tumeur²⁶⁶.

Mon équipe a également travaillé sur le rôle paracrine du TAPP dans la dissémination du cancer de la prostate en condition d'obésité. Tout d'abord, nous avons montré que les adipocytes du TAPP jouaient un rôle majeur dans les étapes précoces de la maladie, avant l'invasion du TA, en favorisant la dissémination des cellules tumorales en dehors de la prostate⁶. En effet, nous avons montré *in vitro* que les capacités invasives des cellules tumorales prostatiques sont augmentées par les sécrétions d'adipocytes et que cet effet est amplifié dans un contexte d'obésité. Nous avons également identifié un axe original à l'origine de cet effet et qui implique la chimiokine CCL7, une petite molécule sécrétée par les adipocytes, et son récepteur CCR3 exprimé à la surface des cellules tumorales. Un gradient de cette chimiokine se forme donc entre le TAPP et la prostate qui favorise l'extension extraprostatique du cancer. Ces résultats ont été confirmés *in vivo* et également chez l'Homme car les patients obèses présentent une expression de CCR3 augmentée et le niveau d'expression de CCR3 est corrélé à des tumeurs agressives, avec plus de rechutes biologiques et de résistance au traitement chirurgical⁶.

Nous avons ensuite étudié le dialogue qui se met en place entre les adipocytes du TAPP et les cellules tumorales une fois que ces dernières ont franchi la capsule prostatique (article en révision à *Molecular Cancer Research*). En effet, une fois la capsule prostatique franchie, les cellules tumorales se retrouvent en contact direct avec les adipocytes. Nous avons montré que les cellules tumorales sont capables

d'induire une lipolyse dans les adipocytes qui libèrent des acides gras libres (AGL) ensuite captés par les cellules tumorales. Un des éléments centraux dans la progression du cancer de la prostate est le stress oxydatif et nous avons montré que l'accumulation d'AGL dans les cellules tumorales stimule l'expression d'une enzyme pro-oxydante, une isoforme de NADPH-oxidase (NOX) appelée NOX5. Ceci conduit à une augmentation intracellulaire des espèces réactives de l'oxygène (ROS pour Reactive Oxygen Species) qui, à leur tour, activent une voie de signalisation impliquant HIF-1 (Hypoxia-Inducible Factor-1) / MMP14 (Matrix Metalloprotease 14) qui provoque l'augmentation des capacités invasives des cellules tumorales. Dans un contexte d'obésité, cette voie de signalisation est amplifiée. Enfin, nous avons montré sur des tumeurs humaines que NOX5 et MMP14 sont uprégulées au front invasif et que ce phénomène est amplifié chez les patients obèses.

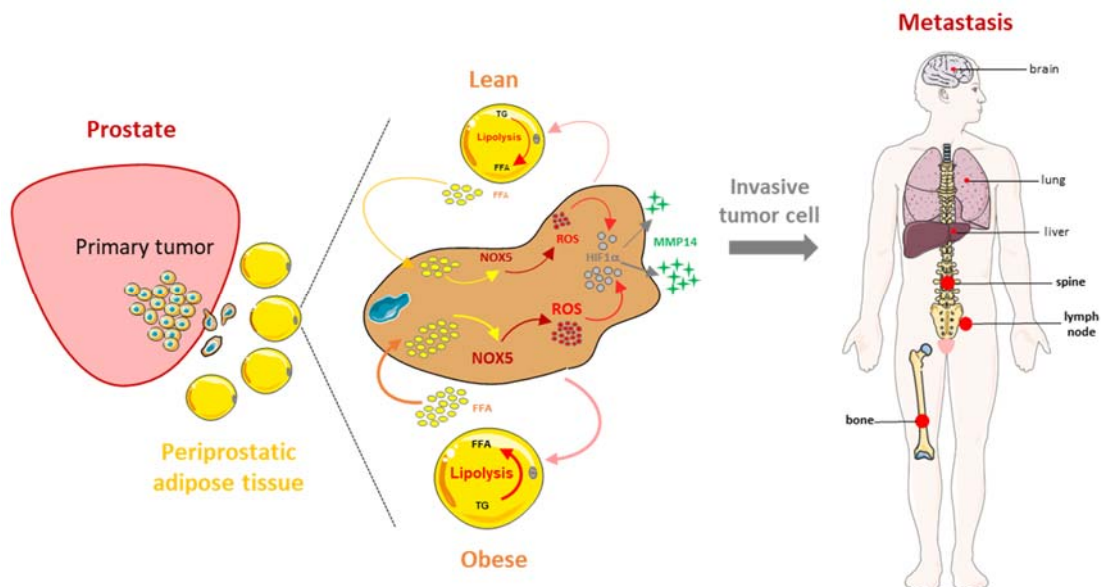


Figure 22. Modèle proposé du rôle des adipocytes péri-tumoraux dans la progression du cancer de la prostate et du lien avec l'obésité.

V - Un nouveau concept : le TAPP abondant

Plusieurs études semblent donc indiquer que le tissu adipeux périprostatique joue un rôle majeur dans la progression du cancer de la prostate par des mécanismes paracrines. L'adiposité des patients a longtemps été approximée grâce à l'IMC mais de plus en plus d'études insistent sur le fait que tous les dépôts adipeux ne se développent pas de façon équivalente selon les patients et que l'impact de chacun de ces TA sur l'évolution des pathologies est très variable^{164,267}. Un grand intérêt s'est donc développé dans le domaine du cancer de la prostate pour des méthodes permettant la mesure de l'abondance du

TAPP plus spécifiquement. Les premières méthodes, relativement basiques, consistaient à mesurer l'aire du TAPP sur une seule coupe de scanner^{268,269} ou d'IRM pré-opératoire²⁷⁰ voire simplement l'épaisseur de ce TAPP²⁷¹⁻²⁷³. D'autres méthodes ont ensuite été développées pour prendre en compte la totalité du volume de ce TAPP²⁷⁴⁻²⁷⁶ et affinées en normalisant le volume de TAPP par le volume de la prostate pour ne pas biaiser les résultats.

De façon intéressante, bien que les méthodes de mesure soient très variées, les résultats sont constants et toutes les études montrent un lien entre l'abondance de ce TAPP et différents facteurs d'agressivité du cancer de la prostate (Tableau 1) : corrélation aux scores de Ash²⁶⁹ et de d'Amico²⁷⁰, deux scores pronostiques qui prennent en compte à la fois le score de Gleason biopsique, le taux de PSA initial et le stade T clinique ; corrélation au score de Gleason biopsique²⁷⁶ et/ou pathologique (sur pièce de prostatectomie)²⁷² et stade pT²⁷⁴ et également corrélation au développement de Cancer Résistant à la Castration (CRPC) après hormonothérapie²⁷⁵. Deux études ont également montré une corrélation entre l'abondance de ce TAPP et l'incidence du cancer de la prostate^{271,273} : c'est-à-dire que les patients présentant un TAPP abondant seraient plus à risque de développer un cancer de la prostate et en particulier une forme agressive de cancer de la prostate.

Une seule étude ne va pas dans ce sens, c'est la première étude parue dans la littérature et menée par l'équipe de van Roermund²⁶⁸ qui a ensuite trouvé, sur une cohorte différente, des résultats contraires²⁶⁹. Ce résultat peut s'expliquer par le faible nombre de cas de cancers agressifs dans la première cohorte (qui incluait seulement des patients traités par brachythérapie). Quand, dans la deuxième étude, des patients avec des cancers plus agressifs ont été inclus (patients traités par radiothérapie externe), la corrélation entre abondance du TAPP et agressivité du cancer a été montrée.

De façon intéressante, la plupart de ces études ont montré une absence totale de corrélation entre abondance du TAPP et IMC^{272-274,276} ou une corrélation extrêmement faible (Spearman $R = 0.08$)²⁷¹ alors que les autres dépôts de tissu adipeux (sous-cutané et viscéral), quand ils étaient mesurés, étaient toujours corrélés à l'IMC. La seule exception est encore une fois la première étude du groupe de van Roermund qui trouve une association assez importante entre abondance du TAPP et IMC²⁶⁸ (Spearman $R = 0.36$).

Etude	Norme de référence	Traitement	Mesures	Modalités d'imagerie et de mesure	Résultat	Lien avec l'IMC ?
Dahran et al. ²⁷⁴ UK 2017 N = 162	Biopsies prostatiques & Prostatectomie radicale	Chirurgie	Volume de TAPP normalisé / prostate (NPFV) + épaisseur TAsc et aire TAV	Coupes axiales d'IRM pré-opératoire T2 successives (de la base à l'apex de la prostate) et segmentation semi-automatique + normalisation / volume prostatique	Corrélation entre le NPFV et le <u>score de Gleason pré et post-opératoire et le stade pT</u> (TAPP chez pT2 < pT3)	NON (pas de lien avec le TAPP mais avec le TAV et TAsc oui)
Salji et al. ²⁷⁵ Scotland 2017 N = 61	Réponse au traitement (ADT)	ADT	Volume de TAPP normalisé ou non / volume prostatique	Coupes axiales d'IRM pré-opératoire T2 successives (de la base à l'apex de la prostate) et segmentation semi-automatique + normalisation / volume prostatique	- volume de TAPP augmenté chez les patients ayant développé un <u>CRPC</u> - lien CCR3 / TAPP élevé et mauvaise réponse au traitement (N = 18)	DM
Cao et al. ²⁷³ China 2017 N = 683 (dont 371 CaP) (étude d'INCIDENCE)	Biopsies prostatiques	DM	Epaisseur de TAPP et de TAsc	Coupe axiale d'IRM au niveau du plan sagittal médian : distance la plus courte entre la symphyse pubienne et la prostate (TAPP) et entre la symphyse pubienne et la paroi abdominale (TAsc)	La quantité de TAPP est un facteur prédictif de la <u>détection de CaP (et de CaP agressifs)</u> sur biopsie	NON (TAPP non corrélé à l'IMC mais TAsc oui)
Tan et al. ²⁷⁶ USA 2016 N = 234 (dont 145 CaP)	Biopsies prostatiques	DM	Volume de TAPP et ratio de TAPP (= volume TAPP / volume prostate)	Coupes axiales d'IRM pré-opératoire T2 successives (de la base à l'apex de la prostate) et segmentation semi-automatique + normalisation / volume prostatique	Le volume et le ratio de TAPP sont corrélés à des <u>SG biopsiques</u> plus élevés (ratio de TAPP meilleur prédicteur)	NON (le ratio de TAPP n'est pas corrélé à l'IMC)
Woo et al. ²⁷² Corée 2015 N = 190	Prostatectomie radicale	Chirurgie	Epaisseurs des TAsc et TAPP	Coupe sagittale d'IRM pré-opératoire T2. Mesure de la perpendiculaire la plus courte entre la prostate et l'os pubien (sur le plan sagittal médian)	Corrélation positive entre l'épaisseur du TAPP et le <u>SG post-opératoire</u>	NON (pas de lien avec le TAPP mais avec le TAsc oui)

Zhang et al. ²⁷⁰ China 2014 N = 184	Prostatectomie radicale	Chirurgie	Aire de TAPP et épaisseur de TAsc	Coupe transversale d'IRM au niveau de la tête fémorale et du grand trochanter	Corrélation entre l'aire de TAPP et le <u>score de d'Amico</u>	DM
Bhindi et al. ²⁷¹ Canada 2012 N = 931 (étude d'INCIDENCE)	Biopsies prostatiques	DM	Epaisseur de TAPP	Echographie transrectale : mesure de la perpendiculaire la plus courte entre l'os pubien et la prostate	La quantité de TAPP est un facteur prédictif de la <u>détection de CaP (et de CaP agressifs)</u> sur biopsie	OUI très faible (Spearman R = 0,08)
Roermund et al. ²⁶⁹ Pays-Bas 2010 N = 932	Biopsies prostatiques	Radiothérapie externe (N = 311) et brachythérapie (N = 621)	Aire de TAPP (cm ²) et épaisseur du TAsc	Coupe transversale de scanner. 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)	Corrélation positive entre la densité de TAPP et les cancers à haut risque (<u>score de Ash</u>)	DM
Roermund et al. ²⁶⁸ Pays-Bas 2009 N = 725	Biopsies prostatiques	Brachythérapie	Aire de TAPP (cm ²) et épaisseur du TAsc	Coupe transversale de scanner à 2 niveaux. 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)	L'aire et la densité du TAPP ne sont <u>pas corrélés à l'agressivité</u> du cancer de la prostate (haut grade de d'Amico ou Ash)	OUI (Spearman R = 0,36)

Tableau 1. 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

Ainsi, nous venons de voir l'importance du microenvironnement dans la progression tumorale et en particulier le rôle central des adipocytes. Nous nous sommes donc intéressés au rôle du tissu adipeux périprostatique dans la dissémination du cancer de la prostate. Dans les pages suivantes, je présenterai mes résultats de thèse, centrés sur la caractérisation biologique des TAPP abondants, qui présentent un phénotype unique n'ayant jamais été caractérisé auparavant et qui pourrait avoir un rôle pro-tumoral. Je conclurai en discutant les résultats que j'ai obtenus, les perspectives qu'ils ouvrent ainsi que les nouvelles questions qu'ils soulèvent.

RESULTATS

Le tissu adipeux périprostatique abondant : caractérisation et rôle dans la dissémination locale du cancer de la prostate

En dehors du contexte de l'obésité, des études récentes ont fait émerger un nouveau concept : une accumulation anormale de TAPP chez certains patients, indépendamment de l'indice de masse corporelle, ces TAPP dits abondants étant associés à des cancers agressifs²⁶⁹. Plusieurs études cliniques étayent ce concept mais aucune caractérisation biologique de ces TAPP abondants n'a été réalisée jusqu'ici.

Nous avons montré, en mesurant le volume de TAPP sur les IRM de 147 patients atteints de CaP, que l'abondance du TAPP est dissociée de l'IMC et des autres dépôts adipeux. Ainsi, un sous-groupe de patients présente un TAPP particulièrement abondant et l'accumulation de ce dépôt adipeux ectopique est associée à des cancers plus agressifs. Nous avons, pour la première fois, combiné à cette étude clinique une caractérisation biologique de ces TAPP abondants qui révèle qu'ils sont très différents d'un TA obèse. En effet, on retrouve une hypertrophie adipocytaire dans ces TAPP, qui n'est pas associée à un phénomène d'hyperplasie ni à l'infiltration par des cellules immunes. Nous avons également montré un remodelage important de la matrice extracellulaire dans ces TAPP abondants avec une diminution d'expression de plusieurs collagènes (collagènes I, IV, VI et XII). Des résultats préliminaires suggèrent aussi qu'un fragment de clivage particulier du collagène VI, l'endotrophine, qui a déjà été décrit comme jouant un rôle majeur dans la progression du cancer du sein, serait augmenté dans les TAPP abondants, donnant une explication potentielle au lien entre abondance du TAPP et cancers de la prostate agressifs.

ARTICLE

Abundant periprostatic adipose tissue (PPAT) exhibit extracellular matrix remodeling that could explain both their “healthy” expansion and their role in prostate cancer progression

(Toulet A.*, *et al.*, manuscrit en préparation)

MANUSCRIPT IN PREPARATION

Abundant periprostatic adipose tissues (PPAT) exhibit extracellular matrix remodeling that could explain both their “healthy” expansion and their role in prostate cancer progression

Aurélie Toulet¹, Delphine Milhas¹, Mathieu Roumigué², David Estève¹, Morgane Legrand¹, Stéphanie Dauvillier¹, Julia Gilhodes², Charlotte Vaysse^{1,2}, Daniel Portalez², Florence Umuhoza³, Karima Chaoui¹, Chloé Belles³, Mohamed Moutahir¹, Sophie Le Gonidec³, Falek Zaidi², Manuelle Ducoux-Petit¹, Laurence Nieto¹, Odile Burlet-Schiltz¹, Philippe Valet³, Anne Bouloumié³, Bernard Malavaud² and Catherine Muller¹

¹Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, Université de Toulouse, CNRS, UPS, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse, France

²Institut Universitaire du Cancer de Toulouse–Oncopole (IUCT-O), 1 avenue Irène Joliot-Curie, 31059 Toulouse Cedex 9, France

³Institut des Maladies Métaboliques et Cardiovasculaires, Université de Toulouse, INSERM, UPS, 1 avenue Jean Poulhès, 31432 Toulouse, France

Financial Support: This study was supported by the French National Cancer Institute (INCA PL 2016-176 to PV, BM and CM), by the “Fondation Toulouse Cancer Santé” and by the Fondation ARC (“Association de Recherche contre le Cancer”) Programmes labellisés 2016. This work also benefited from the Toulouse Réseau Imagerie (TRI)-RIO Optical Imaging Platform at Institut de Pharmacologie et Biologie Structurale (Genotoul, Toulouse, France) supported by grants from the Région Midi-Pyrénées (contrat de projets état-région), the Grand Toulouse community, the Association pour la Recherche sur le Cancer (Equipement 8505), the CNRS and the European Union through the Fonds Européen de Développement Régional program.

Corresponding author: Pr Catherine Muller, IPBS CNRS UMR 5089, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse; Tel: 33-561-17-59-32; Fax: 33-561-17-59-33; e-mail: muller@ipbs.fr

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

ABSTRACT

Abnormal accumulation of periprostatic adipose tissue (PPAT) is an emerging risk factor of aggressive prostate cancer (PCa). Currently, the link between these two events is only correlative and a biological characterization of these abundant PPAT is clearly needed. We measured, in a series of 147 patients undergoing prostatectomy for PCa, the volume of PPAT as well as the accumulation of subcutaneous and visceral adipose tissues (SAT and VAT). In opposition to SAT and VAT accumulation, the PPAT volume was totally dissociated from BMI. According to the heterogeneity observed in PPAT accumulation, we defined a subgroup of patients that display abundant PPAT and these patients exhibited more aggressive prostate cancers with increased tumor volume, higher Gleason score and advanced local dissemination. Using combined histochemistry and flow cytometry approaches, we demonstrated that PPAT abundance arises as a result of adipocyte hypertrophy and not hyperplasia. Abundance of PPAT was not associated with an increase in local inflammation, defined by the infiltration of pro-inflammatory macrophages, the presence of macrophages surrounding necrotic adipocytes (Crown-Like Structures) or the secretion of pro-inflammatory cytokines. Interestingly, the secretion of adiponectin was increased in these abundant PPAT whereas leptin secretion was unaffected. Conducting a proteomic study on the secretome of low *versus* high PPAT, we uncovered that abundant PPAT exhibit an extensive extracellular matrix (ECM) remodeling with decreased expression of collagens I, VI and XII. These results, that were partially confirmed using RT-qPCR, strongly suggest that occurrence of a loosely connective ECM could allow a healthy expansion of adipocytes without mechanical constraints. Conversely, an increase in endotrophin (ETP) expression (a bioactive fragment of collagen VI α 3 cleavage) was found in the secretome of abundant PPAT. ETP has been previously described to promote within breast tumors several events such as fibrosis, angiogenesis and inflammation, resulting in aggressive tumors. Therefore, our results suggest that the extensive ECM remodeling that occurs in abundant PPAT could explain both their “healthy” expansion and their role in prostate cancer progression. Experiments are currently ongoing to demonstrate this original hypothesis.

Introduction

Prostate cancer (PCa) is the most common malignancy among men worldwide, and is the second leading cause of cancer death in Western countries¹. PCa is a heterogeneous group of diseases, going from indolent localized diseases that are not a threat to patients to very aggressive life-threatening diseases that need radical treatment¹. There is therefore a need to develop means to distinguish between these different forms of the disease and accurately identify, at the time of diagnosis, men for whom treatment is indicated. Data available at diagnosis under current practice – prostate-specific antigen (PSA), clinical stage and biopsy Gleason score – can be combined in a variety of ways to yield risk-stratification systems¹. However, these standard markers are not very specific, so there is an unmet need for other markers to improve prediction models for men at multiple decision points from diagnosis onward. Many candidate biomarkers have been proposed for this purpose. However, they are, for the most part, associated closely with established characteristics and offer little independent information. Even among those that seemed promising in initial studies, few have proven valuable on rigorous external validation^{2,3}. Of note, PCa shows site-specific preference of progression, in that prostate and bone are two preferred areas of persistent or recurrent cancer, suggesting that PCa has a unique relationship with the microenvironment of these localizations⁴. Accordingly, microenvironment-derived factors might represent new opportunities to identify biomarkers for stratification.

One of the main components of the microenvironment of PCa is the periprostatic adipose tissue (PPAT) which is, like other adipose tissues, an endocrine organ^{5,6}. PPAT has been shown to participate in PCa progression in a paracrine manner⁵. We have recently shown that by secreting a chemokine, CCL7, that binds to its receptor CCR3 at the surface of invasive tumor cells, PPAT chemoattracts PCa cells outside of the gland and favors local dissemination⁷. The ability of tumor cells to migrate towards a chemokine gradient indicates that they have developed a metastatic phenotype (with both migratory and invasive capacities). Acquisition of this phenotype might also be facilitated by surrounding PPAT that expresses inflammatory cytokines, including interleukin-6, and metalloproteinases, both favoring the invasive properties of tumor cells^{5,8,9}. Once tumor cells have invaded the PPAT and come into contact with its adipocytes, a bidirectional crosstalk happens, leading to FFA transfer from adipocytes to tumor cells that enhance their invasive abilities through increased oxidative stress (Laurent, Toulet *et al.*, in revision). Both processes (*i.e.* initial local dissemination and enhanced invasive abilities by PPAT infiltration) are enhanced by obesity, a state that induces adipose tissue (AT) remodeling. Changes in adipocyte size in obesity affect the metabolic and endocrine functions of AT, and its infiltration by immune cells such as macrophages contributes to the occurrence of an inflammatory environment⁶. Accordingly, at a clinical level, several studies have identified significant associations between obesity and the progression of PCa, most commonly with the presence of more aggressive tumors and/or higher PCa specific mortality as well as increasing risk of biochemical recurrence (reviewed in ⁵). However, this link is debated since several studies especially in Europe show no association between BMI and the risk of being diagnosed with more aggressive prostate cancers (reviewed in ⁵). The discrepancy between these studies needs further exploration, yet it could reflect differences in the percentage of the adult population who are clinically obese, which is higher in North America, and may be affected by the greater proportion of African Americans who tend to have more aggressive disease compared to Caucasian Americans (reviewed in ⁵).

Recently, a new concept has emerged in the literature, the notion of abnormally accumulated PPAT or abundant PPAT. In fact, PPAT abundance seems to be dissociated from body mass index (BMI) and patients with abundant

PPAT exhibit aggressive PCa defined by high Gleason score, extended tumors outside of the prostate gland, or even by their belonging to high risk tumors according to Ash or d'Amico classifications (for review, see ⁵). No consensus has yet emerged from the literature concerning the most appropriate way to quantify PPAT. Different methods have been used, including the measure of PPAT area on a single slice of scanner^{10,11} or MRI¹² or even just the thickness of PPAT¹³⁻¹⁵. More recently, it has been proposed that the measurement of the whole PPAT volume on successive MRI slices with appropriate software might represent a more accurate way to evaluate this specific adipose deposit¹⁶⁻¹⁸. Although almost all the studies agree that there is a link between PPAT and prostate cancer aggressiveness, several very important questions remain unanswered. First, it is not clearly determined whether accumulation of PPAT is an isolated phenomenon or if it is associated with a broader phenotype of excessive visceral fat accumulation. Excessive visceral adipose tissue (VAT) accumulation has been described in patients called "MUNW" (for Metabolically Unhealthy Normal Weight)¹⁹. MUNW patients have a normal BMI but accumulate fat, especially in the visceral compartment, this accumulation being involved in the occurrence of metabolic complications¹⁹. To date, only one study on PPAT abundance suggest that PPAT accumulation is not associated with VAT accumulation¹⁶. For the moment, the link between abundant PPAT and PCa aggressiveness is only correlative. The mechanism(s) contributing to the occurrence of abundant PPAT remain(s) totally unknown. It also remains to be determined whether these abundant PPAT exhibit dysfunctions such as infiltration by immune cells, low-grade inflammation, fibrosis or deregulation of adipokines secretion and the mechanisms involved in the enhancement of PCa aggressiveness. To answer all these questions, we set up a study where the PPAT from 147 patients undergoing prostatectomy for PCa was collected. We first measured the volume of PPAT as well as SAT and VAT and evaluated the relationship between these different adipose depots as well as with BMI. The relationship between PCa aggressiveness and accumulation of PPAT was confirmed in this fully annotated series. Biological characterization of abundant PPAT allowed us to determine that these fat depots exhibit "healthy" expansion of AT (hypertrophic adipocytes without inflammation) and suggest that ECM remodeling might explain both the unlimited accumulation of PPAT and the role of PPAT in PCa aggressiveness. To our knowledge, this work represents the first biological characterization of abundant PPAT and might have important clinical consequences on PCa patients.

METHODS

Cohort description: This is a retrospective study conducted in accordance with the guidelines and with the full approval of the ethics committee of the Rangueil Hospital (Toulouse, France). All patients gave their informed consent to participate to this study, which was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki Principles as revised in 2000. The 147 patients included in the cohort underwent surgery for PCa between September 1st 2012 and April 1st 2017 at the Urology Department of Toulouse Hospital. Surgical treatment consisted of a robot-assisted radical prostatectomy, associated in some cases with lymphadenectomy (standard or extended). All patients included in the study had localized disease without metastasis at the time of the surgery. Data were acquired from the medical records of the patients for baseline demographic characteristics, disease specific parameters and imaging including MRI of the prostate (available in Table 1).

Imaging Protocol: All included patients underwent mpMRI (multiparametric MRI) acquired on a 1.5 T MAGNETOM Aera Siemens scanner (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) with 18-channel surface body coil. All patients received 20 mg of butyl scopolamine (Buscopan; Boehringer-Ingelheim) injected intramuscularly before MRI to minimize peristalsis. The imaging protocol consisted in the acquisition of anatomic 3D fast spin echo T2-weighted MRI, functional diffusion-weighted MRI, dynamic contrast-enhanced MRI.

Fat Measurements: After anonymization of MRI studies from the 147 men of the cohort, the periprostatic adipose tissue (PPAT) volume was determined by using a semi-automated segmentation technique on contiguous 3mm T2-weighted axial slices. Olea Sphere© (<http://www.olea-medical.com/>) software was used for these measurements. One observer, blinded to the clinical data, carried out all segmentations and measurements. The PPAT volume was segmented from the level of the prostate base to the apex. This PPAT volume was divided by the prostate volume measured on the same images to determine the PPAT ratio. The subcutaneous fat thickness (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. The subcutaneous fat area was measured on the slice where it was maximum. The visceral adipose tissue (VAT) area was only measurable for 20 patients because usually, prostate MRI stop below the umbilical level. It was determined by segmenting the intra-abdominal fat on a single axial slice at the umbilical level including retroperitoneal fat. The peri-rectal area was determined by segmenting the fat around the rectum at the level of the apex of the prostate.

Human PPAT samples: Human PPAT samples were collected from radical prostatectomy in accordance with the recommendations of the ethics committee of the Rangueil Hospital (Toulouse, France). All patients gave their informed consent to participate to this study, which was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki Principles as revised in 2000. As previously described⁷, PPAT samples were collected at a distance from the tumors. These samples were collected and treated within 15 minutes after the surgery to limit the delay between devascularization and freezing, thus ensuring the preservation of labile molecules. PPAT samples were weighed and 1g of tissue was placed immediately in 8 ml of DMEM supplemented without bovine serum albumin (BSA) (n = 10) for proteomic studies. Human PPAT was incubated overnight at 37°C in a humidified incubator with 5% CO₂ and the medium was collected (PPAT-CM). For each patient, PPAT-CM was immediately stored at -80°C. Simultaneously, for some patients (n = 9), several samples of PPAT were frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C for PCR analysis. Finally, for some patients (n = 51), samples of PPAT were fixed in 4% paraformaldehyde and embedded in paraffin or digested with collagenase for stroma-vascular cell isolation as described below.

Adipocyte diameter measurement: Human PPAT samples (n = 51) were fixed in 4% paraformaldehyde (Electron Microscopy Sciences) for 24 hours at 4°C before dehydration by successive baths of graded alcohol (70-100% ethanol and then HistoClear (National Diagnostics)) and finally were paraffin-embedded. The paraffin-embedded PPAT were cut in 5µm slices and mounted on slides. The slides were immersed in xylene to remove paraffin and then rehydrated by successive baths of graded alcohol (100-70% ethanol and then distilled water). The slices were then colored with hematoxylin (Merck) and eosin (RAL Diagnostics). After three rinsing cycles in 100% alcohol, the slides were mounted with coverslips and mounting medium. The slides were then digitally scanned via Hamamatsu Nanozoomer 2.0RS and analysed with the device software provided by the manufacturer.

Area and diameter of adipocytes were measured with Adiposoft (ImageJ plugin)²⁰ on black & white pictures from the slides. The software was used in automatic mode then the results were analyzed manually to eliminate badly delimited cells. For each patient, 700 to 1500 cells were measured.

Analysis of the number of CLS (Crown-Like Structures) by immunohistochemistry: Immunohistochemical experiments were performed to quantify the CLS in human PPAT. Immunostaining was performed with the EnVision FLEX Mini Kit, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus; Dako France, Trappes, France). The slices were immersed in xylene to remove paraffin and then rehydrated by successive baths of graded alcohol (100–70% and then distilled water), followed by treatment with the antigen unmasking solution for antigen retrieval (Citrate Target Retrieval Solution from Dako) in a water bath at 95°C. After saturation of endogenous peroxidases (Peroxidase blocking solution from Dako), the samples were incubated with the primary anti-CD68 antibody (diluted to 1/100). The slices were then incubated with FLEX/HRP conjugate secondary antibody (EnVision FLEX⁺ Mouse and Rabbit from Dako). The samples were rinsed, then treated with liquid DAB (3,3'-diaminobenzidine, BioGenex, San Ramon, CA) and washed with distilled water. Finally, the counter-staining was carried out with hematoxylin (Dako) and the various TMA were mounted with Eukitt reagent. The slides were then digitally scanned via Hamamatsu Nanozoomer 2.0RS and the CLS were manually counted.

Picrosirius red staining and quantification: 5 µm PPAT slices were mounted on glass slides as described above. The slides were immersed in xylene to remove paraffin and then rehydrated by successive baths of graded alcohol (100–70% and then distilled water) and stained for 30 minutes with Picrosirius red (0.1% of Sirius red in saturated aqueous picric acid) for collagen staining. After washing steps in saturated aqueous picric acid solution, PPAT slides were mounted with appropriate mounting medium and coverslips for observation. The slides were then digitally scanned via Hamamatsu Nanozoomer 2.0RS. Picrosirius red was quantified with ImageJ using the same threshold parameters on all images. Briefly color images were 8-bit transformed and thresholded positive signals was measured. The largest positive areas were removed with limited size inclusion criteria since it corresponds to vessels or large collagen bundles. The positive staining was normalized to the whole adipose tissue area on the slides.

Isolation of adipose tissue stroma-vascular fraction: As previously described²¹, PPAT was digested with collagenase type II (250 U/ml in Phosphate Buffer Saline, 2% Bovine Serum Albumin, pH 7.4, volume/volume) for 30 minutes at 37°C. The cell suspension was filtered with a 250 µm filter. The stroma-vascular fraction (SVF) was obtained after centrifugation (room temperature) and treatment with erythrocyte lysis buffer (155 mmol/L NH₄Cl, 5.7 mmol/L K₂HPO₄, 0.1 mmol/L EDTA, pH 7.3) for 10 minutes. Finally, matrix fragments were removed using successive filtrations through 100 and 40 µm nylon meshes. SVF cells were counted and either analyzed directly by flow cytometry or plated at high density (120 000 cells per cm²) for 48 hours in ECGM-MV medium (Promocell) for adipogenesis assay.

Flow cytometry analysis: Cells were incubated with the following fluorescent-labeled monoclonal antibodies or their respective controls for 25 minutes at 4°C: anti-human CD45 V510- conjugated, CD36 APC-CY7-conjugated, from Biolegend, anti-human CD34 PerCP-conjugated, CD31 V450-conjugated, CD16 FITC-conjugated, CD206

APC-conjugated, CD3 V450-conjugated, CD25 APC-conjugated, CD19 APC-CY7-conjugated, HLA-DR APC-CY7-conjugated, CD8 PerCP-conjugated, CD56 PE-CY7-conjugated, CD4 FITC-conjugated, from BD Biosciences; anti-human CD14 PEVIO770-conjugated, MSCA1 PE- conjugated and CD271 APC- conjugated, from Miltenyi Biotec. After washing steps, the cells were analyzed by flow cytometry using a FACS Canto™ II flow cytometer and Diva Pro software (BD Biosciences).

Adipogenic culture conditions: Stroma- vascular cells were plated at high density (120 000 cells per cm²). 48 hours after seeding, medium was changed into defined adipogenic medium: ECBM (Promocell), 50 mg/ml penicillin- streptomycin, 66 nmol/L Insulin, 1 nmol/L Triiodothyronine, 0.1 µg/ml Transferrin, 100 nmol/L Cortisol (ITTC, basal condition) supplemented or not with 3 µM Rosiglitazone (ITTCR). After 3 days, the media was replaced with basal defined adipogenic medium (ITTC) and refreshed every 2- 3 days for the following 7 days.

ELISA multiplex: Secreted human adipokines were quantified in PPAT-CM with an ELISA kit from R&D Systems (LXSAHM-08 with Adiponectin/Acrp30 (BR44), CXCL8/IL-8 (BR18), IL-1β (BR28), leptin (BR51), MCP-1/CCL2 (BR25), serpin E1/PAI-1 (BR43) and TNFα (BR12)), according to the protocol provided by the manufacturer.

mRNA extraction and quantitative PCR: Stroma-vascular fraction RNAs were extracted using the RNeasy kit (Qiagen). Whole PPAT RNAs were extracted using the Direct-zol RNA MiniPrep Plus (Ozyme). The RNA concentration was measured using DropSense16-micro-volume spectrophotometer. RNAs were reverse-transcribed using Superscript® III kit (Invitrogen). The amplification reaction was done on 2 ng of the cDNA samples in a final volume of 10 µL in 384- well reaction plates in a ViiA 7 Real-Time PCR system and software (Applied Biosystems). Results were normalized to PPIB rRNA levels.

Real Time PCR TaqMan Primers®:

ACRP30 (Adiponectin)	Hs00605917-m1
COL1A1 (Collagen type I alpha 1 chain)	Hs00164004-m1
COL3A1 (Collagen type III alpha 1 chain)	Hs00943809-m1
COL6A1 (Collagen type VI alpha 1 chain)	Hs01095585-m1
COL6A2 (Collagen type VI alpha 2 chain)	Hs00242484-m1
COL6A6 (Collagen type VI alpha 6 chain)	Hs01029204-m1
COL12A1 (Collagen type XII alpha 1 chain)	Hs00189184-m1
FN1 (Fibronectin 1)	Hs00365058-m1
GPDH (Glycerol 3 phosphate dehydrogenase 1)	Hs00193386_m1
LPL (Lipoprotein lipase)	Hs00173425_m1
PLIN1 (Perilipin1)	Hs00160173_m1
PPARγ2 (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2)	Hs01115510_m1
PPIB (Peptidylprolyl isomerase B / Cyclophilin B)	Hs00168719-m1

Analysis of the PPAT secretome by mass spectrometry: PPAT-CM was collected on ice and supplemented with complete protease inhibitor cocktail (Sigma-Aldrich). A total of 6 ml of PPAT-CM was used to precipitate the proteins of the secretome as previously described²². After reduction and alkylation of cysteine, the sample was separated by 10% acrylamide SDS-PAGE. Proteins were visualized by Coomassie Blue staining and each lane was cut into a single slice and subjected to in-gel tryptic digestion. The tryptic digest was analyzed by nano liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry with an Ultimate3000 system (Thermo Scientific Dionex, Sunnyvale, CA, USA) coupled to an LTQ-Orbitrap mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany), except that peptides were eluted with a 5–50% gradient of solvent B for 60 min at a 300 nl/min flow rate. The Mascot Daemon software (version 2.3.2, Matrix Science, London, UK) was used to automatically extract peak lists from raw files. MS/MS data were searched against all entries in the *Homo sapiens* database and identified peptides were validated with in-house developed software²³, except that 1% false discovery rate was used for validation. The identified proteins were grouped according to their biological function through literature investigation and function analysis using STRING v10.5 database <https://string-db.org/> and UniProt <http://www.uniprot.org/>. For individual peptide expression, the relative abundance was compared using log₂(LFQ)(Label Free Quantification), which corresponds to the normalized intensities sum.

Statistical analysis: The statistical significance of differences between means was evaluated with unpaired Mann Whitney's U tests. For the clinical analysis, we first performed a descriptive analysis with the clinical, biological and radiological features of patients. For the correlations between continuous variables, we used a Spearman's rank correlation test assuming a monotonic relation between considered variables. For the categorical variables, we used Chi-square distribution comparison. All statistical tests were two-sided. P-values below 0.05 (*), < 0.01 (**) and < 0.001 (***) were deemed as significant and 'NS' was used to denote not significant.

Results and discussion

Periprostatic adipose tissue accumulates independently of BMI and of VAT and its abundance is correlated with aggressive prostate cancers. In order to construct a validated clinical cohort, the correlation between BMI, PPAT and other adipose depots accumulation (SAT and VAT) was investigated in a series of 147 patients that underwent a prostatectomy for PCa. We first set up the analysis workflow to accurately measure these different adipose depots. The volume of PPAT was measured on successive slices of pre-surgical MRI from the base to the apex of the prostate (Fig. 1A). The following anatomical boundaries were used to define PPAT limits on each slice: pubic symphysis in front, obturator muscles on the lateral sides and on the back the Denonvilliers' fascia (a thin layer of collagen fibers and smooth muscle cells separating the prostate and the seminal vesicles from the rectum) (Fig. 1B). A mean of 14 serial slices of 3 mm was used for each patient of our cohort. By using this measure, we found that the volume of this fat depot was strongly correlated with prostate volume (PV) (Fig. 1C). To our knowledge, this is the first demonstration that there is a direct correlation between these two parameters. We therefore decided to use a "normalized" PPAT volume (defined by the volume of PPAT/PV). The use of a normalized PPAT volume has already been used in a previous study¹⁶ as a more accurate reflection of relative fat volume in the periprostatic area. "Classical" adipose depots areas were measured as controls. SAT area was measured at the pelvis level (Fig. 2A) whereas peri-rectal fat was used as representative of visceral adipose tissue

(VAT) (Fig. 2B). The pre-operative MRI for prostate cancer patients does not routinely include the VAT present at the umbilical level, which is considered as the standard for VAT measurement²⁴. To ensure that peri-rectal fat is a good reflection of VAT, we took advantage of a subpopulation of 20 patients included in our cohort where both peri-rectal fat and VAT (as defined by the area of fat at the level of the umbilicus) were present on the MRI. As shown on Fig. 2C, a good correlation was found between these two fat depots, validating the use of peri-rectal fat as an appropriate measurement of VAT.

The clinical and histological characteristics of the cohort are presented in Table 1 and the radiological characteristics in Table 2. The median age and BMI of our cohort were 64.5 years (range 39-76) and 25.7 kg/m² (range 19-37), respectively. According to the WHO classification, 51 patients were classified as normal weight (34.7% of the cohort), 73 as overweight (49.7% of the cohort) and 16 as obese (10.9% of the cohort). Note that the obese population exhibited a median BMI of only 31.5 kg/m². The cohort was very homogeneous in terms of prostate cancer aggressiveness, in accordance with the current indications for radical prostatectomy²⁵. Two-third of the patients belonged to the intermediate group of d'Amico classification²⁶ and almost 70% had a Gleason score of 7 (with 47% of the patients with a 3+4 score and 22% of the patients with a 4+3 score). The median PPAT volume was 42.9 cm³ (standard deviation (SD) 10.8 cm³) and the median normalized PPAT volume was 0.9 (SD 0.26). The median SAT area was 17.8 cm² (SD 10.2 cm²) and the median peri-rectal AT area was 2.7 cm² (SD 0.6 cm²). As shown in Fig. 3A and 3B, SAT accumulation, as well as VAT, correlated with BMI ($R = 0.74$, $p < 0.0001$ for SAT area and $R = 0.47$, $p < 0.0001$ for peri-rectal area). Normalized PPAT volume was totally dissociated from BMI ($R = -0.04$, $p = 0.64$) (Fig. 3C) as well as from VAT accumulation ($R = 0.06$, $p = 0.43$) (Fig. 3D). These results were confirmed in a cohort of 20 patients without prostate cancer (Supplementary Fig. 1A and 1B). These results are in accordance with the recent findings in the literature showing an absence of correlation between BMI and the abundance of PPAT^{13-16,18}. Our results highlight that PPAT behave as an ectopic fat deposit independent of the accumulation of VAT, a result that was also found in a recent study¹⁶. The factors driving PPAT development are still unidentified. In our study, we showed that PPAT volume was strongly correlated with prostate volume, suggesting that androgens could play a role in PPAT development. Indeed, androgens play a major role in prostate development, by acting both on prostate cells but also on the surrounding stroma²⁷. The relationship between PPAT development and androgens remains largely unexplored. One study has demonstrated that patients treated during 12 months by 5-ARI (5 α reductase inhibitors) presented smaller PPAT than controls²⁸, suggesting a role of androgens on the development of this adipose depot. Therefore, it would be of high interest to investigate the link between androgens (either in the circulation or in the PPAT) and the abundance of PPAT in our series.

According to the heterogeneity observed in PPAT accumulation (Fig. 3C), we defined a subgroup of patients that exhibit abundant normalized PPAT, defined as those in the upper quartile of the distribution (threshold: 1.12), that we called "high PPAT", the remaining samples being named "low PPAT" (Fig. 4A). The main characteristics of the patients, classified as low and high PPAT, are presented in the Table 3. Despite the relative homogeneity of the cohort, we were able to show a correlation between high PPAT and three major determinants of prostate cancer aggressiveness. Indeed, patients with high PPAT exhibited tumors with greater volume (Fig. 4B) and presented more frequently locally invasive tumors (defined by pT3 stage) and higher Gleason scores (7 (4+3) or higher) (Fig. 4C). These compelling results demonstrate that the abundance of PPAT correlates with prostate cancer aggressiveness, a result that is in accordance with the current literature (for review, see ⁵). In our study we did not find any correlation between BMI and prostate cancer aggressiveness, although it is important to note that the

percentage of obese patients was relatively low (10%). Nevertheless, in all the studies investigating the link between PPAT abundance and PCa aggressiveness, the BMI was not found to be related to aggressiveness^{13–16,18}. This could be explained either by the relatively low number of obese patients included as well as the state of obesity of the included patients. Nevertheless, these results also show that abundance of PPAT seems to have a greater impact on tumor progression than obesity. Thus, this first part of our study leads us to obtain a validated cohort in order to use it to characterize the biological modifications occurring in abundant PPAT that was the main goal of our study.

Abundant PPAT is due to adipocyte hypertrophy and not hyperplasia. According to our results and previous studies^{11,16,17}, it is clear that a subset of patients accumulate a high amount of PPAT around the prostate, but the mechanism(s) that contribute(s) to the occurrence of abundant PPAT remain(s) unknown. AT can grow by two main mechanisms: hypertrophy, which is an enlargement of existing adipocytes or hyperplasia, which consists in the recruitment of new preadipocytes that differentiate to form new adipocytes²⁹. We first measured the size of adipocytes from either low or high PPAT in our validated cohort using a semi-automatic method, based on the ImageJ plugin Adiposoft (Fig. 5A). This method enabled us to measure more than 500 adipocytes for each patient, thus having an accurate measure. We showed a clear shift in adipocyte size between the two groups, high PPAT (n = 20) having bigger adipocytes than low PPAT (n = 31) (Fig. 5B). Further results confirmed that the mechanism of PPAT accumulation in high PPAT samples relies on hypertrophy and not hyperplasia. First, we showed by flow cytometry that the number of adipose progenitor cells, defined as CD45-/CD34+/CD31- cells, in the stroma-vascular fraction (SVF) of PPAT, was not different between high and low PPAT (Fig. 5C). We used two additional cell surface markers, MSCA1 (tissue nonspecific alkaline phosphatase) and CD271 (nerve growth factor receptor), that were previously described to partition the progenitor population into three subsets with distinct differentiation potential²¹. As shown in Fig. 5D, no differences were observed between these three populations of progenitors between low and high PPAT samples. Finally, no differences were observed when the capacity of the adipose progenitors to differentiate was measured as assessed by the expression of adipocyte differentiation genes (Fig. 5E). Taken together, these results demonstrate that PPAT abundance arises as a result of adipocyte hypertrophy and not hyperplasia. In AT, adipocytes have parenchymal functions consisting of conducting energy storage and release according to nutritional status. In obesity, the presence of hypertrophic adipocytes is a common trait, which might imply complex mechanisms³⁰. However, several arguments suggest that lipid availability, the form of plasma lipid levels, LPL (Lipoprotein Lipase) activity and lipid uptake into cells, are key to promote adipocyte hypertrophy³⁰. For the moment, the mechanisms leading to adipocyte hypertrophy in abundant PPAT remains totally unknown and the extensive lipidomic and proteomic characterization of isolated adipocytes from either low or abundant PPAT will certainly be a very useful strategy to answer to this key question.

In opposition to obesity, abundant PPAT exhibit hypertrophic adipocytes without associated inflammation.

As stated in the introduction, in a context of obesity, there are modifications of the immunological landscape of AT, mainly characterized by an accumulation of pro-inflammatory macrophages that surround dying hypertrophic adipocytes, in a characteristic formation called CLS (Crown-Like Structure)^{31–33}. According to previous data, we demonstrated that the frequency of CLS (defined by CD68+ cells surrounding adipocytes) increased with the BMI of patients³⁴. While only 25% of normal weight patients exhibited CLS, this percentage increased to 33% of

overweight and 67% of obese patients (Fig. 6A). By contrast, no differences were observed between low and high PPAT (Fig. 6A). We then analyzed, by flow cytometry on the SVF of low and high PPAT, the different immune subpopulations. As shown in Fig. 6B, no differences in the number of macrophages (defined as CD45+/CD14+ SVF cells), nor lymphocytes (CD45+/CD14-/low SSC) were observed between low and high PPAT whereas a slight increase in granulocytes was found in high PPAT (Fig. 6B). We further analyzed the subpopulations of CD206+ and CD206- macrophages and no differences were found between the two groups of PPAT (Fig. 6C). Finally, we quantified the subpopulations of lymphocytes and did not find any differences between high and low PPAT (Fig. 6D). Therefore, our results show the accumulation of PPAT, despite the presence of hypertrophic adipocytes, is not associated with a recruitment of pro-inflammatory cells such as pro-inflammatory macrophages, neither with a profound modification of the immunological landscape of PPAT. In accordance with the concept that abundant PPAT is not associated with an inflammatory state of the tissue, we found that the level of secretion of several pro-inflammatory cytokines (TNF α , IL1 β , IL6) or the MCP-1 chemokine were similar between low and high PPAT (Fig. 6E). We also investigated the levels of expression of two major adipokines leptin and adiponectin, whose secretion is imbalanced in obesity with a high leptin / low adiponectin ratio⁶. As shown in Fig. 6E, while the level of leptin secretion was not modified between low and high PPAT, a higher level of adiponectin secretion was observed in the latter. This elevated level of secretion of adiponectin might explain several features of abundant PPAT. First, adiponectin acts as an anti-inflammatory adipokine and could therefore contribute to the absence of inflammatory state in abundant PPAT³⁵. Secondly, adiponectin favors in an autocrine manner adipocyte differentiation, insulin sensitivity and lipid accumulation, an effect that could contribute to the occurrence of hypertrophic adipocytes in abundant PPAT³⁶. Taken together, our compelling results show that abundant PPAT correspond to a state of “healthy” expansion of AT characterized by the presence of hypertrophic adipocytes without inflammation and higher adiponectin expression.

The occurrence of healthy expansion of AT observed in abundant PPAT might be related to regulation of extracellular matrix (ECM) remodeling. To further understand the mechanisms driving both the expansion of AT in abundant PPAT and its role in tumor progression, we performed a comparative proteomic study on the secreted proteins of low *versus* high PPAT. One hundred fifteen proteins were found to be differentially secreted between low and abundant PPAT, 61 were upregulated and 54 were downregulated (see Supplementary Fig. 2 for the list of the proteins). When classified depending on their function, the most represented cellular process associated with the downregulated proteins in abundant PPAT was “extracellular matrix organization” (Fig. 7A). In fact, we observed a decrease in collagens I (COL1A1 and COL1A2), IV (COL4A2), VI (COL6A2 and 6A3) and XII (COL12A1) and of fibronectin. It should be noted that the upregulated proteins did not cluster in relevant pathways. Performing an interaction map between the different proteins underexpressed in abundant PPAT leads us to propose that an extensive ECM remodeling occurs in these samples (Fig. 7B). A network of ECM proteins surrounds adipocytes that serves as mechanical support and respond to different signaling events³⁷. Studies indicate that fibronectin and collagens are the most abundant proteins of interstitial fibers and pericellular basement membranes in AT³⁷. Among these components, type I collagens provide the major ECM framework, while type VI collagen is also highly enriched in AT and plays an important role in ECM stability^{38,39}. In order to confirm the results of the proteomic studies, we investigated by RT-qPCR the expression of these ECM molecules in whole PPAT from either abundant or low samples using the validated primers that were available in our lab. As shown

in Fig. 8A, we observed a significant decrease in COL6A2 expression (but not COL6A1), as well as COL12A1, in high *versus* low PPAT. A decrease in COL6A6, although not significant, is also observed, the absence of significance being probably due to the low number of patients included and the high interindividual variability (Fig. 8A). By contrast, no differences were observed for COL1A1 and fibronectin (Fig. 8A). Very interestingly, when similar experiments were performed in the SVF of the samples, no differences were observed in accordance with the fact that adipocytes represent the major source of collagen VI secretion^{40,41}. These experiments partially confirm the results of the proteomic study and highlight that the expression of collagen VI might be decreased in abundant PPAT, a result that might be key to explain the healthy expansion of AT in abundant PPAT. In fact, collagen VI appears to play an important role in regulating the metabolic and inflammatory state of AT. In obesity, a variety of collagens (mainly collagens I, IV and VI) accumulate in expanding AT, creating a mechanical stress that ultimately lead to adipocyte death and dysfunction, initiating the recruitment of pro-inflammatory immune cells⁴². Among these collagens, several reports highlight significant correlations between collagen VI and chronic inflammation, based on increased pro-inflammatory macrophage infiltration⁴³. By opposition, challenging mice that lack collagen VI with either a high fat diet or with an *ob/ob* mutation, results in obese mice with unlimited adipocyte expansion and to an improvement of metabolic parameters, despite an even more important hypertrophy than in WT animals³⁸. This study showed that the inhibition of collagen VI went along with a decrease in elastin and an increase in MMP (Matrix Metalloproteinases) suggesting a loose extracellular matrix that could allow a healthy expansion of adipocytes without mechanical constraints^{38,42}. In abundant PPAT, this hypothesis needs clearly to be confirmed using imaging approaches. As a first step, we investigated the relative quantitative staining by picrosirius red, a strong anionic dye, that interacts with basic groups present in collagen molecule⁴⁴ in slides obtained from 20 low or high PPAT (Fig. 8C). As shown in Fig. 8D, despite a small decrease in the signal obtained in the abundant compared to low PPAT, this result was not significant. The absence of quantitative differences between the two groups can be explained by the fact that picrosirius red interacts with all collagen species including those such as COL1 and COL3 that are not modified in abundant PPAT⁴⁴. It would be therefore mandatory to use specific antibodies directed against collagens I, VI and XII to evaluate the differential expression of the distinct subtypes of collagens. Although we can use the same collections of slices to perform this staining, these experiments (as well as picrosirius staining) will also be performed on tissues fragments of PPAT in order to investigate the quantitative signal as well as to reconstitute the 3D network of collagens (branching, orientation and remodeling) since collagen VI was shown to play an important role in ECM stability and organization^{38,39}.

Overexpression of endotrophin (ETP), a bioactive cleavage product of the collagen VI α 3 chain, could explain the role of abundant PPAT in tumor progression. If the extensive remodeling of ECM in abundant PPAT could explain the “healthy” expansion of this adipose depot, how can we envision its role in PCa progression? Different hypotheses that are not mutually exclusive could be proposed. First, the remodeling and decreased stiffness of the ECM might favor tumor invasion into PPAT, as already described into other tissues⁴⁵. Secondly, the remodeling of ECM might modify the bioavailability of molecules secreted by adipocytes and/or the other cellular components of PPAT therefore promoting cancer progression. Thirdly, the remodeling of ECM could release a number of bioactive fragments, which in turn, will regulate numerous biological processes involved in tumor growth, survival and local or distant invasion⁴⁶. In order to test the latter hypothesis, the analysis of quantitative measurement of the various peptides derived from the collagen VI α 3 present in the proteomic studies

was performed, since such fragments have been described to participate to tumor progression⁴⁷. As shown in Fig. 9, while most of the peptides of collagen VI were underexpressed in high *versus* low PPAT, two peptides were found to be over-represented and one of them corresponded to the sequence of endotrophin (ETP). ETP corresponds to the cleavage product of the carboxyterminal C5 domain of the $\alpha 3$ chain of collagen VI⁴⁸. However, the details of this cleavage event remain unknown. It has been suggested that this cleavage plays an important structural role for collagen VI microfibril formation⁴⁸ although this point remained debated⁴⁹. Very interestingly, it has been reported that ETP expression is dramatically upregulated in murine and human breast cancer cancers compared to normal breast tissue⁵⁰. Overexpression of ETP in mammary tumors in transgenic mouse models promotes, within the tumors, fibrosis, angiogenesis, and inflammation through recruitment of macrophages and endothelial cells, resulting in aggressive tumor growth and increased metastatic potential⁴⁷. These effects were partially mediated through enhanced TGF- β signaling, which contributes to tissue fibrosis and epithelial-mesenchymal transition (EMT) of tumor cells⁴⁷. These results were obtained in transgenic mice that harbor ETP with a signal sequence under the control of the mammary epithelial specific MMTV promoter (called ETP transgenic mice) that were crossed with PyMT mouse, an aggressive mammary adenocarcinoma model that develops late-stage carcinoma and pulmonary metastasis⁴⁷. In ETP transgenic lines, that were not crossed with PyMTmouse, histologic analysis of mammary glands showed that ductal epithelial growth and the degree of fibrosis (including in mammary adipose tissue) was comparable to those in WT mice⁴⁷. By contrast, ETP specific overexpression in adipocytes strongly stimulates adipose tissue fibrosis and metabolic dysfunction under high fat diet conditions⁴⁰, suggesting that the pro-fibrotic effect of ETP in AT might depend on the presence or not of obesity. In our model, it will be mandatory to measure the level of ETP within the tumors associated to either low or high PPAT, as well as investigating fibrosis, angiogenesis and macrophage recruitment within the same tumors. Although preliminary, our compelling results lead us to propose the model presented in Fig. 10. In obese patients, the PPAT exhibit “dysfunctional” hypertrophic adipocytes and infiltration by immune cells leading to a modification of adipokine secretion (such as high leptin / low adiponectin ratio) and an inflammatory state. These modifications might in turn promote tumor progression as already proposed⁵¹. It is possible, although not demonstrated, that during PPAT expansion in obesity, AT fibrosis occurs rapidly, limiting the increase in size of this specific depot and explaining the fact that its volume is not correlated to BMI. It would be therefore very interesting to measure fibrosis of the PPAT in obese *versus* lean patients. In abundant PPAT, there is a “healthy” and unlimited expansion of PPAT that exhibit hypertrophic adipocytes without the occurrence of an associated inflammatory state. The observed decreased expression of collagens would contribute to a loose ECM that could allow a healthy expansion of adipocytes without mechanical constraints. Conversely, an increase of collagen VI $\alpha 3$ cleavage, leading to high ETP expression in abundant PPAT, would promote, within the tumors, several events such as fibrosis, angiogenesis, and inflammation, resulting in aggressive tumor growth. Experiments are currently ongoing to demonstrate this original hypothesis.

References

1. Pernar, C. H., Ebot, E. M., Wilson, K. M. & Mucci, L. A. The Epidemiology of Prostate Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med* (2018). doi:10.1101/cshperspect.a030361
2. Bjartell, A., Montironi, R., Berney, D. M. & Egevad, L. Tumour markers in prostate cancer II: diagnostic and prognostic cellular biomarkers. *Acta Oncol* **50 Suppl 1**, 76–84 (2011).
3. Swanson, G. P. & Quinn, D. Using molecular markers to help predict who will fail after radical prostatectomy. *Prostate Cancer* **2011**, 290160 (2011).
4. Gandaglia, G. *et al.* Distribution of metastatic sites in patients with prostate cancer: A population-based analysis. *Prostate* **74**, 210–216 (2014).
5. Nassar, Z. D. *et al.* Peri-prostatic adipose tissue: the metabolic microenvironment of prostate cancer. *BJU Int.* **121 Suppl 3**, 9–21 (2018).
6. Ouchi, N., Parker, J. L., Lugus, J. J. & Walsh, K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat. Rev. Immunol.* **11**, 85–97 (2011).
7. Laurent, V. *et al.* Periprostatic adipocytes act as a driving force for prostate cancer progression in obesity. *Nat Commun* **7**, 10230 (2016).
8. Finley, D. S. *et al.* Periprostatic adipose tissue as a modulator of prostate cancer aggressiveness. *J. Urol.* **182**, 1621–1627 (2009).
9. Ribeiro, R. *et al.* Human periprostatic adipose tissue promotes prostate cancer aggressiveness in vitro. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **31**, 32 (2012).
10. van Roermund, J. G. H. *et al.* Periprostatic fat measured on computed tomography as a marker for prostate cancer aggressiveness. *World J Urol* **28**, 699–704 (2010).
11. van Roermund, J. G. H. *et al.* Periprostatic fat correlates with tumour aggressiveness in prostate cancer patients. *BJU Int.* **107**, 1775–1779 (2011).
12. Zhang, Q. *et al.* Periprostatic adiposity measured on magnetic resonance imaging correlates with prostate cancer aggressiveness. *Urol J* **11**, 1793–1799 (2014).
13. Bhandi, B. *et al.* Measurement of peri-prostatic fat thickness using transrectal ultrasonography (TRUS): a new risk factor for prostate cancer. *BJU Int.* **110**, 980–986 (2012).
14. Woo, S., Cho, J. Y., Kim, S. Y. & Kim, S. H. Periprostatic fat thickness on MRI: correlation with Gleason score in prostate cancer. *AJR Am J Roentgenol* **204**, W43-47 (2015).
15. Cao, Y. *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* **8**, 44040–44049 (2017).
16. Dahrhan, 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* **7**, 4630 (2017).
17. Salji, M. *et al.* Peri-prostatic Fat Volume Measurement as a Predictive Tool for Castration Resistance in Advanced Prostate Cancer. *Eur Urol Focus* (2017). doi:10.1016/j.euf.2017.01.019
18. Tan, W. P., Lin, C., Chen, M. & Deane, L. A. Periprostatic Fat: A Risk Factor for Prostate Cancer? *Urology* **98**, 107–112 (2016).
19. Badoud, F., Perreault, M., Zulyniak, M. A. & Mutch, D. M. Molecular insights into the role of white adipose tissue in metabolically unhealthy normal weight and metabolically healthy obese individuals. *FASEB J.* **29**, 748–758 (2015).
20. Galarraga, M. *et al.* Adiposoft: automated software for the analysis of white adipose tissue cellularity in histological sections. *J. Lipid Res.* **53**, 2791–2796 (2012).
21. Estève, D. *et al.* Human white and brite adipogenesis is supported by MSCA1 and is impaired by immune cells. *Stem Cells* **33**, 1277–1291 (2015).
22. Chevallet, M., Diemer, H., Van Dorssealer, A., Villiers, C. & Rabilloud, T. Toward a better analysis of secreted proteins: the example of the myeloid cells secretome. *Proteomics* **7**, 1757–1770 (2007).
23. Bouyssié, D. *et al.* Mascot file parsing and quantification (MFPaQ), a new software to parse, validate, and quantify proteomics data generated by ICAT and SILAC mass spectrometric analyses: application to the proteomics study of membrane proteins from primary human endothelial cells. *Mol. Cell Proteomics* **6**, 1621–1637 (2007).
24. Klopfenstein, B. J. *et al.* Comparison of 3 T MRI and CT for the measurement of visceral and subcutaneous adipose tissue in humans. *Br J Radiol* **85**, e826-830 (2012).
25. Rozet, F. *et al.* [CCAFU french national guidelines 2016-2018 on prostate cancer]. *Prog. Urol.* **27 Suppl 1**, S95–S143 (2016).
26. D'Amico, A. V. *et al.* Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA* **280**, 969–974 (1998).
27. Bianchi-Frias, D. *et al.* The effects of aging on the molecular and cellular composition of the prostate microenvironment. *PLoS ONE* **5**, (2010).

28. Taussky, D. *et al.* Changes in periprostatic adipose tissue induced by 5 α -reductase inhibitors. *Andrology* **5**, 511–515 (2017).
29. Cawthorn, W. P., Scheller, E. L. & MacDougald, O. A. Adipose tissue stem cells meet preadipocyte commitment: going back to the future. *J. Lipid Res.* **53**, 227–246 (2012).
30. Tandon, P., Wafer, R. & Minchin, J. E. N. Adipose morphology and metabolic disease. *J. Exp. Biol.* **221**, (2018).
31. Cinti, S. *et al.* Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J. Lipid Res.* **46**, 2347–2355 (2005).
32. Lumeng, C. N., Bodzin, J. L. & Saltiel, A. R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J. Clin. Invest.* **117**, 175–184 (2007).
33. Weisberg, S. P. *et al.* Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* **112**, 1796–1808 (2003).
34. Gucalp, A. *et al.* Periprostatic adipose inflammation is associated with high-grade prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* **20**, 418–423 (2017).
35. Ohashi, K., Shibata, R., Murohara, T. & Ouchi, N. Role of anti-inflammatory adipokines in obesity-related diseases. *Trends Endocrinol. Metab.* **25**, 348–355 (2014).
36. Fu, Y., Luo, N., Klein, R. L. & Garvey, W. T. Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. *J. Lipid Res.* **46**, 1369–1379 (2005).
37. Mariman, E. C. M. & Wang, P. Adipocyte extracellular matrix composition, dynamics and role in obesity. *Cell. Mol. Life Sci.* **67**, 1277–1292 (2010).
38. Khan, T. *et al.* Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis: role of collagen VI. *Mol. Cell. Biol.* **29**, 1575–1591 (2009).
39. Mori, S., Kiuchi, S., Ouchi, A., Hase, T. & Murase, T. Characteristic expression of extracellular matrix in subcutaneous adipose tissue development and adipogenesis; comparison with visceral adipose tissue. *Int. J. Biol. Sci.* **10**, 825–833 (2014).
40. Sun, K. *et al.* Endotrophin triggers adipose tissue fibrosis and metabolic dysfunction. *Nat Commun* **5**, 3485 (2014).
41. Scherer, P. E., Bickel, P. E., Kotler, M. & Lodish, H. F. Cloning of cell-specific secreted and surface proteins by subtractive antibody screening. *Nat. Biotechnol.* **16**, 581–586 (1998).
42. Sun, K., Tordjman, J., Clément, K. & Scherer, P. E. Fibrosis and adipose tissue dysfunction. *Cell Metab.* **18**, 470–477 (2013).
43. Pasarica, M. *et al.* Adipose tissue collagen VI in obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **94**, 5155–5162 (2009).
44. Junqueira, L. C., Bignolas, G. & Brentani, R. R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem. J.* **11**, 447–455 (1979).
45. Kai, F., Laklai, H. & Weaver, V. M. Force Matters: Biomechanical Regulation of Cell Invasion and Migration in Disease. *Trends Cell Biol.* **26**, 486–497 (2016).
46. Ricard-Blum, S. & Vallet, S. D. Fragments generated upon extracellular matrix remodeling: Biological regulators and potential drugs. *Matrix Biol.* (2017). doi:10.1016/j.matbio.2017.11.005
47. Park, J. & Scherer, P. E. Adipocyte-derived endotrophin promotes malignant tumor progression. *J. Clin. Invest.* **122**, 4243–4256 (2012).
48. Aigner, T., Hambach, L., Söder, S., Schlötzer-Schrehardt, U. & Pöschl, E. The C5 domain of Col6A3 is cleaved off from the Col6 fibrils immediately after secretion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **290**, 743–748 (2002).
49. Lamandé, S. R., Mörgelin, M., Adams, N. E., Selan, C. & Allen, J. M. The C5 domain of the collagen VI alpha3(VI) chain is critical for extracellular microfibril formation and is present in the extracellular matrix of cultured cells. *J. Biol. Chem.* **281**, 16607–16614 (2006).
50. Iyengar, P. *et al.* Adipocyte-derived collagen VI affects early mammary tumor progression in vivo, demonstrating a critical interaction in the tumor/stroma microenvironment. *J. Clin. Invest.* **115**, 1163–1176 (2005).
51. Duong, M. N. *et al.* The fat and the bad: Mature adipocytes, key actors in tumor progression and resistance. *Oncotarget* **8**, 57622–57641 (2017).

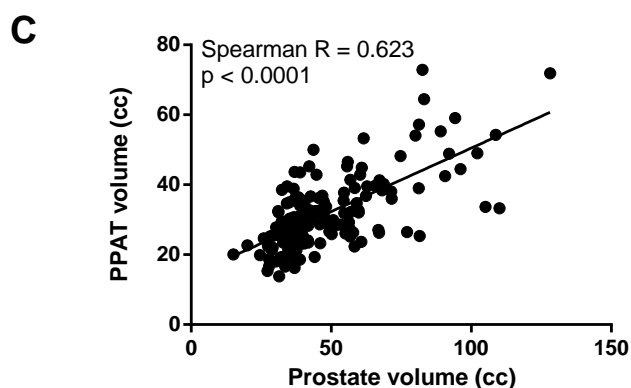
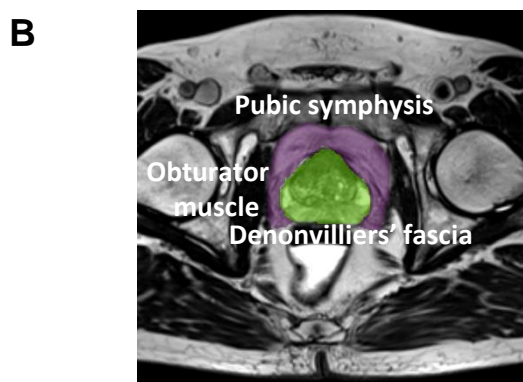
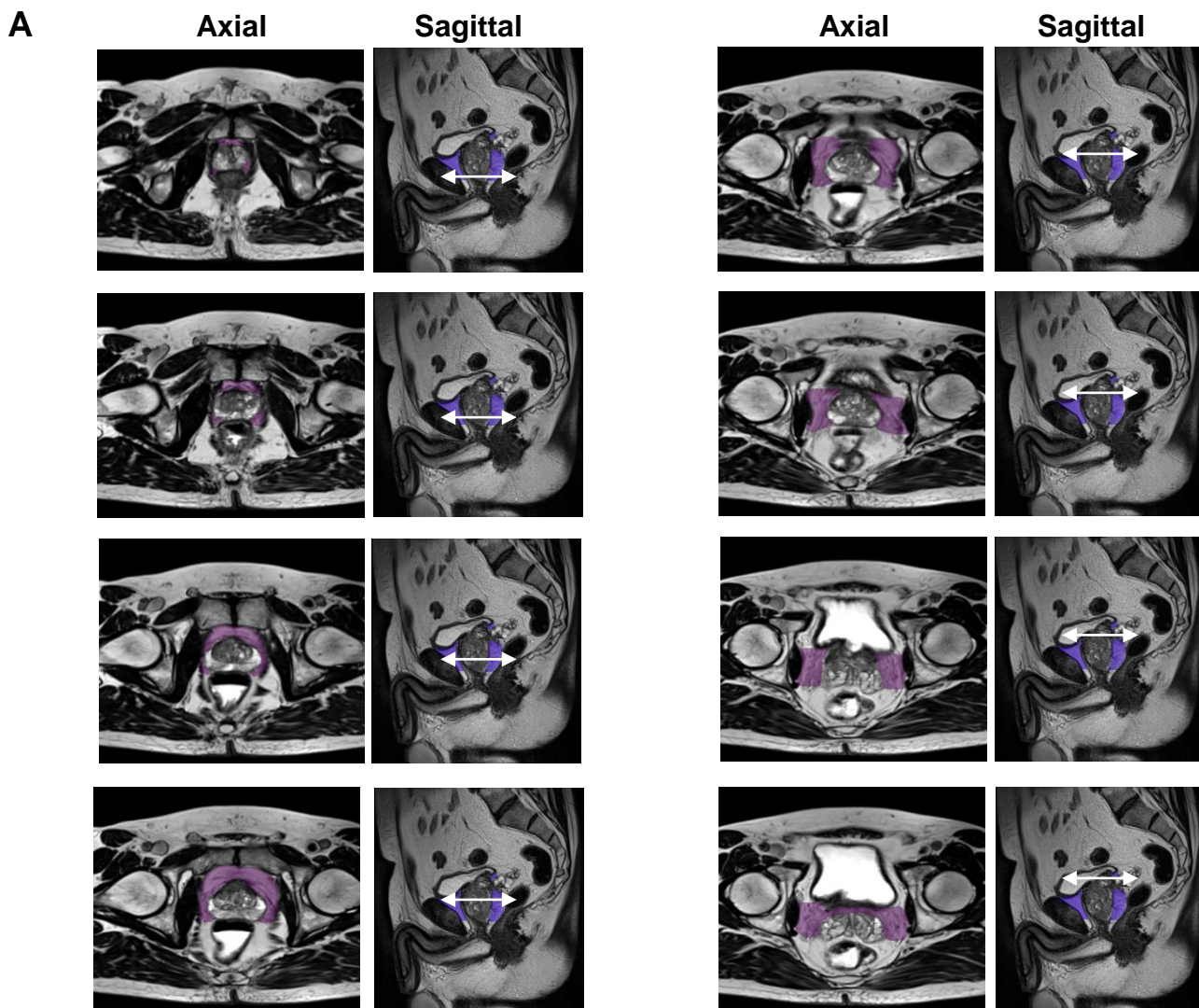


Figure 1. Method used for the measurement of PPAT volume and correlation with prostate volume. (A) Right side, sagittal slices illustrating the position of the corresponding axial slice (by an arrow) and the PPAT volume (in purple). Left side, axial slices used for PPAT area measurement (in purple) on sequential slices of axial T2-weighted MRI from the apex to the base of the prostate. A mean of 14 slices was used for each patient of our cohort to obtain the PPAT volume. **(B)** Anatomical boundaries of PPAT defined on a slice of axial T2-weighted MRI. The PPAT is in purple and the prostate in green. **(C)** Correlation between the prostate volume measured on MRI and the PPAT volume.

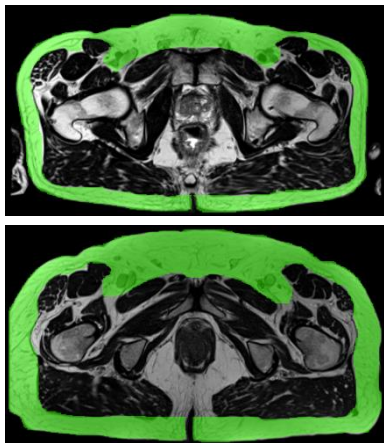
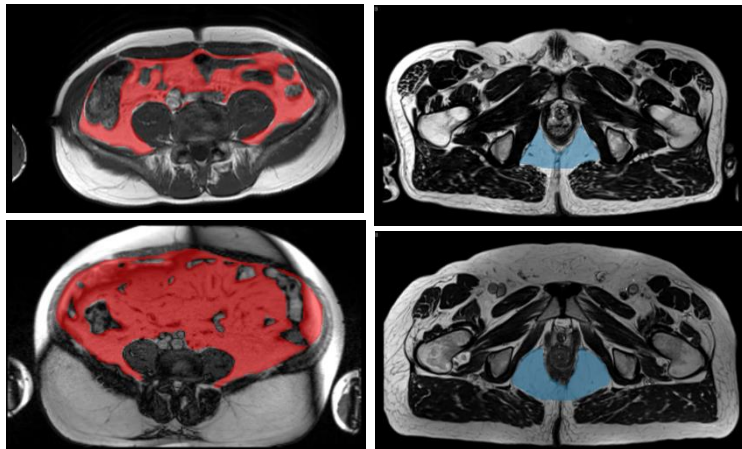
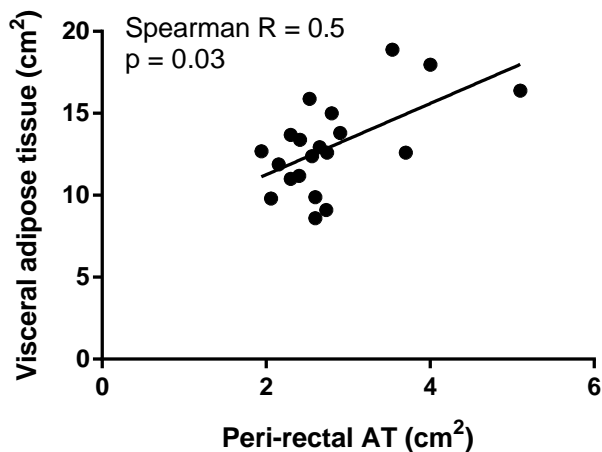
A**B****C**

Figure 2. Methods used to measure SAT and VAT accumulation. For each measure, two extreme examples are represented to illustrate the interindividual variability. **(A)** SAT area was measured at the pelvic level where it was maximum. **(B)** VAT area (left panel, red) was measured at the umbilical level when it was available and peri-rectal adipose tissue area (right panel, blue) was measured at the level of the prostate apex. **(C)** Correlation between visceral and peri-rectal adipose tissues measurement is shown in 20 patients.

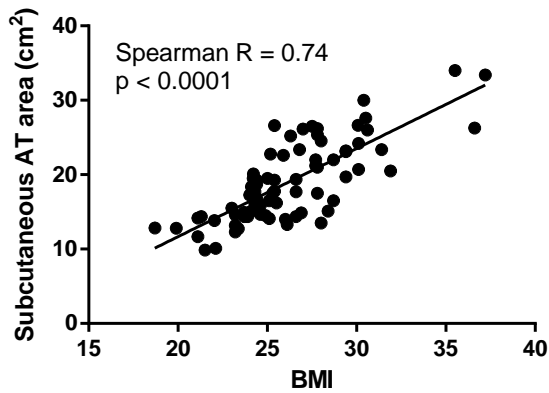
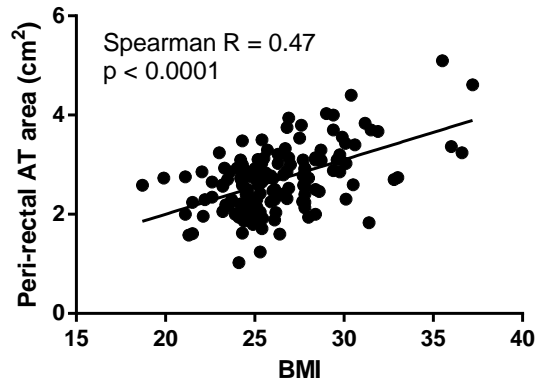
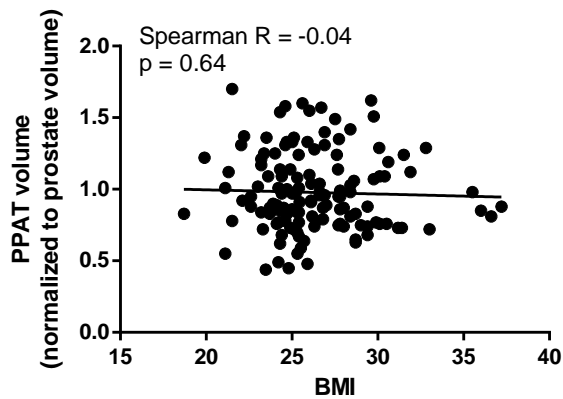
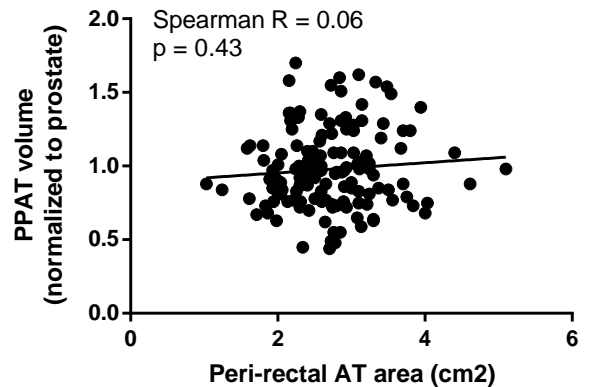
A**B****C****D**

Figure 3. PPAT accumulates independently from BMI. In a cohort of 147 patients with prostate cancer, correlation between BMI and SAT area (**A**) and between BMI and peri-rectal AT area (**B**). No correlation between PPAT volume (normalized to prostate volume) and BMI (**C**) or PPAT volume and peri-rectal AT area (**D**).

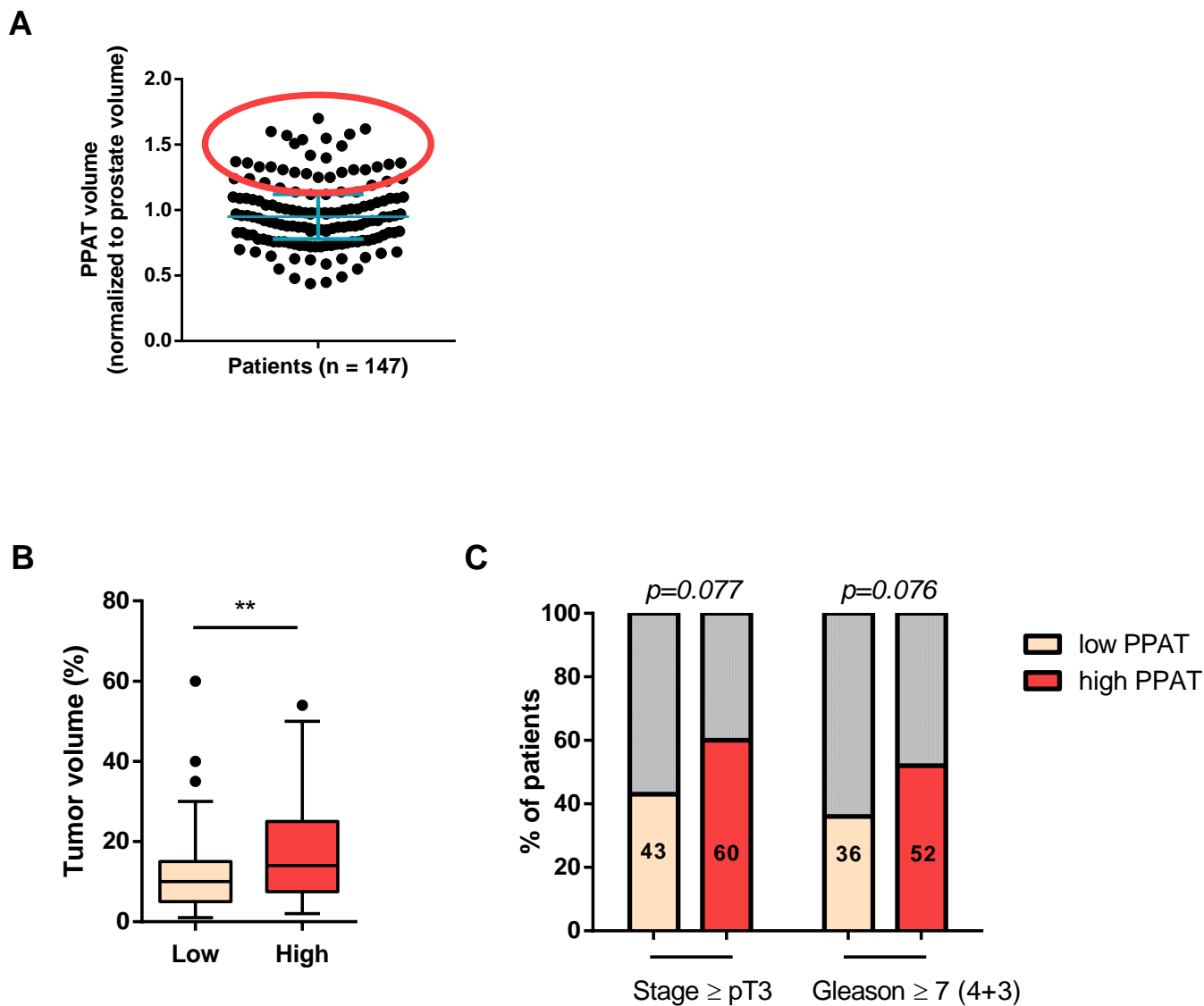


Figure 4. PPAT abundance is correlated with prostate cancer aggressiveness. (A) Definition of high (or abundant) PPAT as the samples exhibiting a normalized PPAT volume in the upper quartile of the distribution (threshold = 1.12). Data are shown as median \pm interquartile range. **(B)** Tumor volume (expressed in percentage of the prostate volume) in patients with low (n = 110) versus high (n = 37) PPAT. Data are shown as Tukey box-and-whiskers plots. Statistical analysis: statistically significant by Mann-Whitney's U test, ** $p < 0.01$. **(C)** Proportion of patients with pT3 and Gleason \geq 7 (4+3) tumors in low versus high PPAT group. The statistical test used was Chi-square test.

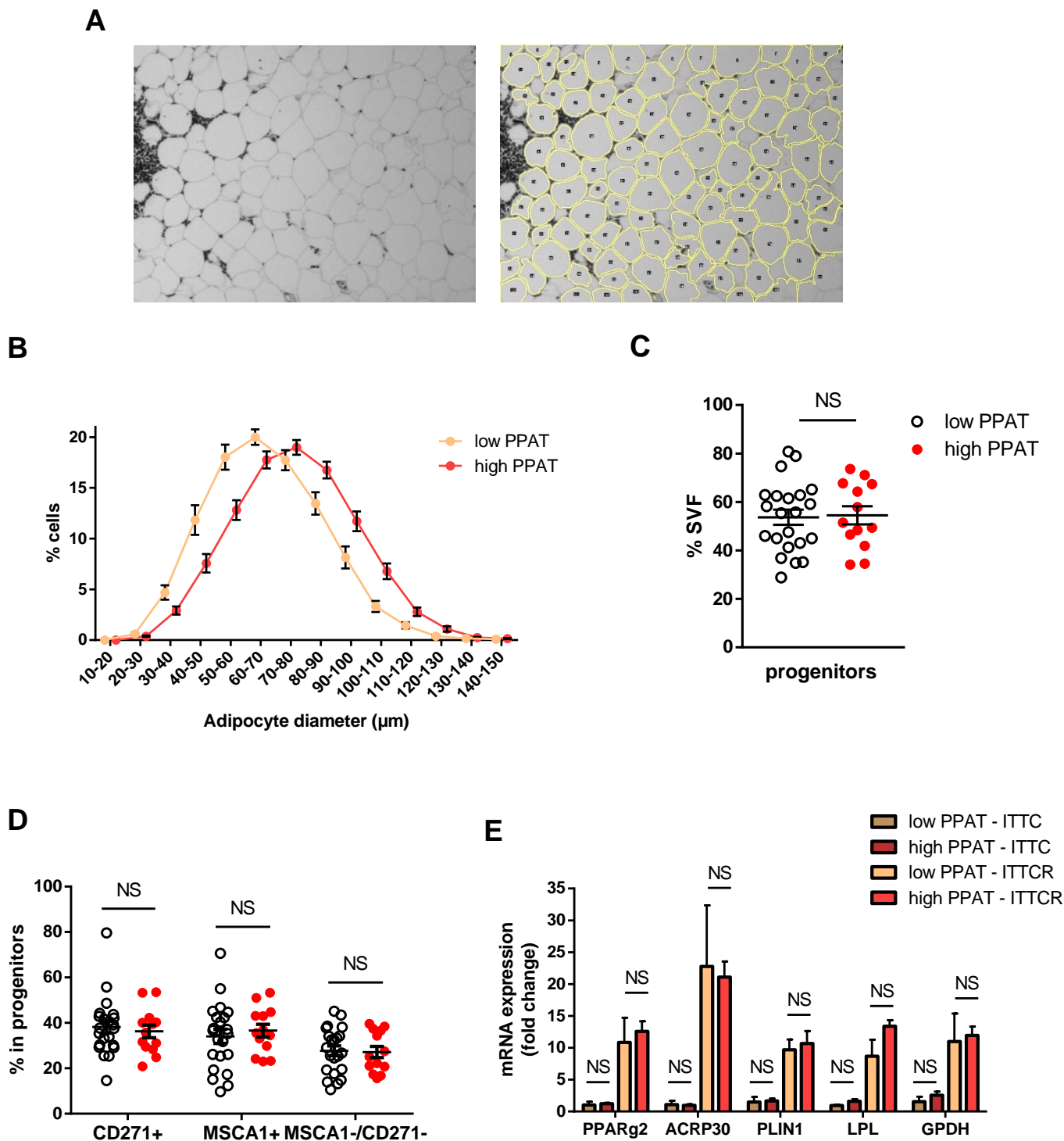


Figure 5. High PPAT exhibit hypertrophic adipocytes without associated hyperplasia. (A) PPAT slice colored with hematoxylin/eosin, transformed in black & white, before (left) and after (right) the automatic analysis by Adiposoft software (X200 magnitude). **(B)** Distribution of adipocyte diameter in low ($n = 31$) vs high ($n = 20$) PPAT. **(C)** Percentage of adipocyte progenitors in the SVF of low ($n = 22$) vs high ($n = 13$) PPAT, determined by FACS analysis. The progenitors are defined as CD45-/CD34+/CD31- cells in SVF. **(D)** Subpopulations of progenitor cells in low ($n = 22$) vs high ($n = 13$) PPAT, quantified by FACS. **(E)** Relative expression of indicated classical adipogenic-related genes at day 10 in the indicated adipogenic conditions (ITTC or ITTCR) in low (yellow, $n = 4$) vs high (red, $n = 4$) PPAT. All data are shown as mean \pm SEM. Statistical analysis: NS = Not Significant by Mann-Whitney's U test.

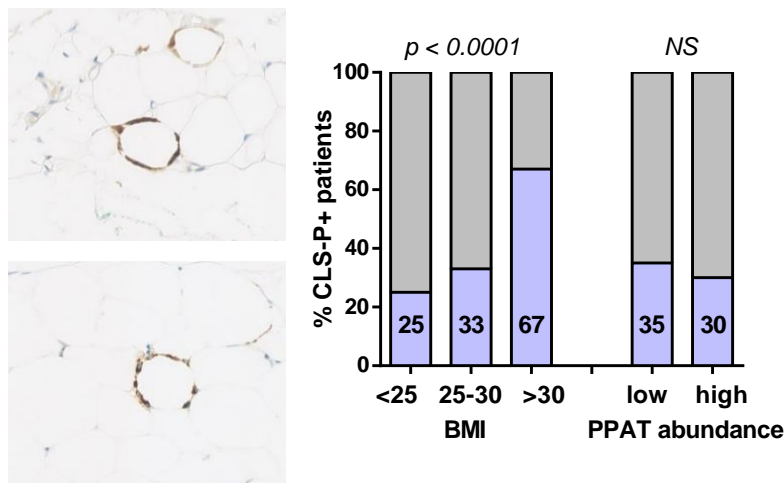
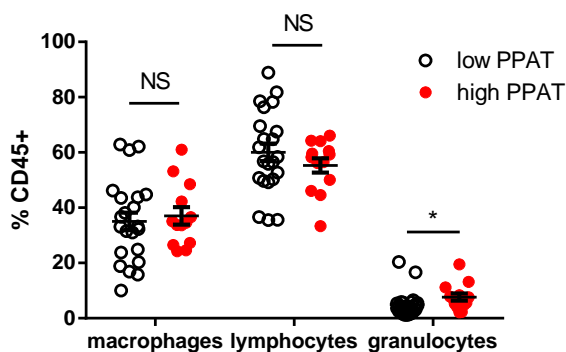
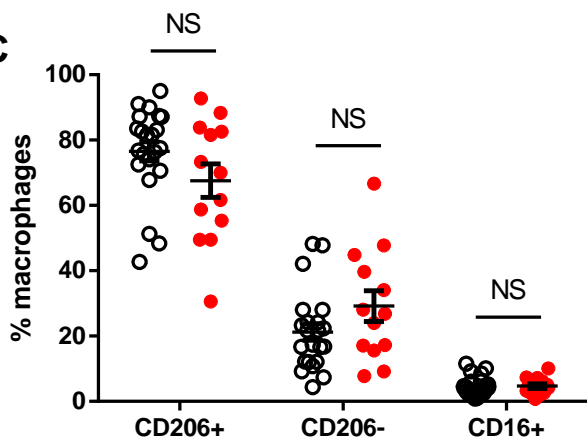
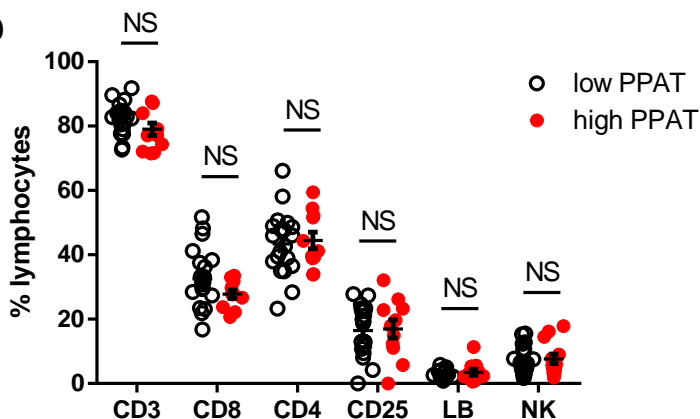
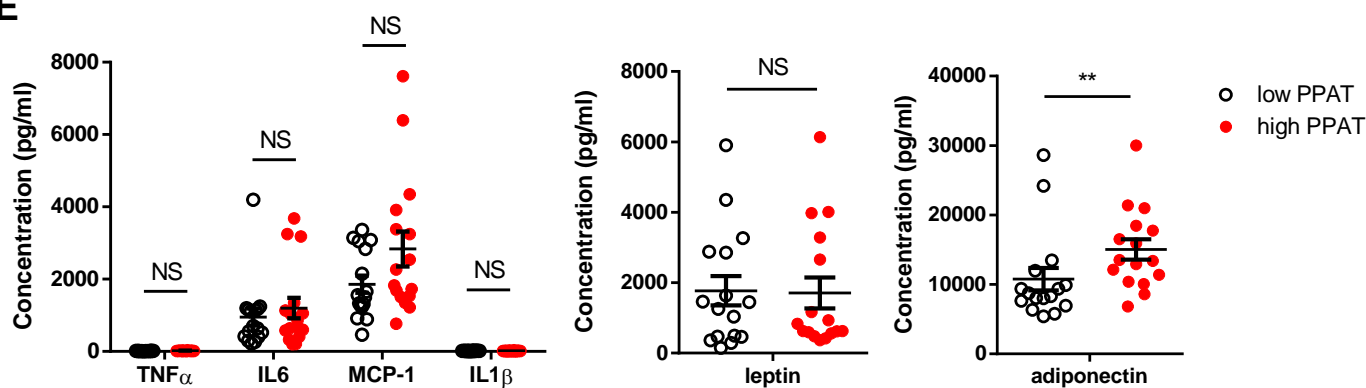
A**B****C****D****E**

Figure 6. Abundant PPAT are not associated with increased inflammation. (A) Left panel, photomicrographs of CD68-stained PPAT slides showing the characteristic structures of CLS (macrophages in isolated ring-like formations surrounding dying or dead adipocytes), X200 magnitude. Right panel, proportion of patients with at least one CLS according to their BMI (< 25, n = 24; 25 - 30, n = 18; > 30, n = 6) or in low (n = 29) vs high (n = 20) PPAT. The statistical test used was Chi-square test. (B-D) Quantification by FACS of the different subpopulations of immune cells (CD45 positive cells) (B), macrophages characterized as CD45+/CD14+ cells (C) and lymphocytes characterized as CD45+/CD3+ cells (D) in the SVF of low (n = 22) vs high (n = 13) PPAT. (E) ELISA quantification of the main adipokines implicated in obesity in low (n = 16) vs high (n = 16) PPAT-conditioned medium. All data are shown as mean \pm SEM. Statistical analysis: statistically significant by Mann-Whitney's U test ** p < 0.01, * p < 0.05, NS = Not Significant.

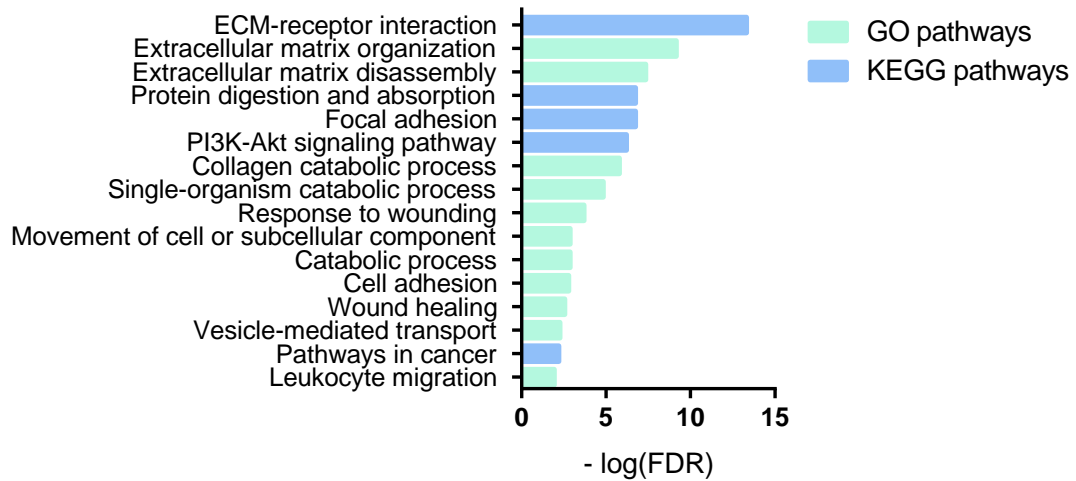
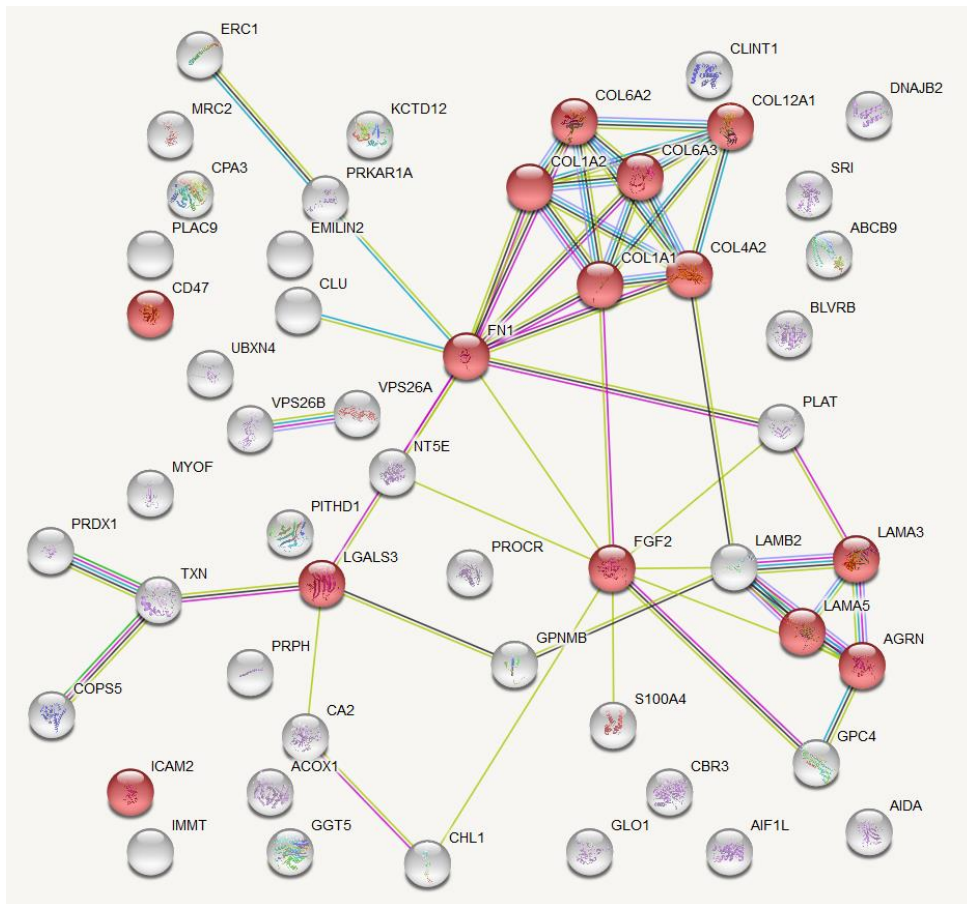
A**B**

Figure 7. Abundant PPAT exhibit extensive ECM remodeling. (A) Classification of the 54 proteins underexpressed in high PPAT in KEGG or GO pathways (each pathway is represented by $-\log(\text{FDR} = \text{False Discovery Rate})$). **(B)** Interactions between the different proteins underexpressed in high PPAT (the proteins belonging to the ECM-receptor interaction pathway are highlighted in red).

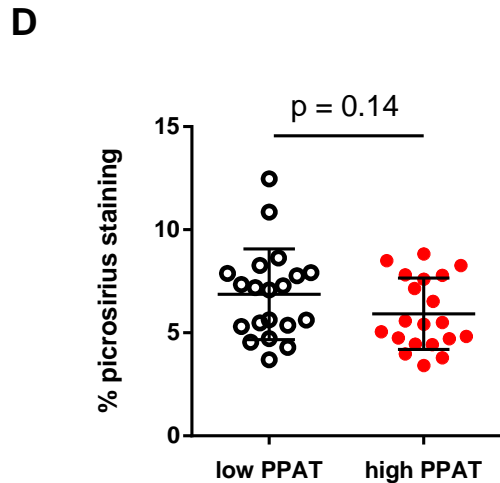
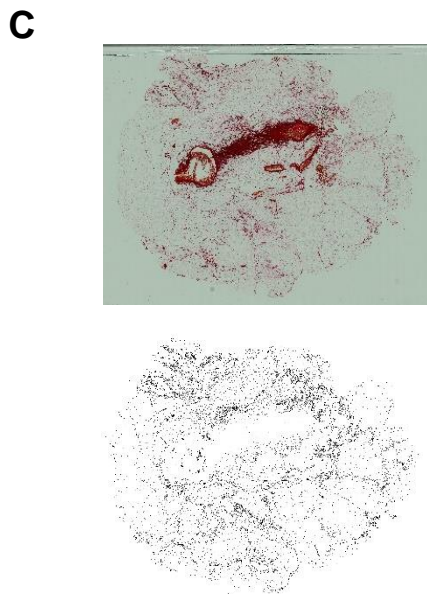
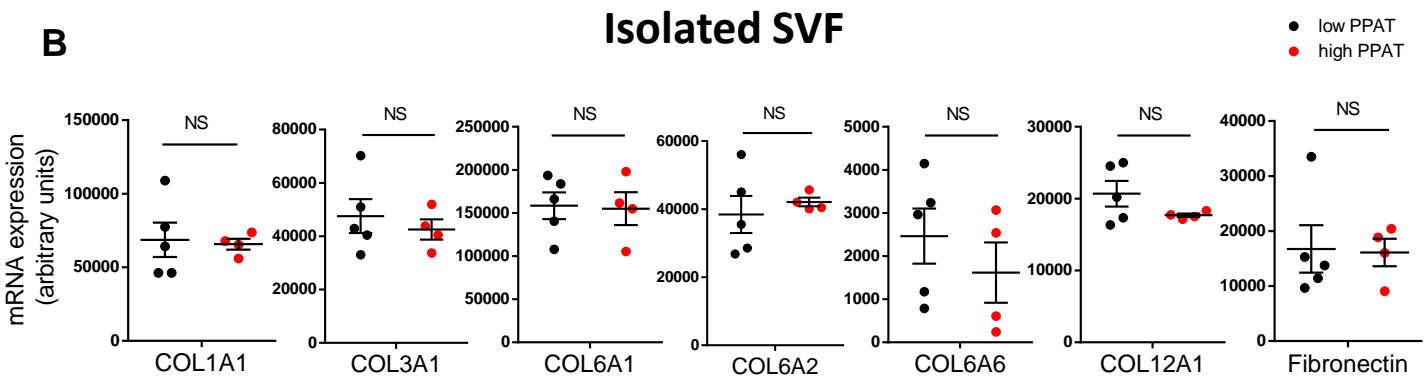
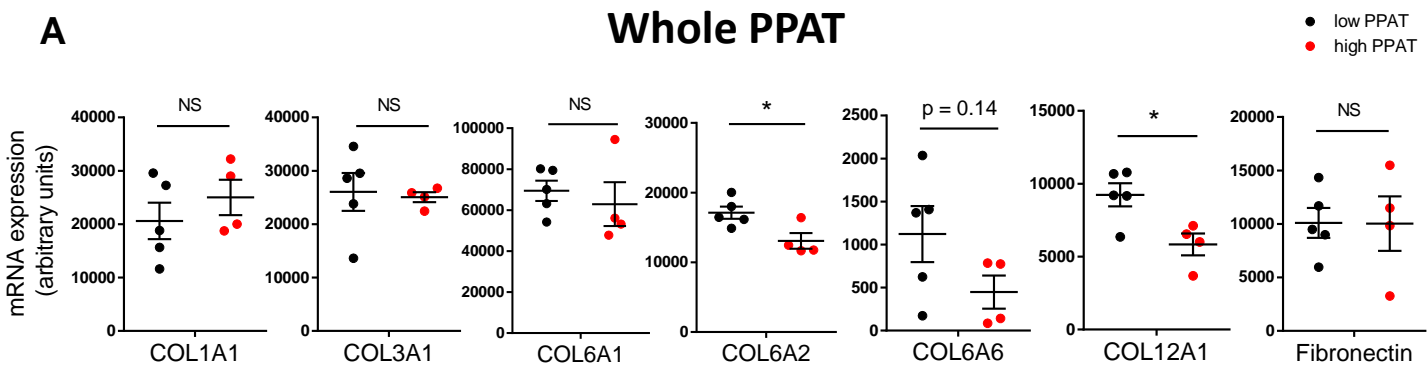


Figure 8. High PPAT ECM is characterized by a specific remodeling involving a decrease in collagens VI and XII mRNA expression. (A-B) Relative expression of indicated ECM components mRNA in low (n = 5) vs high (n = 4) whole PPAT **(A)** or in isolated SVF from the same samples **(B)**. **(C)** Representative image of a PPAT slice stained with picosirius red (top) and quantified by in-house macro using ImageJ software that excluded positive vessels (bottom). **(D)** Quantification of picosirius staining based on the mask (n = 20 low and 20 high PPAT). All data are shown as mean \pm SEM. Statistical analysis: statistically significant by Mann-Whitney's U test * p < 0.05, NS = Not Significant.

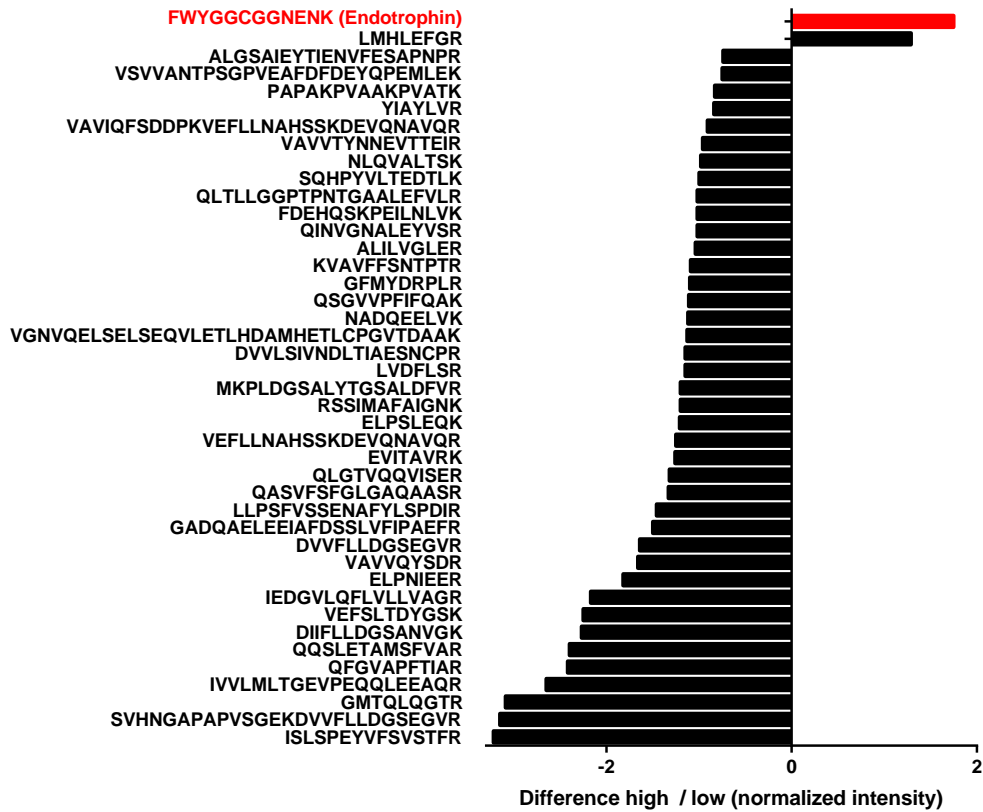


Figure 9. Abundant PPAT exhibit increased secretion of endotrophin. Difference in the relative abundance of each peptide from COL6A3 in the secretome of high (n = 5) vs low (n = 5) PPAT.

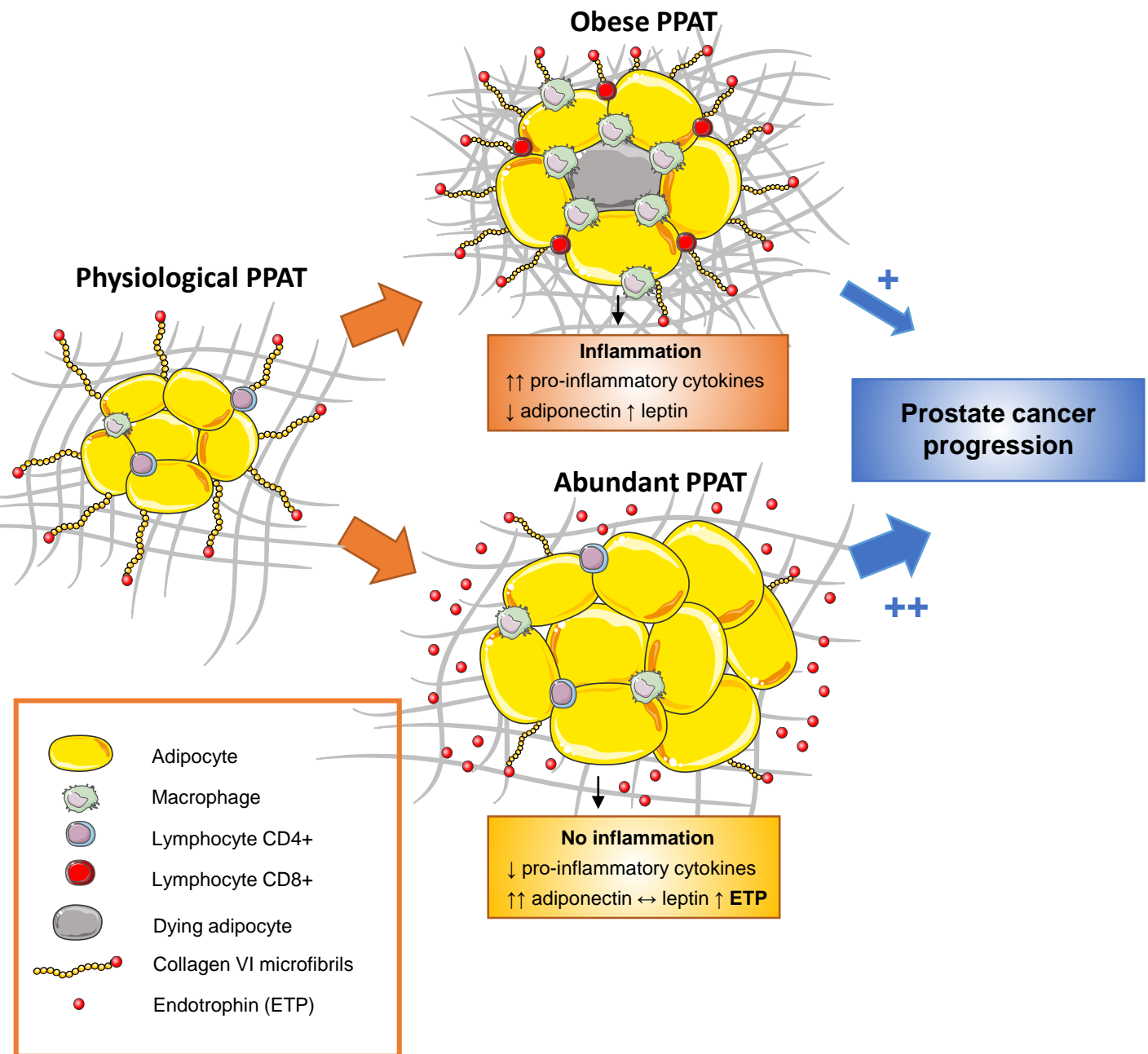


Figure 10. Proposed model to explain the paracrine role of PPAT in obesity or during abnormal accumulation independently of BMI. In obese patients, the PPAT exhibit “dysfunctional” hypertrophic adipocytes and infiltration by immune cells leading to a modification of adipokine secretion (such as high leptin / low adiponectin ratio) and a subinflammatory state, modifications that promote tumor progression. It is possible, although not demonstrated, that during PPAT expansion in obesity, AT fibrosis occurs rapidly limiting the increased in size of this specific depot. In abundant PPAT, there is a “healthy” and unlimited expansion of PPAT that exhibit hypertrophic adipocytes without the occurrence of a subinflammatory state. The observed decreased expression of collagens would contribute to a loose ECM that could allow a healthy expansion of adipocytes without mechanical constraints. Conversely, an increase of collagen VI α 3 cleavage, leading to high ETP expression in abundant PPAT, would promote within the tumors several events such as fibrosis, angiogenesis, and inflammation, resulting in aggressive tumor growth.

		Variables	Percentage among the cohort
Size of the cohort		147	100
Age at surgery (years) , median (extent)		64.5 (39 - 76)	
Body Mass Index (BMI)(kg/m²) , median (extent)		25.7 (19 - 37)	
PSA before surgery (ng/ml) , median (extent)		7 (1 - 44)	
Gleason score , number of patients	< 7	31	21.09
	7 (3+4)	69	46.94
	7 (4+3)	33	22.45
	> 7	14	9.52
Percentage of low differentiated contingent (grade 4 and 5) , median (extent)		35 (0 - 100)	
D'Amico risk classification , number of patients	Low	25	17.01
	Intermediate	98	66.67
	High	24	16.33
pT stage , number of patients	pT2	78	53.06
	pT3	69	46.94
Lymph node invasion , number of patients	Nx (no node dissection performed)	31	21.09
	N0	102	69.39
	N1	14	9.52
Tumor size (% of the prostate gland) , median (extent)		10 (1 - 60)	

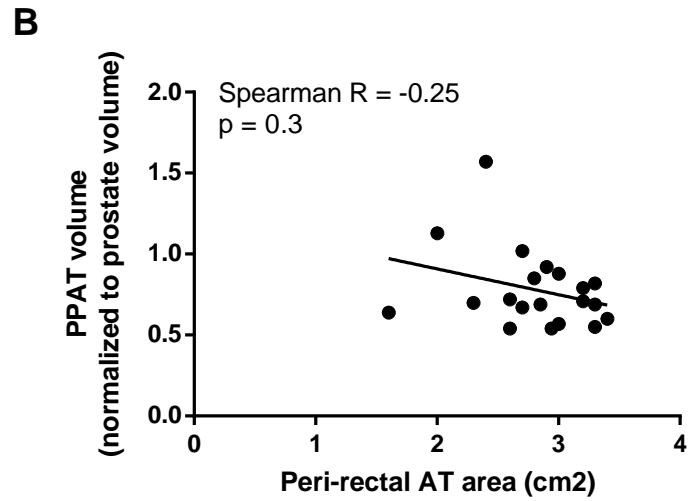
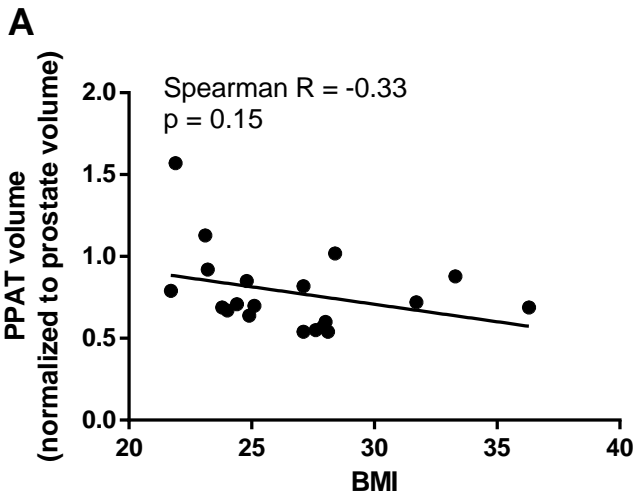
Table 1. Clinical and histological characteristics of the cohort. Abbreviations used: PSA = Prostate Specific Antigen; pT = pathological tumor stage.

	Variables	Number of patients
Size of the cohort		147
Prostate volume (cm³) , median (extent)	42.1 (15 - 128)	147
Periprostatic adipose tissue (PPAT) volume (cm³) , median (extent)	42.9 (21 - 122)	147
Normalized PPAT volume , median (extent)	0.9 (0 - 2)	147
PPAT area (cm²) , median (extent)	1.2 (0 - 4)	147
Subcutaneous AT area (cm²) , median (extent)	17.8 (10 - 34)	81
Subcutaneous AT thickness (mm) , median (extent)	35.1 (12 - 74)	123
Peri-rectal AT area (cm²) , median (extent)	2.7 (1 - 5)	147

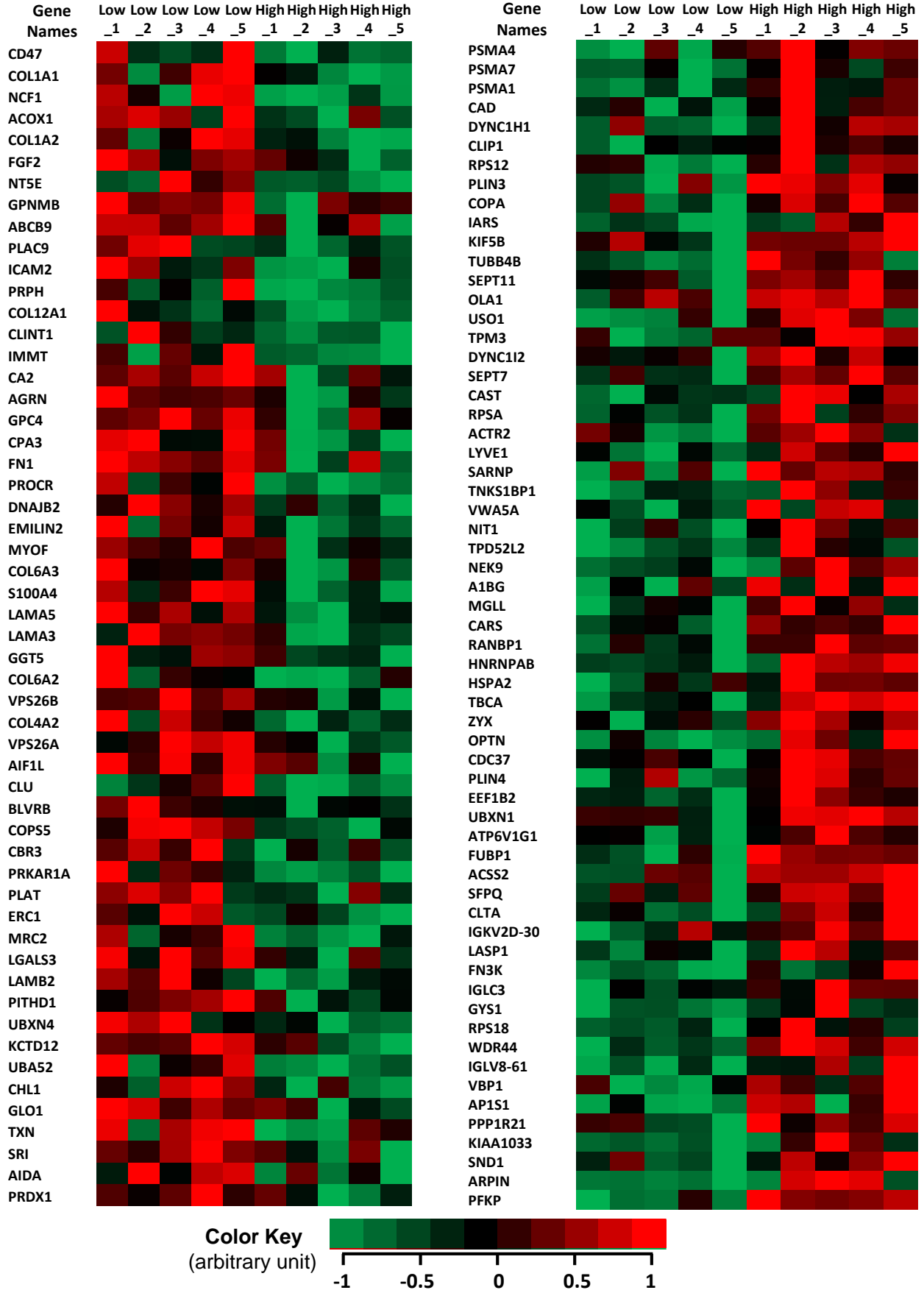
Table 2. Radiological characteristics of the cohort.

		Low PPAT (n = 110)	High PPAT (n = 37)	p-value
Age at surgery (years), median (extent)		64.0 (39 - 75)	63.0 (42 - 73)	0.75
Body Mass Index (BMI)(kg/m²), median (extent)		25.9 (18.6 - 37.2)	25.4 (19.9 - 32.8)	0.27
PSA before surgery (ng/ml), median (extent)		7.0 (2 - 44)	7.4 (1 - 29)	0.66
Gleason score, number of patients	< 7	6 (5.5%)	1 (2.7%)	0.075
	7 (3+4)	64 (58.2%)	17 (45.9%)	
	7 (4+3)	29 (26.4%)	18 (48.6%)	
	> 7	11 (10%)	1 (2.7%)	
Percentage of low differentiated contingent (grade 4 and 5), median (extent)		32.5 (0 - 100)	40 (0 - 100)	0.65
D'Amico risk classification, number of patients (% of patients)	Low	20 (18.2%)	5 (13.5%)	0.29
	Intermediate	75 (68.2%)	23 (62.2%)	
	High	15 (13.6%)	9 (24.3%)	
pT stage, number of patients	< pT3	63 (57.3%)	15 (40.5%)	0.077
	≥ pT3	47 (42.7%)	22 (59.5%)	
Tumor size (% of the prostate gland), median (extent)		10 (1 - 60)	14 (2 - 54)	0.0068
Lymph node invasion, number of patients (% of patients)	Nx (no node dissection performed)	23 (20.9%)	8 (21.6%)	0.25
	N0	79 (71.8%)	23 (62.2%)	
	N1	8 (7.3%)	6 (16.2%)	
Tumor localization, number of patients (% of patients)	Peripheral zone	102 (93.6%)	33 (89.2%)	0.47
	Mixed	7 (6.4%)	4 (10.8%)	
Lymphatic emboli, number of patients (% of patients)	No	93 (94.9%)	28 (84.8%)	0.12
	Yes	5 (5.1%)	5 (15.2%)	
Positive surgical margins, number of patients (% of patients)	No	90 (81.8%)	31 (86.1%)	0.55
	Yes	20 (18.2%)	5 (13.9%)	

Table 3. Clinical and histological characteristics of patient with low (n = 110) vs high (n = 37) PPAT. The statistical significance of differences between means was evaluated with unpaired Mann Whitney's U tests for continuous variables (age, BMI, PSA before surgery, percentage of low differentiated contingent and tumor size). For the categorical variables, we used Chi-square distribution comparison when possible (pT stage, D'Amico risk classification, positive surgical margins) or Fisher's exact test (Gleason score, lymph node invasion, tumor localization, lymphatic emboli).



Supplementary Figure 1. PPAT accumulates independently of BMI or VAT in patients without prostate cancer. In a cohort of 20 patients without prostate cancer, no correlation between PPAT volume (normalized to prostate volume) and BMI (**A**) or peri-rectal adipose tissue area (**B**) is observed.



Supplementary Figure 2. Differences in protein secretion between low and high PPAT. Heat map of the proteins differentially expressed between high (n = 5) and low (n = 5) PPAT-conditioned medium. The scale goes from green (low expression) to red (high expression). The proteins were quantified by mass spectrometry, 54 proteins are downregulated in high PPAT and 61 are upregulated (p < 0.05).

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Malgré les progrès réalisés dans le dépistage, le diagnostic et le traitement du cancer de la prostate, il reste aujourd'hui un problème de santé publique majeur²³. Le cancer de la prostate est une pathologie très hétérogène, allant de la pathologie indolente sans risque de conséquence majeure pour le patient au cancer très agressif, résistant à la castration et formant des métastases osseuses de très mauvais pronostic. Il est donc primordial d'identifier des facteurs pronostiques permettant d'anticiper l'évolution d'un cancer détecté à un stade précoce ainsi que les mécanismes moléculaires participant à la progression tumorale. L'obésité est un facteur d'agressivité décrit, associé à des cancers de la prostate plus avancés au diagnostic⁸⁸, une moins bonne réponse aux traitements^{90,91} et un plus grand risque de décès⁹⁰. Un nouveau facteur d'agressivité émergent du cancer de la prostate est celui du tissu adipeux périprostatique abondant, qui semble lié à des tumeurs de moins bon pronostic^{269,270}, plus agressives^{272,274,276} et répondant moins bien à l'hormonothérapie²⁷⁵.

Le cancer de la prostate se développe en deux phases : dans un premier temps, les cellules tumorales restent confinées à l'intérieur de la prostate et on parle alors de cancer localisé. Ensuite, les cellules tumorales franchissent la capsule prostatique et envahissent le TAPP, on parle alors de cancer localement avancé et cette transition est reconnue comme un facteur de mauvais pronostic⁴. Cette phase va conduire à l'évolution vers l'apparition de métastases²⁷⁷. Il est aujourd'hui reconnu que le microenvironnement joue un rôle majeur dans la progression tumorale^{1,2}. Dans le cancer de la prostate, nous avons montré dans des travaux précédents de l'équipe que ce microenvironnement, constitué par le TAPP, jouait un rôle aux différents stades de la maladie. Tout d'abord, nous avons montré que les adipocytes du TAPP sécrètent la chimiokine CCL7 qui, en se liant à son récepteur CCR3 à la surface des cellules tumorales prostatiques, favorise la dissémination locale du cancer de la prostate⁶. Une fois les cellules tumorales entrées en contact direct avec les adipocytes du TAPP, un dialogue bidirectionnel se met en place. Les cellules tumorales, sous l'effet des lipides libérés par les adipocytes, présentent une augmentation du stress oxydatif conduisant à une stimulation de leurs capacités invasives et donc potentiellement à une augmentation de la formation de métastases (article en révision à *Molecular Cancer Research*). Ces deux phénomènes sont amplifiés dans un contexte d'obésité.

Au cours de ma thèse, nous nous sommes intéressés au concept du TAPP abondant et avons montré que les patients présentant ce phénotype avaient des tumeurs plus agressives. Nous avons aussi pour la première fois fait une caractérisation biologique de ces TAPP abondants, montrant un phénotype très particulier d'hypertrophie adipocytaire sans inflammation et liée à des variations de composition de la matrice extracellulaire qui pourraient expliquer le lien avec des cancers de la prostate plus agressifs. L'ensemble de ces résultats suggère que le TAPP joue un rôle majeur à chaque étape de la maladie.

En dehors de l'obésité, un concept a émergé récemment dans la littérature : celui de TAPP abondant. En effet, plusieurs études se sont attachées à mesurer l'abondance du TAPP sur des IRM ou des scanners pré-opératoires de patients obèses ou non atteints de cancer de la prostate et bien que les méthodes de mesure soient très diverses, elles révèlent toutes une corrélation entre l'abondance de ce TAPP et divers facteurs d'agressivité du cancer de la prostate^{269,270,272,274-276}. Nous avons mis en place une méthode de mesure très précise du volume de TAPP sur plusieurs couches d'IRM, que nous avons ensuite normalisé par rapport au volume prostatique. Sur une cohorte de 147 patients, nous avons ainsi pu montrer que le TAPP se développe indépendamment de l'IMC et des autres dépôts adipeux « classiques » (sous-cutané et viscéral) et est corrélé à trois déterminants majeurs de l'agressivité du cancer de la prostate : des volumes tumoraux plus importants, des tumeurs plus invasives (pT3) et moins différenciées (score de Gleason ≥ 7 (4+3)).

De façon intéressante, la plupart des études sur le TAPP abondant (y compris la nôtre) montrent une absence totale de corrélation entre abondance du TAPP et IMC^{272-274,276} ou une corrélation extrêmement faible (Spearman R = 0,08)²⁷¹ alors que les autres dépôts de tissu adipeux (sous-cutané et viscéral), quand ils sont mesurés, sont toujours corrélés à l'IMC. La seule exception est la première étude du groupe de van Roermund qui trouve une association assez importante entre abondance du TAPP et IMC (Spearman R = 0,36)²⁶⁸ mais une étude suivante de cette même équipe a contredit ce résultat. Ceci suggère que le TAPP constituerait un dépôt adipeux ectopique dont la croissance serait influencée par d'autres facteurs que l'IMC, qui restent encore à identifier. Ces mêmes études n'ont pas été capables de mettre en évidence un lien entre IMC et agressivité du cancer de la prostate suggérant que c'est l'abondance du TAPP, plus que l'adiposité globale du patient, qui aurait un effet important sur la progression tumorale. Un facteur pouvant en partie expliquer cette discordance est que les études sur l'abondance du TAPP se concentrent majoritairement en Europe, où le taux d'obésité, et en particulier d'obésité morbide, est bien moindre qu'en Amérique du Nord, et notamment aux Etats-Unis. On peut donc imaginer que ce soit en fait l'obésité morbide qui ait un effet pro-tumoral sur le cancer de la prostate et que l'abondance du TAPP soit un facteur plus important pour les patients normopondéraux, en surpoids ou en situation d'obésité modérée. Pour le vérifier, il faudrait étendre l'étude clinique en incluant des patients obèses avec un IMC supérieur à 35. Cette population étant extrêmement faible en France, et en particulier dans la région toulousaine (11,6% d'obèses en 2012 en Midi-Pyrénées)²⁷⁸, cette étude n'est pas possible ici. Cependant, nous avons récemment collaboré avec une équipe de l'Université de Boston, aux Etats-Unis, où le taux d'obésité chez les adultes en 2015-2016 a atteint les 39,8%²⁷⁹. Une collaboration nous permettrait de confronter les concepts de TAPP obèse et de TAPP abondant et d'affiner notre compréhension de ces deux phénotypes ainsi que leur éventuelle synergie dans la progression tumorale.

En l'absence de lien avec l'IMC, on peut se demander quels facteurs sont à l'origine du développement d'un TAPP abondant. Nous avons montré que le volume de TAPP était très fortement corrélé au volume

prostatique ce qui nous amène à considérer l'hypothèse androgénique. En effet, les androgènes jouent un rôle majeur dans le développement de la glande prostatique, à la fois par un effet direct sur les cellules prostatiques mais aussi par des modifications du stroma²². A ce jour, une seule étude a été faite sur le lien entre androgènes et abondance du TAPP²³⁹. Cette étude s'est concentrée sur des patients ayant subi un traitement de plus de 12 mois par 5-ARI (inhibiteurs de la 5 α -réductase), qui est un traitement dont le principe est d'inhiber la formation de dihydrotestostérone, la forme active de la testostérone. Il a été montré qu'après 12 mois de traitement, ces patients présentaient un TAPP moins abondant que la population contrôle²³⁹. Bien que cette étude soit critiquable à plusieurs niveaux (il existe des différences notables entre le groupe contrôle et le groupe traité, en particulier en terme d'agressivité du cancer de la prostate et il aurait été plus pertinent de mesurer l'abondance du TAPP avant et après traitement chez les mêmes patients), elle suggère que les androgènes pourraient jouer un rôle important dans le développement des TAPP abondants. Il serait intéressant d'approfondir ces résultats en comparant les dosages sériques d'androgènes de patients avec le volume de leur TAPP, voire de doser localement, au sein du TAPP, les androgènes pour confirmer ou infirmer un lien avec l'abondance du TAPP.

A l'heure actuelle, malgré l'abondance d'études cliniques sur le sujet, il n'existe aucune caractérisation biologique de ces TAPP abondants. Nous avons montré qu'il s'agit d'un phénotype très original, caractérisé par une hypertrophie adipocytaire sans hyperplasie et que, contrairement à ce qu'on peut observer dans l'obésité, cette hypertrophie adipocytaire ne s'accompagne pas d'un état inflammatoire chronique mais d'une surexpression d'adiponectine. En accord avec ce résultat, une étude a montré que la surexpression d'adiponectine favorisait la différenciation adipocytaire ainsi que l'accumulation de lipides dans des adipocytes déjà différenciés²⁸⁰ ce qui expliquerait l'hypertrophie adipocytaire. De plus, cette adipokine étant anti-inflammatoire, elle participerait au maintien d'un microenvironnement non inflammatoire dans les TAPP abondants. D'autres arguments indiquent que le mécanisme à l'origine de l'hypertrophie est très important. En effet, cette surexpression d'adiponectine pourrait être secondaire à l'accumulation d'acides gras particuliers dans les adipocytes des TAPP abondants. Il a été montré qu'une supplémentation en acide eicosapentanoïque chez des souris ou des patients obèses conduisait à une augmentation de la sécrétion d'adiponectine²⁸¹. En dehors de l'adiponectine, une autre étude a comparé les sécrétions d'adipocytes rendus hypertrophiques par l'ajout dans le milieu de différents acides gras saturés et insaturés et étudié leur capacité à chimioattirer les macrophages²⁸². Les résultats indiquent que certains acides gras (en particulier l'acide oléique et l'acide stéarique) induisent une hypertrophie adipocytaire qui ne s'accompagne pas d'une augmentation des sécrétions de MCP-1 et de SAA3, deux facteurs très importants dans le recrutement des macrophages²⁸². Une dernière étude a montré *in vivo* que des souris obèses avec un régime enrichi en huile de poisson devenaient obèses avec des adipocytes hypertrophiques mais sans accumulation de macrophages ni apparition d'une insulino-résistance²⁸³. Il semble donc que le mécanisme à l'origine de l'hypertrophie adipocytaire soit plus important que l'hypertrophie en elle-même dans l'apparition d'une inflammation locale. Pour l'instant,

les mécanismes à l'origine de l'hypertrophie des adipocytes des TAPP abondants ne sont pas élucidés mais une assimilation de lipides particuliers pourrait en être l'explication. La caractérisation protéomique et lipidomique des adipocytes issus de ces TAPP abondants nous permettra de répondre à cette question importante.

Il est communément admis que l'hypertrophie adipocytaire s'accompagne de divers dysfonctionnements du tissu adipeux incluant une augmentation de la nécrose adipocytaire, un phénomène d'hypoxie locale, le recrutement de nombreuses cellules immunitaires dont des macrophages pro-inflammatoires qui forment des CLS ainsi qu'une fibrose locale^{170,184,227}. Tout ceci conduisant à un dysfonctionnement du tissu adipeux et à des complications métaboliques²²⁷. Nos résultats montrent qu'à l'inverse, les TAPP abondants se caractérisent par des remaniements importants de la matrice extracellulaire, avec une diminution de plusieurs collagènes (collagènes I, IV, VI et XII). Plusieurs cas d'expansion hypertrophique « saine » du TA ont été décrits. En effet, l'inhibition du collagène VI chez des souris obèses conduit à une expansion non limitée des adipocytes et à une amélioration du métabolisme malgré une hypertrophie encore plus importante que chez les individus obèses *wild type*¹¹⁵. Il a été montré que cette inhibition du collagène VI s'accompagnait d'une diminution de l'élastine et d'une altération des MMP suggérant une matrice extracellulaire plus lâche qui pourrait permettre une expansion des adipocytes non limitée par des contraintes mécaniques¹¹⁵. Tout ceci résulte en une diminution de l'inflammation locale et de l'infiltration par des macrophages. De même, un KO de la protéine SPARC chez des souris non obèses résulte en une expansion des différents dépôts adipeux par hypertrophie adipocytaire, avec une diminution du collagène I suggérant une matrice extracellulaire plus lâche et permissive à l'expansion adipocytaire¹²³. De façon intéressante, il a été montré que des souris génétiquement modifiées pour que leurs adipocytes surexpriment l'adiponectine présentaient une diminution des collagènes dans leurs TA¹¹⁵. Tout ceci est concordant avec le phénotype que l'on observe dans les TAPP abondants.

Le collagène VI est un collagène non fibrillaire qui se situe à l'interface de la membrane basale et des collagènes fibrillaires et qui joue donc un rôle central dans l'interaction des cellules avec la matrice extracellulaire mais également des fibres de collagènes entre elles, régissant ainsi la structure tridimensionnelle du tissu adipeux¹²⁵. On suppose ainsi qu'une expression diminuée de collagène VI pourrait se traduire par une matrice extracellulaire plus lâche mais surtout ayant une architecture différente dans les TAPP abondants. Pour confirmer ou infirmer les résultats issus de la protéomique, nous étudierons quantitativement et qualitativement la MEC des TAPP par des approches de microscopie en 3D. Nous utiliserons des anticorps spécifiques dirigés contre les collagènes I et VI ainsi que ses sous-unités. De plus, les marquages déjà réalisés avec le rouge picosirius (fibres de collagène) seront analysés à l'aide d'un logiciel de traitement d'image, Imaris, qui permettra d'étudier plus finement le contenu en collagène des TAPP et en particulier l'architecture des fibres. Parallèlement des coupes histologiques seront utilisées pour étudier le renouvellement des collagènes par microscopie en

lumière polarisée. Enfin, par des approches de microscopie à force atomique nous étudierons les forces mécaniques dans les TAPP afin de comprendre comment les modifications morphologiques et/ou quantitatives de la MEC observées impactent la plasticité des TAPP abondants. Nous utiliserons également la spectroscopie Raman, une technologie qui consiste à envoyer une lumière monochromatique sur un échantillon et à analyser le spectre de la lumière diffusée. Ce spectre va refléter la composition et la conformation moléculaire de l'échantillon étudié. Cette technique est particulièrement adaptée à l'étude des molécules symétriques ou possédant de nombreux motifs moléculaires répétés comme les collagènes. Cela nous donnera de nombreuses informations sur l'organisation de la matrice extracellulaire des TAPP abondants. Par exemple, le ratio proline / hydroxyproline permet d'évaluer la stabilité du réseau formé par les fibres de collagène tandis que le ratio amide III / amide I donne des informations sur l'orientation des fibres²⁸⁴. Ce type d'informations nous permettra de mieux caractériser l'organisation de la matrice extracellulaire des TAPP abondants.

Des résultats préliminaires suggèrent que l'expression d'un fragment de clivage particulier du collagène VI, l'endotrophine, serait augmentée dans les TAPP abondants. L'identification de ce peptide en particulier est intéressante car il a été montré que, comme dans le cas du TAPP abondant, dans le microenvironnement des tumeurs mammaires, le ratio endotrophine / collagène VI est augmenté²⁸⁵. Cette discordance entre quantité de collagène VI total et quantité d'endotrophine est difficile à expliquer car aujourd'hui, on a très peu de données sur la physiologie de l'endotrophine. En effet, on ne connaît ni la protéase à l'origine de ce clivage, ni le ou les récepteurs de l'endotrophine ni même son rôle physiologique. Une étude suggère que le clivage de l'endotrophine serait une étape obligatoire de la formation des microfibrilles de collagène VI²⁸⁶ tandis qu'une autre montre la présence d'endotrophine au sein de microfibrilles de collagène VI, suggérant que ce clivage n'est en fait pas systématique²⁸⁷. Dans un contexte d'obésité, la surexpression d'endotrophine amplifie les phénomènes de fibrose, d'angiogenèse et d'inflammation à travers le recrutement de macrophages et de cellules endothéliales dans le TA¹¹⁷. Cependant, chez des animaux normopondéraux, la surexpression d'endotrophine dans le TA entraîne une hypertrophie adipocytaire sans fibrose associée, phénotype proche de celui des TAPP abondants¹³⁹.

Le rôle de l'endotrophine a été beaucoup étudié dans le cadre du cancer du sein et cette surexpression pourrait expliquer le lien entre abondance du TAPP et agressivité du cancer de la prostate. En effet, il a été montré que la surexpression d'endotrophine dans le microenvironnement de tumeurs mammaires entraîne une augmentation de la fibrose, de l'angiogenèse, de l'inflammation et de l'EMT dans les cellules tumorales, majorant la croissance tumorale et la formation de métastases¹³⁹. L'endotrophine joue également un rôle dans la résistance tumorale au traitement par cisplatine, principalement par augmentation du phénomène d'EMT¹⁴⁰. Ces résultats concordent avec les résultats de notre étude clinique qui montrent un lien entre abondance du TAPP et tumeurs indifférenciées (scores de Gleason plus élevés). Pour confirmer ce résultat, nous allons collaborer avec le service d'anatomo-pathologie

pour obtenir des échantillons de tumeurs prostatiques issus de patients avec un TAPP abondant ou non et caractériser ces tumeurs par des approches d'immunohistochimie : expression locale d'endotrophine grâce à un anticorps spécifique, analyse de la fibrose à l'aide du rouge picosirius, expression des marqueurs de l'EMT.

En dehors de l'endotrophine, d'autres mécanismes pourraient expliquer qu'une matrice extracellulaire plus lâche soit favorable à la progression tumorale du cancer de la prostate comme des contraintes physiques et mécaniques moindres ou encore le relargage de facteurs de croissance séquestrés dans la MEC¹¹⁹. Cependant, pour confirmer ou infirmer cette hypothèse, nous devons développer de nouveaux modèles d'étude. En effet, jusqu'ici nous avons testé l'effet des sécrétions de TAPP (milieu conditionné) sur les cellules tumorales et n'avons pas pu mettre en évidence d'effet pro-prolifératif ou chimioattractant plus important des sécrétions de TAPP abondants (résultats non montrés). L'effet sur la prolifération a été testé grâce à l'analyse de la viabilité cellulaire par test MTT, sur trois lignées cellulaires différentes, les PC-3, les DU145 et les LNCaP. La chimioattraction a été testée par des méthodes d'invasion en chambre de Boyden à travers une matrice de collagène fibrillaire. Ces deux méthodes *in vitro* ne tenant pas compte de l'influence de la matrice, nous développons des approches de culture cellulaire organotypique qui nous permettront de mesurer, par des approches de vidéomicroscopie si les capacités d'invasion des TAPP par des lignées cellulaires cancéreuses sont facilitées dans les TAPP abondants. Nous sommes également en train de développer un modèle *in vivo* de souris *nude* humanisée. En effet, contrairement à l'homme, la souris ne présente pas de dépôt de TAPP. Avec l'aide des chirurgiens de l'équipe, nous développons donc la greffe de TAPP humain autour de la prostate de souris *nude* combinée à l'injection de cellules tumorales en intraprostatique pour recréer le microenvironnement tumoral qui existe chez l'homme. Les cellules tumorales utilisées sont des PC3 exprimant la GFP et la luciférase ce qui permet le suivi de la progression tumorale de manière non invasive (à la fois localement et en terme de développement métastatique).

Nous venons de voir qu'aujourd'hui, dans le domaine du cancer de la prostate, il apparaît un manque évident de facteurs pronostiques permettant de distinguer les formes indolentes des formes agressives qui vont métastaser rapidement et mettre en jeu le pronostic vital des patients. Nos résultats suggèrent que l'intégration de l'abondance du TAPP aux stratifications pronostiques utilisées actuellement pourrait les améliorer. Ce facteur serait relativement simple à mettre en place étant donné que la plupart des patients bénéficient déjà d'une IRM au moment du diagnostic. Notre objectif est également de mettre au point, avec l'aide de radiologues, des méthodes d'étude plus fines du TAPP. En effet, l'IRM est une technique extrêmement sophistiquée qui permet de faire de l'imagerie moléculaire, en plus de permettre la visualisation directe d'une accumulation anormale de matrice au cours des phénomènes de fibrose. Pour une étude plus fine, on peut la combiner à des marqueurs, c'est-à-dire qu'on injecte aux patients des nanoparticules qui ciblent différentes molécules (l'élastine, les collagènes, la fibrine, les MMP) et les rendent visibles à l'IRM²⁸⁸. Si nos résultats préliminaires sont confirmés, on peut également

envisager de doser l'endotrophine dans le sérum des patients car c'est une molécule qu'on retrouve sous forme circulante. Il a déjà été montré qu'elle pouvait servir de biomarqueur pour identifier des patients diabétiques bons répondeurs aux agonistes de PPAR γ ²⁸⁹ ainsi que comme facteur de mauvais pronostic dans l'insuffisance rénale chronique²⁹⁰.

Conclusion générale

En conclusion, nos travaux ont permis de mieux caractériser le dialogue entre adipocytes et cellules tumorales prostatiques et de comprendre comment il est modifié au cours d'une situation d'accumulation ectopique de TAPP indépendamment de l'IMC, et son lien avec des cancers de la prostate agressifs. Nous avons, pour la première fois, réalisé une caractérisation biologique de ces TAPP abondants, qui révèle qu'ils sont très différents d'un TA obèse (Figure 23). En effet, on retrouve une hypertrophie adipocytaire dans ces TAPP, qui n'est pas associée à un phénomène d'hyperplasie ni à l'infiltration par des cellules immunes. Nous avons également montré un remodelage important de la matrice extracellulaire dans ces TAPP abondants avec une diminution d'expression de plusieurs collagènes (collagènes I, IV, VI et XII). Des résultats préliminaires suggèrent aussi qu'un fragment de clivage particulier du collagène VI, l'endotrophine, qui a déjà été décrit comme jouant un rôle majeur dans la progression du cancer du sein, serait augmenté dans les TAPP abondants, donnant une explication potentielle au lien entre abondance du TAPP et cancers de la prostate agressifs. Ce travail, qui reste à compléter avec des données supplémentaires, pourrait permettre d'utiliser l'abondance du TAPP comme nouveau facteur pronostique du cancer de la prostate et mieux identifier les patients à haut risque de cancer agressif. Il serait utile à de nombreux patients, surtout en France où le taux d'obésité restant relativement bas, l'incidence des TAPP abondants est probablement bien supérieure.

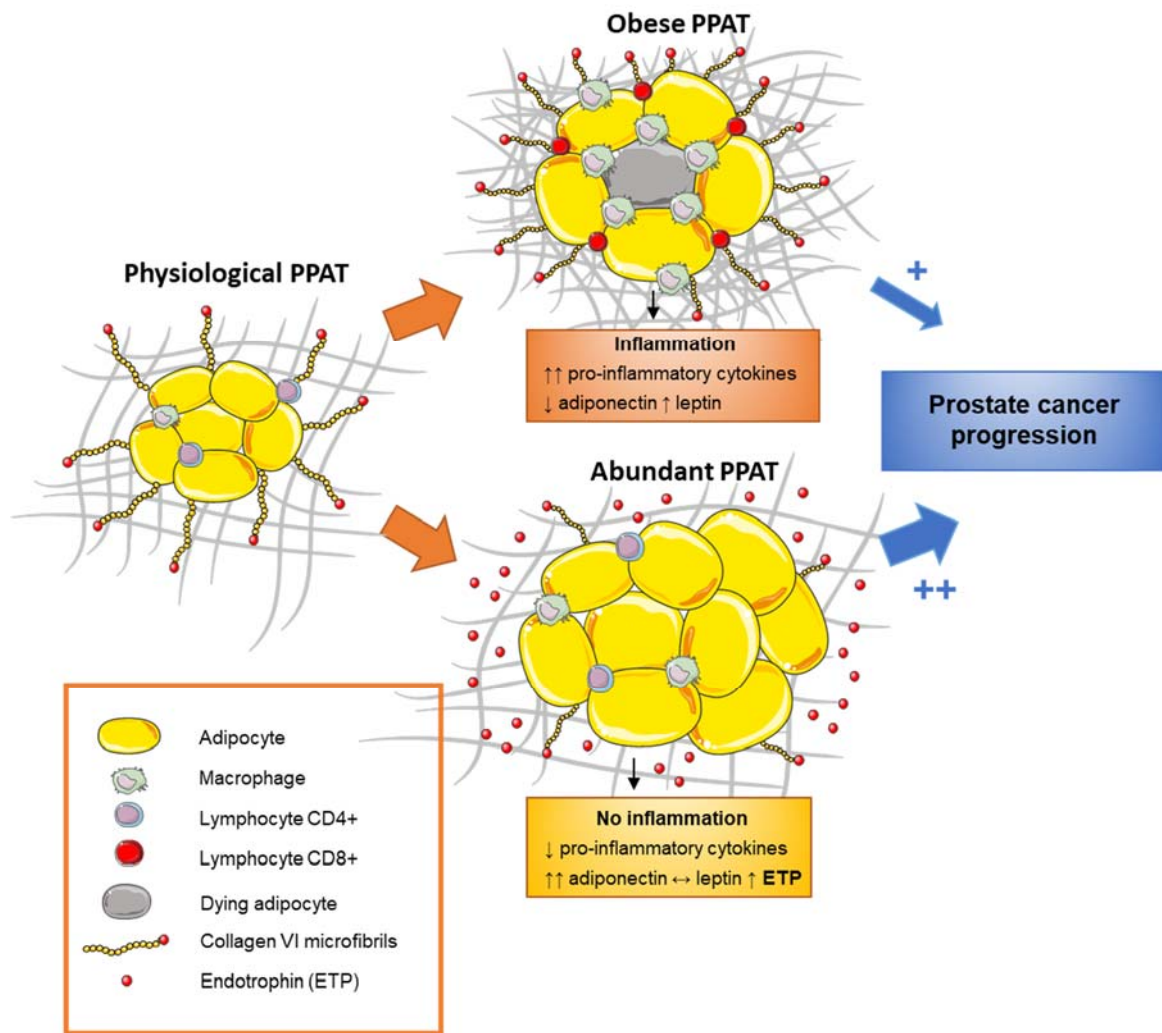


Figure 23. Proposition de modèle pour expliquer le rôle paracrine du TAPP dans les contextes d'obésité ou d'abondance du TAPP indépendamment de l'IMC.

REFERENCES

1. Hanahan, D. & Coussens, L. M. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell* **21**, 309–322 (2012).
2. Balkwill, F. R., Capasso, M. & Hagemann, T. The tumor microenvironment at a glance. *J. Cell. Sci.* **125**, 5591–5596 (2012).
3. Laurent, V., Nieto, L., Valet, P. & Muller, C. [Adipose tissue and cancer: a high risk tandem]. *Med Sci (Paris)* **30**, 398–404 (2014).
4. Kapoor, J. *et al.* Extraprostatic extension into periprostatic fat is a more important determinant of prostate cancer recurrence than an invasive phenotype. *J. Urol.* **190**, 2061–2066 (2013).
5. Bandini, M., Gandaglia, G. & Briganti, A. Obesity and prostate cancer. *Curr Opin Urol* **27**, 415–421 (2017).
6. Laurent, V. *et al.* Periprostatic adipocytes act as a driving force for prostate cancer progression in obesity. *Nat Commun* **7**, 10230 (2016).
7. Martini, F. H., Tallitsch, R. B. & Nath, J. L. *Human Anatomy*. (Pearson, 2017).
8. Aumüller, G. Morphologic and endocrine aspects of prostatic function. *Prostate* **4**, 195–214 (1983).
9. Lilja, H. A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J. Clin. Invest.* **76**, 1899–1903 (1985).
10. Stamey, T. A. *et al.* Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N. Engl. J. Med.* **317**, 909–916 (1987).
11. Hayward, S. W. & Cunha, G. R. The prostate: development and physiology. *Radiol. Clin. North Am.* **38**, 1–14 (2000).
12. Berry, S. J., Coffey, D. S., Walsh, P. C. & Ewing, L. L. The development of human benign prostatic hyperplasia with age. *J. Urol.* **132**, 474–479 (1984).
13. McNeal, J. E. The zonal anatomy of the prostate. *Prostate* **2**, 35–49 (1981).
14. Lee, C. H., Akin-Olugbade, O. & Kirschenbaum, A. Overview of prostate anatomy, histology, and pathology. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* **40**, 565–575, viii–ix (2011).
15. Schalken, J. A. & van Leenders, G. Cellular and molecular biology of the prostate: stem cell biology. *Urology* **62**, 11–20 (2003).
16. Vander Griend, D. J. *et al.* The role of CD133 in normal human prostate stem cells and malignant cancer-initiating cells. *Cancer Res.* **68**, 9703–9711 (2008).
17. Ishii, K., Takahashi, S., Sugimura, Y. & Watanabe, M. Role of Stromal Paracrine Signals in Proliferative Diseases of the Aging Human Prostate. *J Clin Med* **7**, (2018).
18. Cunha, G. R. Role of mesenchymal-epithelial interactions in normal and abnormal development of the mammary gland and prostate. *Cancer* **74**, 1030–1044 (1994).
19. Olumi, A. F. *et al.* Carcinoma-associated fibroblasts direct tumor progression of initiated human prostatic epithelium. *Cancer Res.* **59**, 5002–5011 (1999).
20. Bhowmick, N. A. *et al.* TGF-beta signaling in fibroblasts modulates the oncogenic potential of adjacent epithelia. *Science* **303**, 848–851 (2004).
21. Cunha, G. R. *et al.* The endocrinology and developmental biology of the prostate. *Endocr. Rev.* **8**, 338–362 (1987).
22. Bianchi-Frias, D. *et al.* The effects of aging on the molecular and cellular composition of the prostate microenvironment. *PLoS ONE* **5**, (2010).
23. Global Burden of Disease Cancer Collaboration *et al.* Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol* **3**, 524–548 (2017).
24. Réseau NACRe - Réseau National Alimentation Cancer Recherche - Estimations incidence et mortalité par cancer : France, Europe, Monde. Available at: <https://www6.inra.fr/nacre/Prevention-primaire/Vous-informer-sur/Estimations-incidence-et-mortalite-par-cancer-France-Europe-Monde#1>. (Accessed: 4th July 2018)

25. Ferlay, J. *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012: Globocan 2012. *International Journal of Cancer* **136**, E359–E386 (2015).
26. Grosclaude, P. *et al.* [Prostate cancer incidence and mortality trends in France from 1980 to 2011]. *Prog. Urol.* **25**, 536–542 (2015).
27. Rozet, F. *et al.* [CCAFU french national guidelines 2016-2018 on prostate cancer]. *Prog. Urol.* **27 Suppl 1**, S95–S143 (2016).
28. Haas, G. P. & Sakr, W. A. Epidemiology of prostate cancer. *CA Cancer J Clin* **47**, 273–287 (1997).
29. Haute Autorité de Santé - ALD n° 30 - Cancer de la prostate. Available at: https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_725257/fr/ald-n-30-cancer-de-la-prostate. (Accessed: 17th July 2018)
30. Synthèse sur les bénéfices et les risques d'un dépistage du cancer de la prostate par dosage du PSA - Ref: ETATPROSTATE15 | Institut National Du Cancer. Available at: <http://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Synthese-sur-les-benefices-et-les-risques-d-un-depistage-du-cancer-de-la-prostate-par-dosage-du-PSA>. (Accessed: 17th July 2018)
31. Andriole, G. L. *et al.* Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N. Engl. J. Med.* **360**, 1310–1319 (2009).
32. Schröder, F. H. *et al.* Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N. Engl. J. Med.* **360**, 1320–1328 (2009).
33. Haute Autorité de Santé - Détection précoce du cancer de la prostate. Available at: https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_1623737/fr/detection-precoce-du-cancer-de-la-prostate. (Accessed: 17th July 2018)
34. Gleason, D. F. Histologic grading of prostate cancer: a perspective. *Hum. Pathol.* **23**, 273–279 (1992).
35. Gleason, D. F. & Mellinger, G. T. Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *J. Urol.* **111**, 58–64 (1974).
36. Epstein, J. I. *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.* **40**, 244–252 (2016).
37. Chan, T. Y., Partin, A. W., Walsh, P. C. & Epstein, J. I. Prognostic significance of Gleason score 3+4 versus Gleason score 4+3 tumor at radical prostatectomy. *Urology* **56**, 823–827 (2000).
38. Stark, J. R. *et al.* Gleason score and lethal prostate cancer: does 3 + 4 = 4 + 3? *J. Clin. Oncol.* **27**, 3459–3464 (2009).
39. Epstein, J. I. *et al.* A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. *Eur. Urol.* **69**, 428–435 (2016).
40. *AJCC Cancer Staging Manual.* (Springer, 2018).
41. D'Amico, A. V. *et al.* Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA* **280**, 969–974 (1998).
42. Kim, K. H. *et al.* Tumor volume adds prognostic value in patients with organ-confined prostate cancer. *Ann. Surg. Oncol.* **20**, 3133–3139 (2013).
43. Barbieri, C. E. *et al.* The mutational landscape of prostate cancer. *Eur. Urol.* **64**, 567–576 (2013).
44. Cancer Genome Atlas Research Network. The Molecular Taxonomy of Primary Prostate Cancer. *Cell* **163**, 1011–1025 (2015).
45. Robinson, D. *et al.* Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer. *Cell* **161**, 1215–1228 (2015).
46. Thompson, I. M. & Leach, R. Prostate cancer and prostatic intraepithelial neoplasia: true, true, and unrelated? *J. Clin. Oncol.* **31**, 515–516 (2013).
47. *Precision Molecular Pathology of Prostate Cancer.* (Springer, 2018).
48. Sakr, W. A. *et al.* Age and racial distribution of prostatic intraepithelial neoplasia. *Eur. Urol.* **30**, 138–144 (1996).
49. Bostwick, D. G. The pathology of early prostate cancer. *CA Cancer J Clin* **39**, 376–393 (1989).
50. Holzbeierlein, J. *et al.* Gene expression analysis of human prostate carcinoma during hormonal therapy identifies androgen-responsive genes and mechanisms of therapy resistance. *Am. J. Pathol.* **164**, 217–227 (2004).

51. Nuhn, P. *et al.* Update on Systemic Prostate Cancer Therapies: Management of Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer in the Era of Precision Oncology. *Eur. Urol.* (2018). doi:10.1016/j.eururo.2018.03.028
52. Gandaglia, G. *et al.* Distribution of metastatic sites in patients with prostate cancer: A population-based analysis. *Prostate* **74**, 210–216 (2014).
53. Klotz, L. *et al.* Clinical results of long-term follow-up of a large, active surveillance cohort with localized prostate cancer. *J. Clin. Oncol.* **28**, 126–131 (2010).
54. Wilt, T. J. *et al.* Radical prostatectomy versus observation for localized prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* **367**, 203–213 (2012).
55. Wilt, T. J. *et al.* Follow-up of Prostatectomy versus Observation for Early Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* **377**, 132–142 (2017).
56. Mottet, N. *et al.* EAU-ESTRO-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. *Eur. Urol.* **71**, 618–629 (2017).
57. Bill-Axelsson, A. *et al.* Radical prostatectomy or watchful waiting in early prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* **370**, 932–942 (2014).
58. Haglund, E. *et al.* Urinary Incontinence and Erectile Dysfunction After Robotic Versus Open Radical Prostatectomy: A Prospective, Controlled, Nonrandomised Trial. *Eur. Urol.* **68**, 216–225 (2015).
59. Wallis, C. J. D. *et al.* Second malignancies after radiotherapy for prostate cancer: systematic review and meta-analysis. *BMJ* **352**, i851 (2016).
60. Hennequin, C. *et al.* [Prostate brachytherapy: indications and outcomes]. *Prog. Urol.* **23**, 378–385 (2013).
61. Warmuth, M., Johansson, T. & Mad, P. Systematic review of the efficacy and safety of high-intensity focussed ultrasound for the primary and salvage treatment of prostate cancer. *Eur. Urol.* **58**, 803–815 (2010).
62. Ganzer, R. *et al.* Fourteen-year oncological and functional outcomes of high-intensity focused ultrasound in localized prostate cancer. *BJU Int.* **112**, 322–329 (2013).
63. Crouzet, S. *et al.* Whole-gland ablation of localized prostate cancer with high-intensity focused ultrasound: oncologic outcomes and morbidity in 1002 patients. *Eur. Urol.* **65**, 907–914 (2014).
64. Clinton, T. N., Woldu, S. L. & Raj, G. V. Degarelix versus luteinizing hormone-releasing hormone agonists for the treatment of prostate cancer. *Expert Opin Pharmacother* **18**, 825–832 (2017).
65. Sayyid, R. K. *et al.* A Phase II, Randomized, Open-Label Study of Neoadjuvant Degarelix versus LHRH Agonist in Prostate Cancer Patients Prior to Radical Prostatectomy. *Clin. Cancer Res.* **23**, 1974–1980 (2017).
66. James, N. D. *et al.* Abiraterone for Prostate Cancer Not Previously Treated with Hormone Therapy. *N. Engl. J. Med.* **377**, 338–351 (2017).
67. Fizazi, K. *et al.* Abiraterone plus Prednisone in Metastatic, Castration-Sensitive Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* **377**, 352–360 (2017).
68. Kunath, F. *et al.* Non-steroidal antiandrogen monotherapy compared with luteinising hormone-releasing hormone agonists or surgical castration monotherapy for advanced prostate cancer. *Cochrane Database Syst Rev* CD009266 (2014). doi:10.1002/14651858.CD009266.pub2
69. Beer, T. M. *et al.* Enzalutamide in metastatic prostate cancer before chemotherapy. *N. Engl. J. Med.* **371**, 424–433 (2014).
70. Scher, H. I. *et al.* Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N. Engl. J. Med.* **367**, 1187–1197 (2012).
71. Sweeney, C. J. *et al.* Chemohormonal Therapy in Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* **373**, 737–746 (2015).
72. Kantoff, P. W. *et al.* Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* **363**, 411–422 (2010).
73. Saad, F. *et al.* A randomized, placebo-controlled trial of zoledronic acid in patients with hormone-refractory metastatic prostate carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.* **94**, 1458–1468 (2002).
74. Fizazi, K. *et al.* Denosumab versus zoledronic acid for treatment of bone metastases in men with castration-resistant prostate cancer: a randomised, double-blind study. *Lancet* **377**, 813–822 (2011).

75. Parker, C. *et al.* Alpha emitter radium-223 and survival in metastatic prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* **369**, 213–223 (2013).
76. Saad, F. *et al.* Radium-223 and concomitant therapies in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer: an international, early access, open-label, single-arm phase 3b trial. *Lancet Oncol.* **17**, 1306–1316 (2016).
77. Grönberg, H. Prostate cancer epidemiology. *Lancet* **361**, 859–864 (2003).
78. Leitzmann, M. F. & Rohrmann, S. Risk factors for the onset of prostatic cancer: age, location, and behavioral correlates. *Clin Epidemiol* **4**, 1–11 (2012).
79. SEER Cancer Stat Facts. Available at: <https://seer.cancer.gov/statfacts/>. (Accessed: 4th July 2018)
80. Amundadottir, L. T. *et al.* A common variant associated with prostate cancer in European and African populations. *Nat. Genet.* **38**, 652–658 (2006).
81. Al Olama, A. A. *et al.* A meta-analysis of 87,040 individuals identifies 23 new susceptibility loci for prostate cancer. *Nat. Genet.* **46**, 1103–1109 (2014).
82. Hoffmann, T. J. *et al.* A large multiethnic genome-wide association study of prostate cancer identifies novel risk variants and substantial ethnic differences. *Cancer Discov* **5**, 878–891 (2015).
83. Aune, D. *et al.* Dairy products, calcium, and prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Am. J. Clin. Nutr.* **101**, 87–117 (2015).
84. Crowe, F. L. *et al.* Dietary fat intake and risk of prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* **87**, 1405–1413 (2008).
85. Wallström, P., Bjartell, A., Gullberg, B., Olsson, H. & Wirfält, E. A prospective study on dietary fat and incidence of prostate cancer (Malmö, Sweden). *Cancer Causes Control* **18**, 1107–1121 (2007).
86. Allott, E. H., Masko, E. M. & Freedland, S. J. Obesity and prostate cancer: weighing the evidence. *Eur. Urol.* **63**, 800–809 (2013).
87. OMS | Obésité. WHO Available at: <http://www.who.int/topics/obesity/fr/>. (Accessed: 17th July 2018)
88. 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.* **23**, 1665–1671 (2012).
89. Bhindi, B. *et al.* Obesity is associated with risk of progression for low-risk prostate cancers managed expectantly. *Eur. Urol.* **66**, 841–848 (2014).
90. Cao, Y. & Ma, J. Body mass index, prostate cancer-specific mortality, and biochemical recurrence: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Prev Res (Phila)* **4**, 486–501 (2011).
91. Keto, C. J. *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.* **110**, 492–498 (2012).
92. Nassar, Z. D. *et al.* Peri-prostatic adipose tissue: the metabolic microenvironment of prostate cancer. *BJU Int.* **121 Suppl 3**, 9–21 (2018).
93. Thompson, I. M. *et al.* The influence of finasteride on the development of prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* **349**, 215–224 (2003).
94. Severi, G. *et al.* Circulating steroid hormones and the risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **15**, 86–91 (2006).
95. Platz, E. A. *et al.* Sex steroid hormones and the androgen receptor gene CAG repeat and subsequent risk of prostate cancer in the prostate-specific antigen era. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **14**, 1262–1269 (2005).
96. Yang, M. *et al.* Dietary patterns after prostate cancer diagnosis in relation to disease-specific and total mortality. *Cancer Prev Res (Phila)* **8**, 545–551 (2015).
97. Kershaw, E. E. & Flier, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**, 2548–2556 (2004).
98. Frayn, K. N., Karpe, F., Fielding, B. A., Macdonald, I. A. & Coppack, S. W. Integrative physiology of human adipose tissue. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **27**, 875–888 (2003).
99. Cinti, S. The adipose organ at a glance. *Dis Model Mech* **5**, 588–594 (2012).
100. Ibrahim, M. M. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev* **11**, 11–18 (2010).

101. Fox, C. S. *et al.* Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* **116**, 39–48 (2007).
102. Tchoukalova, Y. D. *et al.* Subcutaneous adipocyte size and body fat distribution. *Am. J. Clin. Nutr.* **87**, 56–63 (2008).
103. Zhang, H.-M. *et al.* Macrophage infiltrates with high levels of Toll-like receptor 4 expression in white adipose tissues of male Chinese. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **19**, 736–743 (2009).
104. Bruun, J. M., Lihn, A. S., Pedersen, S. B. & Richelsen, B. Monocyte chemoattractant protein-1 release is higher in visceral than subcutaneous human adipose tissue (AT): implication of macrophages resident in the AT. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **90**, 2282–2289 (2005).
105. Bjørndal, B., Burri, L., Staalesen, V., Skorve, J. & Berge, R. K. Different adipose depots: their role in the development of metabolic syndrome and mitochondrial response to hypolipidemic agents. *J. Obes* **2011**, 490650 (2011).
106. Schipper, H. S., Prakken, B., Kalkhoven, E. & Boes, M. Adipose tissue-resident immune cells: key players in immunometabolism. *Trends Endocrinol. Metab.* **23**, 407–415 (2012).
107. Chawla, A., Nguyen, K. D. & Goh, Y. P. S. Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. *Nat. Rev. Immunol.* **11**, 738–749 (2011).
108. Wu, D. *et al.* Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis. *Science* **332**, 243–247 (2011).
109. Feuerer, M. *et al.* Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nat. Med.* **15**, 930–939 (2009).
110. Cipolletta, D. *et al.* PPAR- γ is a major driver of the accumulation and phenotype of adipose tissue Treg cells. *Nature* **486**, 549–553 (2012).
111. Mariman, E. C. M. & Wang, P. Adipocyte extracellular matrix composition, dynamics and role in obesity. *Cell. Mol. Life Sci.* **67**, 1277–1292 (2010).
112. Ricard-Blum, S. & Ruggiero, F. The collagen superfamily: from the extracellular matrix to the cell membrane. *Pathol. Biol.* **53**, 430–442 (2005).
113. Alvarez-Llamas, G. *et al.* Characterization of the human visceral adipose tissue secretome. *Mol. Cell Proteomics* **6**, 589–600 (2007).
114. Roelofsen, H. *et al.* Comparison of isotope-labeled amino acid incorporation rates (CILAIR) provides a quantitative method to study tissue secretomes. *Mol. Cell Proteomics* **8**, 316–324 (2009).
115. Khan, T. *et al.* Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis: role of collagen VI. *Mol. Cell. Biol.* **29**, 1575–1591 (2009).
116. Mori, S., Kiuchi, S., Ouchi, A., Hase, T. & Murase, T. Characteristic expression of extracellular matrix in subcutaneous adipose tissue development and adipogenesis; comparison with visceral adipose tissue. *Int. J. Biol. Sci.* **10**, 825–833 (2014).
117. Sun, K. *et al.* Endotrophin triggers adipose tissue fibrosis and metabolic dysfunction. *Nat Commun* **5**, 3485 (2014).
118. Scherer, P. E., Bickel, P. E., Kotler, M. & Lodish, H. F. Cloning of cell-specific secreted and surface proteins by subtractive antibody screening. *Nat. Biotechnol.* **16**, 581–586 (1998).
119. Schultz, G. S. & Wysocki, A. Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. *Wound Repair Regen* **17**, 153–162 (2009).
120. Schlessinger, J. *et al.* Crystal structure of a ternary FGF-FGFR-heparin complex reveals a dual role for heparin in FGFR binding and dimerization. *Mol. Cell* **6**, 743–750 (2000).
121. Gospodarowicz, D. & Cheng, J. Heparin protects basic and acidic FGF from inactivation. *J. Cell. Physiol.* **128**, 475–484 (1986).
122. Ortéga, N., L’Faqihi, F. E. & Plouët, J. Control of vascular endothelial growth factor angiogenic activity by the extracellular matrix. *Biol. Cell* **90**, 381–390 (1998).
123. Bradshaw, A. D., Graves, D. C., Motamed, K. & Sage, E. H. SPARC-null mice exhibit increased adiposity without significant differences in overall body weight. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **100**, 6045–6050 (2003).
124. Pierleoni, C., Verdenelli, F., Castellucci, M. & Cinti, S. Fibronectins and basal lamina molecules expression in human subcutaneous white adipose tissue. *Eur J Histochem* **42**, 183–188 (1998).
125. Chun, T.-H. Peri-adipocyte ECM remodeling in obesity and adipose tissue fibrosis. *Adipocyte* **1**, 89–95 (2012).

126. Cawston, T. E. & Young, D. A. Proteinases involved in matrix turnover during cartilage and bone breakdown. *Cell Tissue Res.* **339**, 221–235 (2010).
127. Ojima, K., Oe, M., Nakajima, I., Muroya, S. & Nishimura, T. Dynamics of protein secretion during adipocyte differentiation. *FEBS Open Bio* **6**, 816–826 (2016).
128. Bouloumié, A., Sengenès, C., Portolan, G., Galitzky, J. & Lafontan, M. Adipocyte produces matrix metalloproteinases 2 and 9: involvement in adipose differentiation. *Diabetes* **50**, 2080–2086 (2001).
129. Chavey, C. *et al.* Matrix metalloproteinases are differentially expressed in adipose tissue during obesity and modulate adipocyte differentiation. *J. Biol. Chem.* **278**, 11888–11896 (2003).
130. Chun, T.-H. *et al.* A pericellular collagenase directs the 3-dimensional development of white adipose tissue. *Cell* **125**, 577–591 (2006).
131. Nakajima, I., Muroya, S., Tanabe, R.-I. & Chikuni, K. Positive effect of collagen V and VI on triglyceride accumulation during differentiation in cultures of bovine intramuscular adipocytes. *Differentiation* **70**, 84–91 (2002).
132. Bouwman, F., Renes, J. & Mariman, E. A combination of protein profiling and isotopomer analysis using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry reveals an active metabolism of the extracellular matrix of 3T3-L1 adipocytes. *Proteomics* **4**, 3855–3863 (2004).
133. Wang, P. *et al.* Insulin modulates the secretion of proteins from mature 3T3-L1 adipocytes: a role for transcriptional regulation of processing. *Diabetologia* **49**, 2453–2462 (2006).
134. Maquart, F. X., Siméon, A., Pasco, S. & Monboisse, J. C. [Regulation of cell activity by the extracellular matrix: the concept of matrikines]. *J. Soc. Biol.* **193**, 423–428 (1999).
135. Tran, K. T., Lamb, P. & Deng, J.-S. Matrikines and matricryptins: Implications for cutaneous cancers and skin repair. *J. Dermatol. Sci.* **40**, 11–20 (2005).
136. Blaise, S. *et al.* Elastin-derived peptides are new regulators of insulin resistance development in mice. *Diabetes* **62**, 3807–3816 (2013).
137. O'Reilly, M. S. *et al.* Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* **88**, 277–285 (1997).
138. Rupnick, M. A. *et al.* Adipose tissue mass can be regulated through the vasculature. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **99**, 10730–10735 (2002).
139. Park, J. & Scherer, P. E. Adipocyte-derived endotrophin promotes malignant tumor progression. *J. Clin. Invest.* **122**, 4243–4256 (2012).
140. Park, J., Morley, T. S. & Scherer, P. E. Inhibition of endotrophin, a cleavage product of collagen VI, confers cisplatin sensitivity to tumours. *EMBO Mol Med* **5**, 935–948 (2013).
141. Poulos, S. P., Hausman, D. B. & Hausman, G. J. The development and endocrine functions of adipose tissue. *Mol. Cell. Endocrinol.* **323**, 20–34 (2010).
142. Spalding, K. L. *et al.* Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* **453**, 783–787 (2008).
143. Tandon, P., Wafer, R. & Minchin, J. E. N. Adipose morphology and metabolic disease. *J. Exp. Biol.* **221**, (2018).
144. Cristancho, A. G. & Lazar, M. A. Forming functional fat: a growing understanding of adipocyte differentiation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **12**, 722–734 (2011).
145. Zuk, P. A. *et al.* Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol. Biol. Cell* **13**, 4279–4295 (2002).
146. Galic, S., Oakhill, J. S. & Steinberg, G. R. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol. Cell. Endocrinol.* **316**, 129–139 (2010).
147. Coleman, R. A., Lewin, T. M. & Muoio, D. M. Physiological and nutritional regulation of enzymes of triacylglycerol synthesis. *Annu. Rev. Nutr.* **20**, 77–103 (2000).
148. Eckel, R. H. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N. Engl. J. Med.* **320**, 1060–1068 (1989).
149. Thompson, B. R., Lobo, S. & Bernlohr, D. A. Fatty acid flux in adipocytes: the in's and out's of fat cell lipid trafficking. *Mol. Cell. Endocrinol.* **318**, 24–33 (2010).
150. Zimmermann, R. *et al.* Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science* **306**, 1383–1386 (2004).
151. Lafontan, M. & Langin, D. Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. *Prog. Lipid Res.* **48**, 275–297 (2009).

152. Sengenès, C., Berlan, M., De Glisezinski, I., Lafontan, M. & Galitzky, J. Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human adipocytes. *FASEB J.* **14**, 1345–1351 (2000).
153. Furuhashi, M. & Hotamisligil, G. S. Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. *Nat Rev Drug Discov* **7**, 489–503 (2008).
154. Zhang, Y. *et al.* Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* **372**, 425–432 (1994).
155. Hu, E., Liang, P. & Spiegelman, B. M. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J. Biol. Chem.* **271**, 10697–10703 (1996).
156. Ouchi, N. *et al.* Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* **100**, 2473–2476 (1999).
157. Tan, K. C. B. *et al.* Hypoadiponectinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**, 765–769 (2004).
158. Kumada, M. *et al.* Adiponectin specifically increased tissue inhibitor of metalloproteinase-1 through interleukin-10 expression in human macrophages. *Circulation* **109**, 2046–2049 (2004).
159. Hotamisligil, G. S., Shargill, N. S. & Spiegelman, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* **259**, 87–91 (1993).
160. Hotamisligil, G. S. *et al.* IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance. *Science* **271**, 665–668 (1996).
161. Tsigos, C. *et al.* Dose-dependent effects of recombinant human interleukin-6 on glucose regulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **82**, 4167–4170 (1997).
162. Patel, L. *et al.* Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **300**, 472–476 (2003).
163. Ronti, T., Lupattelli, G. & Mannarino, E. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* **64**, 355–365 (2006).
164. Renehan, A. G., Zwahlen, M. & Egger, M. Adiposity and cancer risk: new mechanistic insights from epidemiology. *Nat. Rev. Cancer* **15**, 484–498 (2015).
165. Tchkonja, T. *et al.* Mechanisms and metabolic implications of regional differences among fat depots. *Cell Metab.* **17**, 644–656 (2013).
166. Tchkonja, T. *et al.* Fat depot-specific characteristics are retained in strains derived from single human preadipocytes. *Diabetes* **55**, 2571–2578 (2006).
167. Tchkonja, T. *et al.* Identification of depot-specific human fat cell progenitors through distinct expression profiles and developmental gene patterns. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **292**, E298–307 (2007).
168. Zhu, Y. *et al.* Inflammation and the depot-specific secretome of human preadipocytes. *Obesity (Silver Spring)* **23**, 989–999 (2015).
169. Van Harmelen, V., Röhrig, K. & Hauner, H. Comparison of proliferation and differentiation capacity of human adipocyte precursor cells from the omental and subcutaneous adipose tissue depot of obese subjects. *Metab. Clin. Exp.* **53**, 632–637 (2004).
170. Weisberg, S. P. *et al.* Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* **112**, 1796–1808 (2003).
171. Wajchenberg, B. L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr. Rev.* **21**, 697–738 (2000).
172. Rebuffé-Scrive, M., Eldh, J., Hafström, L. O. & Björntorp, P. Metabolism of mammary, abdominal, and femoral adipocytes in women before and after menopause. *Metab. Clin. Exp.* **35**, 792–797 (1986).
173. Pujol, E., Proenza, A. M., Roca, P. & Lladó, I. Changes in mammary fat pad composition and lipolytic capacity throughout pregnancy. *Cell Tissue Res.* **323**, 505–511 (2006).
174. Caspar-Bauguil, S. *et al.* Adipose tissues as an ancestral immune organ: site-specific change in obesity. *FEBS Lett.* **579**, 3487–3492 (2005).
175. Van Harmelen, V. *et al.* Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women. *Diabetes* **47**, 913–917 (1998).
176. Walden, P. D., Ruan, W., Feldman, M. & Kleinberg, D. L. Evidence that the mammary fat pad mediates the action of growth hormone in mammary gland development. *Endocrinology* **139**, 659–662 (1998).

177. Hausman, D. B., DiGirolamo, M., Bartness, T. J., Hausman, G. J. & Martin, R. J. The biology of white adipocyte proliferation. *Obes Rev* **2**, 239–254 (2001).
178. Li, Y., Periwai, V., Cushman, S. W. & Stenkula, K. G. Adipose cell hypertrophy precedes the appearance of small adipocytes by 3 days in C57BL/6 mouse upon changing to a high fat diet. *Adipocyte* **5**, 81–87 (2016).
179. Marques, B. G., Hausman, D. B. & Martin, R. J. Association of fat cell size and paracrine growth factors in development of hyperplastic obesity. *Am. J. Physiol.* **275**, R1898-1908 (1998).
180. Jo, J. *et al.* Hypertrophy and/or Hyperplasia: Dynamics of Adipose Tissue Growth. *PLoS Comput. Biol.* **5**, e1000324 (2009).
181. Macotela, Y. *et al.* Intrinsic differences in adipocyte precursor cells from different white fat depots. *Diabetes* **61**, 1691–1699 (2012).
182. Joe, A. W. B., Yi, L., Even, Y., Vogl, A. W. & Rossi, F. M. V. Depot-specific differences in adipogenic progenitor abundance and proliferative response to high-fat diet. *Stem Cells* **27**, 2563–2570 (2009).
183. Wang, Q. A., Tao, C., Gupta, R. K. & Scherer, P. E. Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. *Nat. Med.* **19**, 1338–1344 (2013).
184. Cinti, S. *et al.* Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J. Lipid Res.* **46**, 2347–2355 (2005).
185. Badoud, F., Perreault, M., Zulyniak, M. A. & Mutch, D. M. Molecular insights into the role of white adipose tissue in metabolically unhealthy normal weight and metabolically healthy obese individuals. *FASEB J.* **29**, 748–758 (2015).
186. McLaughlin, T. *et al.* Enhanced proportion of small adipose cells in insulin-resistant vs insulin-sensitive obese individuals implicates impaired adipogenesis. *Diabetologia* **50**, 1707–1715 (2007).
187. Nishimura, S. *et al.* CD8⁺ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat. Med.* **15**, 914–920 (2009).
188. Duffaut, C., Galitzky, J., Lafontan, M. & Bouloumié, A. Unexpected trafficking of immune cells within the adipose tissue during the onset of obesity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **384**, 482–485 (2009).
189. Winer, S. *et al.* Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat. Med.* **15**, 921–929 (2009).
190. Liu, J. *et al.* Genetic deficiency and pharmacological stabilization of mast cells reduce diet-induced obesity and diabetes in mice. *Nat. Med.* **15**, 940–945 (2009).
191. Lumeng, C. N., Bodzin, J. L. & Saltiel, A. R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J. Clin. Invest.* **117**, 175–184 (2007).
192. Zeyda, M. *et al.* Human adipose tissue macrophages are of an anti-inflammatory phenotype but capable of excessive pro-inflammatory mediator production. *Int J Obes (Lond)* **31**, 1420–1428 (2007).
193. Nakajima, S. *et al.* Accumulation of CD11c⁺CD163⁺ Adipose Tissue Macrophages through Upregulation of Intracellular 11 β -HSD1 in Human Obesity. *J. Immunol.* **197**, 3735–3745 (2016).
194. Kintscher, U. *et al.* T-lymphocyte infiltration in visceral adipose tissue: a primary event in adipose tissue inflammation and the development of obesity-mediated insulin resistance. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **28**, 1304–1310 (2008).
195. Gustafson, B. *et al.* Inflammation and impaired adipogenesis in hypertrophic obesity in man. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **297**, E999–E1003 (2009).
196. Fain, J. N. Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the nonfat cells. *Vitam. Horm.* **74**, 443–477 (2006).
197. Xu, H. *et al.* Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* **112**, 1821–1830 (2003).
198. Roberson, L. L. *et al.* Beyond BMI: The ‘Metabolically healthy obese’ phenotype & its association with clinical/subclinical cardiovascular disease and all-cause mortality -- a systematic review. *BMC Public Health* **14**, 14 (2014).
199. Perreault, M. *et al.* A distinct fatty acid profile underlies the reduced inflammatory state of metabolically healthy obese individuals. *PLoS ONE* **9**, e88539 (2014).
200. Britton, K. A. & Fox, C. S. Ectopic fat depots and cardiovascular disease. *Circulation* **124**, e837-841 (2011).

201. Bednarek-Tupikowska, G. *et al.* Evaluation of the prevalence of metabolic obesity and normal weight among the Polish population. *Endokrynol Pol* **63**, 447–455 (2012).
202. Meigs, J. B. *et al.* Body mass index, metabolic syndrome, and risk of type 2 diabetes or cardiovascular disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **91**, 2906–2912 (2006).
203. Stefan, N., Schick, F. & Häring, H.-U. Causes, Characteristics, and Consequences of Metabolically Unhealthy Normal Weight in Humans. *Cell Metab.* **26**, 292–300 (2017).
204. Dvorak, R. V., DeNino, W. F., Ades, P. A. & Poehlman, E. T. Phenotypic characteristics associated with insulin resistance in metabolically obese but normal-weight young women. *Diabetes* **48**, 2210–2214 (1999).
205. Karelis, A. D., St-Pierre, D. H., Conus, F., Rabasa-Lhoret, R. & Poehlman, E. T. Metabolic and body composition factors in subgroups of obesity: what do we know? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**, 2569–2575 (2004).
206. Katsuki, A. *et al.* Increased visceral fat and serum levels of triglyceride are associated with insulin resistance in Japanese metabolically obese, normal weight subjects with normal glucose tolerance. *Diabetes Care* **26**, 2341–2344 (2003).
207. Moreno-Indias, I. *et al.* Adipose tissue infiltration in normal-weight subjects and its impact on metabolic function. *Transl Res* **172**, 6-17.e3 (2016).
208. Srdić, B. *et al.* Morphological characteristics of abdominal adipose tissue in normal-weight and obese women of different metabolic profiles. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* **118**, 713–718 (2010).
209. De Lorenzo, A. *et al.* Normal-weight obese syndrome: early inflammation? *Am. J. Clin. Nutr.* **85**, 40–45 (2007).
210. Di Renzo, L. *et al.* Oxidative stress in normal-weight obese syndrome. *Obesity (Silver Spring)* **18**, 2125–2130 (2010).
211. Hyun, Y. J. *et al.* Atherogenicity of LDL and unfavorable adipokine profile in metabolically obese, normal-weight woman. *Obesity (Silver Spring)* **16**, 784–789 (2008).
212. Gaborit, B., Sengenès, C., Ancel, P., Jacquier, A. & Dutour, A. Role of Epicardial Adipose Tissue in Health and Disease: A Matter of Fat? *Compr Physiol* **7**, 1051–1082 (2017).
213. Bambace, C. *et al.* Adiponectin gene expression and adipocyte diameter: a comparison between epicardial and subcutaneous adipose tissue in men. *Cardiovasc. Pathol.* **20**, e153-156 (2011).
214. Sacks, H. S. *et al.* Adult epicardial fat exhibits beige features. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **98**, E1448-1455 (2013).
215. Chechi, K., Blanchard, P.-G., Mathieu, P., Deshaies, Y. & Richard, D. Brown fat like gene expression in the epicardial fat depot correlates with circulating HDL-cholesterol and triglycerides in patients with coronary artery disease. *Int. J. Cardiol.* **167**, 2264–2270 (2013).
216. Rosito, G. A. *et al.* Pericardial fat, visceral abdominal fat, cardiovascular disease risk factors, and vascular calcification in a community-based sample: the Framingham Heart Study. *Circulation* **117**, 605–613 (2008).
217. Nagashima, K. *et al.* Association between epicardial adipose tissue volumes on 3-dimensional reconstructed CT images and recurrence of atrial fibrillation after catheter ablation. *Circ. J.* **75**, 2559–2565 (2011).
218. Venteclef, N. *et al.* Human epicardial adipose tissue induces fibrosis of the atrial myocardium through the secretion of adipo-fibrokinases. *Eur. Heart J.* **36**, 795-805a (2015).
219. Mazurek, T. *et al.* Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. *Circulation* **108**, 2460–2466 (2003).
220. Mazurek, T. *et al.* Relation of proinflammatory activity of epicardial adipose tissue to the occurrence of atrial fibrillation. *Am. J. Cardiol.* **113**, 1505–1508 (2014).
221. Dirat, B. *et al.* Cancer-associated adipocytes exhibit an activated phenotype and contribute to breast cancer invasion. *Cancer Res.* **71**, 2455–2465 (2011).
222. Wang, Y. Y. *et al.* Mammary adipocytes stimulate breast cancer invasion through metabolic remodeling of tumor cells. *JCI Insight* **2**, e87489 (2017).
223. Duong, M. N. *et al.* The fat and the bad: Mature adipocytes, key actors in tumor progression and resistance. *Oncotarget* **8**, 57622–57641 (2017).
224. Nieman, K. M. *et al.* Adipocytes promote ovarian cancer metastasis and provide energy for rapid tumor growth. *Nat. Med.* **17**, 1498–1503 (2011).

225. Lazar, I. *et al.* Adipocyte Exosomes Promote Melanoma Aggressiveness through Fatty Acid Oxidation: A Novel Mechanism Linking Obesity and Cancer. *Cancer Res.* **76**, 4051–4057 (2016).
226. Calle, E. E. & Kaaks, R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat. Rev. Cancer* **4**, 579–591 (2004).
227. Sun, K., Kusminski, C. M. & Scherer, P. E. Adipose tissue remodeling and obesity. *J. Clin. Invest.* **121**, 2094–2101 (2011).
228. Nieman, K. M., Romero, I. L., Van Houten, B. & Lengyel, E. Adipose tissue and adipocytes support tumorigenesis and metastasis. *Biochim. Biophys. Acta* **1831**, 1533–1541 (2013).
229. Hong, H. *et al.* Anatomic distribution of periprostatic adipose tissue: a mapping study of 100 radical prostatectomy specimens. *Cancer* **97**, 1639–1643 (2003).
230. Kiyoshima, K. *et al.* Anatomical features of periprostatic tissue and its surroundings: a histological analysis of 79 radical retropubic prostatectomy specimens. *Jpn. J. Clin. Oncol.* **34**, 463–468 (2004).
231. Hansen, J. *et al.* Assessment of rates of lymph nodes and lymph node metastases in periprostatic fat pads in a consecutive cohort treated with retropubic radical prostatectomy. *Urology* **80**, 877–882 (2012).
232. Atmaca, A. F. *et al.* Does anterior prostatic fat tissue removed during robotic radical prostatectomy contain any lymph nodes? *Cent European J Urol* **68**, 410–414 (2015).
233. Jeong, J. *et al.* Pathologic implications of prostatic anterior fat pad. *Urol. Oncol.* **31**, 63–67 (2013).
234. Finley, D. S. *et al.* Anatomic excision of anterior prostatic fat at radical prostatectomy: implications for pathologic upstaging. *Urology* **70**, 1000–1003 (2007).
235. Kim, I. Y. *et al.* Detailed analysis of patients with metastasis to the prostatic anterior fat pad lymph nodes: a multi-institutional study. *J. Urol.* **190**, 527–534 (2013).
236. Olsson, M. *et al.* Correlation between circulatory, local prostatic, and intra-prostatic androgen levels. *Prostate* **71**, 909–914 (2011).
237. O'Reilly, M. W., House, P. J. & Tomlinson, J. W. Understanding androgen action in adipose tissue. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **143**, 277–284 (2014).
238. Kapoor, D., Goodwin, E., Channer, K. S. & Jones, T. H. Testosterone replacement therapy improves insulin resistance, glycaemic control, visceral adiposity and hypercholesterolaemia in hypogonadal men with type 2 diabetes. *Eur. J. Endocrinol.* **154**, 899–906 (2006).
239. Taussky, D. *et al.* Changes in periprostatic adipose tissue induced by 5 α -reductase inhibitors. *Andrology* **5**, 511–515 (2017).
240. 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. (Maywood)* **237**, 1155–1162 (2012).
241. Venkatasubramanian, P. N. *et al.* Periprostatic adipose tissue from obese prostate cancer patients promotes tumor and endothelial cell proliferation: a functional and MR imaging pilot study. *Prostate* **74**, 326–335 (2014).
242. Ribeiro, R. *et al.* Human periprostatic adipose tissue promotes prostate cancer aggressiveness in vitro. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **31**, 32 (2012).
243. Ribeiro, R. J. T. *et al.* Tumor cell-educated periprostatic adipose tissue acquires an aggressive cancer-promoting secretory profile. *Cell. Physiol. Biochem.* **29**, 233–240 (2012).
244. Ribeiro, R. *et al.* Obesity and prostate cancer: gene expression signature of human periprostatic adipose tissue. *BMC Med* **10**, 108 (2012).
245. Onuma, M., Bub, J. D., Rummel, T. L. & Iwamoto, Y. Prostate cancer cell-adipocyte interaction: leptin mediates androgen-independent prostate cancer cell proliferation through c-Jun NH2-terminal kinase. *J. Biol. Chem.* **278**, 42660–42667 (2003).
246. Hoda, M. R., Theil, G., Mohammed, N., Fischer, K. & Fornara, P. 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**, 280386 (2012).
247. Hoda, M. R. & Popken, G. Mitogenic and anti-apoptotic actions of adipocyte-derived hormone leptin in prostate cancer cells. *BJU Int.* **102**, 383–388 (2008).
248. Huang, C.-Y. *et al.* Leptin increases motility and integrin up-regulation in human prostate cancer cells. *J. Cell. Physiol.* **226**, 1274–1282 (2011).
249. Ito, Y. *et al.* Adipocyte-derived monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) promotes prostate cancer progression through the induction of MMP-2 activity. *Prostate* **75**, 1009–1019 (2015).

250. Finley, D. S. *et al.* Periprostatic adipose tissue as a modulator of prostate cancer aggressiveness. *J. Urol.* **182**, 1621–1627 (2009).
251. Liu, G. *et al.* Prostate-specific IL-6 transgene autonomously induce prostate neoplasm through amplifying inflammation in the prostate and peri-prostatic adipose tissue. *J Hematol Oncol* **10**, 14 (2017).
252. Sacca, P. A. *et al.* Human periprostatic adipose tissue: its influence on prostate cancer cells. *Cell. Physiol. Biochem.* **30**, 113–122 (2012).
253. Mangiola, S. *et al.* Periprostatic fat tissue transcriptome reveals a signature diagnostic for high-risk prostate cancer. *Endocr. Relat. Cancer* **25**, 569–581 (2018).
254. Figiel, S. *et al.* Fatty acid profile in peri-prostatic adipose tissue and prostate cancer aggressiveness in African-Caribbean and Caucasian patients. *Eur. J. Cancer* **91**, 107–115 (2018).
255. Gazi, E. *et al.* Direct evidence of lipid translocation between adipocytes and prostate cancer cells with imaging FTIR microspectroscopy. *J. Lipid Res.* **48**, 1846–1856 (2007).
256. Tokuda, Y. *et al.* Prostate cancer cell growth is modulated by adipocyte-cancer cell interaction. *BJU Int.* **91**, 716–720 (2003).
257. Pattabiraman, D. R. & Weinberg, R. A. Tackling the cancer stem cells - what challenges do they pose? *Nat Rev Drug Discov* **13**, 497–512 (2014).
258. Collins, A. T., Berry, P. A., Hyde, C., Stower, M. J. & Maitland, N. J. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res.* **65**, 10946–10951 (2005).
259. Tang, K.-D. *et al.* Adipocytes promote prostate cancer stem cell self-renewal through amplification of the cholecystokinin autocrine loop. *Oncotarget* **7**, 4939–4948 (2016).
260. Albino, D. *et al.* The ETS factor ESE3/EHF represses IL-6 preventing STAT3 activation and expansion of the prostate cancer stem-like compartment. *Oncotarget* **7**, 76756–76768 (2016).
261. Gucalp, A. *et al.* Periprostatic adipose inflammation is associated with high-grade prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* **20**, 418–423 (2017).
262. Zhang, Y. *et al.* White adipose tissue cells are recruited by experimental tumors and promote cancer progression in mouse models. *Cancer Res.* **69**, 5259–5266 (2009).
263. 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* **78**, 353–364 (2018).
264. Hisanori, U. *et al.* Adipose tissue: Critical contributor to the development of prostate cancer. *J. Med. Invest.* **65**, 9–17 (2018).
265. Saha, A. *et al.* Proinflammatory CXCL12-CXCR4/CXCR7 Signaling Axis Drives Myc-Induced Prostate Cancer in Obese Mice. *Cancer Res.* **77**, 5158–5168 (2017).
266. Huang, J. *et al.* Adipocyte p62/SQSTM1 Suppresses Tumorigenesis through Opposite Regulations of Metabolism in Adipose Tissue and Tumor. *Cancer Cell* **33**, 770-784.e6 (2018).
267. Canoy, D. *et al.* Body fat distribution and risk of coronary heart disease in men and women in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition in Norfolk cohort: a population-based prospective study. *Circulation* **116**, 2933–2943 (2007).
268. van Roermund, J. G. H. *et al.* Periprostatic fat measured on computed tomography as a marker for prostate cancer aggressiveness. *World J Urol* **28**, 699–704 (2010).
269. van Roermund, J. G. H. *et al.* Periprostatic fat correlates with tumour aggressiveness in prostate cancer patients. *BJU Int.* **107**, 1775–1779 (2011).
270. Zhang, Q. *et al.* Periprostatic adiposity measured on magnetic resonance imaging correlates with prostate cancer aggressiveness. *Urol J* **11**, 1793–1799 (2014).
271. Bhindi, B. *et al.* Measurement of peri-prostatic fat thickness using transrectal ultrasonography (TRUS): a new risk factor for prostate cancer. *BJU Int.* **110**, 980–986 (2012).
272. Woo, S., Cho, J. Y., Kim, S. Y. & Kim, S. H. Periprostatic fat thickness on MRI: correlation with Gleason score in prostate cancer. *AJR Am J Roentgenol* **204**, W43-47 (2015).
273. Cao, Y. *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* **8**, 44040–44049 (2017).
274. Dahrnan, 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* **7**, 4630 (2017).

275. Salji, M. *et al.* Peri-prostatic Fat Volume Measurement as a Predictive Tool for Castration Resistance in Advanced Prostate Cancer. *Eur Urol Focus* (2017). doi:10.1016/j.euf.2017.01.019
276. Tan, W. P., Lin, C., Chen, M. & Deane, L. A. Periprostatic Fat: A Risk Factor for Prostate Cancer? *Urology* **98**, 107–112 (2016).
277. Bubendorf, L. *et al.* Metastatic patterns of prostate cancer: an autopsy study of 1,589 patients. *Hum. Pathol.* **31**, 578–583 (2000).
278. ObEpi-Roche 2012: enquête nationale sur l'obésité et le surpoids. Available at: <http://www.roche.fr/innovation-recherche-medicale/decouverte-scientifique-medicale/cardio-metabolisme/enquete-nationale-obepi-2012.html>. (Accessed: 18th September 2018)
279. Adult Obesity Facts | Overweight & Obesity | CDC. (2018). Available at: <https://www.cdc.gov/obesity/data/adult.html>. (Accessed: 18th September 2018)
280. Fu, Y., Luo, N., Klein, R. L. & Garvey, W. T. Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. *J. Lipid Res.* **46**, 1369–1379 (2005).
281. Itoh, M. *et al.* Increased adiponectin secretion by highly purified eicosapentaenoic acid in rodent models of obesity and human obese subjects. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **27**, 1918–1925 (2007).
282. Yeop Han, C. *et al.* Differential effect of saturated and unsaturated free fatty acids on the generation of monocyte adhesion and chemotactic factors by adipocytes: dissociation of adipocyte hypertrophy from inflammation. *Diabetes* **59**, 386–396 (2010).
283. Saraswathi, V. *et al.* Fish oil increases cholesterol storage in white adipose tissue with concomitant decreases in inflammation, hepatic steatosis, and atherosclerosis in mice. *J. Nutr.* **137**, 1776–1782 (2007).
284. Brauchle, E. *et al.* Biomechanical and biomolecular characterization of extracellular matrix structures in human colon carcinomas. *Matrix Biol.* **68–69**, 180–193 (2018).
285. Iyengar, P. *et al.* Adipocyte-derived collagen VI affects early mammary tumor progression in vivo, demonstrating a critical interaction in the tumor/stroma microenvironment. *J. Clin. Invest.* **115**, 1163–1176 (2005).
286. Aigner, T., Hambach, L., Söder, S., Schlötzer-Schrehardt, U. & Pöschl, E. The C5 domain of Col6A3 is cleaved off from the Col6 fibrils immediately after secretion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **290**, 743–748 (2002).
287. Lamandé, S. R., Mörgelin, M., Adams, N. E., Selan, C. & Allen, J. M. The C5 domain of the collagen VI alpha3(VI) chain is critical for extracellular microfibril formation and is present in the extracellular matrix of cultured cells. *J. Biol. Chem.* **281**, 16607–16614 (2006).
288. Reimann, C. *et al.* Molecular imaging of the extracellular matrix in the context of atherosclerosis. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **113**, 49–60 (2017).
289. Karsdal, M. A. *et al.* Serum endotrophin identifies optimal responders to PPAR γ agonists in type 2 diabetes. *Diabetologia* **60**, 50–59 (2017).
290. Fenton, A. *et al.* Serum endotrophin, a type VI collagen cleavage product, is associated with increased mortality in chronic kidney disease. *PLoS ONE* **12**, e0175200 (2017).

Role of abundant periprostatic adipose tissue (PPAT) in prostate cancer dissemination

THESIS ABSTRACT

Prostate cancer (PCa) is the most common cancer in men in Western countries. It is a heterogeneous disease ranging from indolent to very aggressive, life-threatening forms. The molecular mechanisms implicated in tumor progression have not been clearly identified yet. The aim of my thesis was to characterize the role of one of the main components of prostate cancer microenvironment, the periprostatic adipose tissue (PPAT), an adipose depot surrounding the prostate. Indeed, PPAT invasion by tumor cells is recognized as a poor prognosis factor in PCa, suggesting that PPAT (and more specifically their main cellular component, adipocytes) could be a key player in tumor progression.

Recent studies suggest that some patients could present an unusual accumulation of PPAT, independently from BMI (Body Mass Index), those abundant PPAT being correlated with more aggressive prostate cancers. We have shown, by measuring PPAT volume on the MRI of 147 patients with prostate cancer, that PPAT abundance is dissociated from BMI and the accumulation of other adipose depots. We identified a subgroup of patients with a particularly abundant PPAT, who exhibit more aggressive tumors. For the first time, we combined this clinical study to a biological characterization of these abundant PPAT, which shows that their phenotype is distinct from obese AT. Indeed, we found that adipocytes from these PPAT are hypertrophic but this phenotype was not associated with an infiltration of immune cells (especially macrophages) and local inflammation. By a proteomic approach, we showed a decreased expression of different extracellular matrix components, especially collagens (collagens I, IV, VI and XII) in abundant PPAT, those results being confirmed by other independent approaches. This result suggests that abundant PPAT have a loosened extracellular matrix, which would allow a “healthy” expansion of AT. Conversely, an increase in endotrophin (ETP) expression (a bioactive fragment of collagen VI α 3 cleavage) was found in the secretome of abundant PPAT. ETP has been previously described to promote within breast tumors several events such as fibrosis, angiogenesis and inflammation, resulting in aggressive tumors. Therefore, our results suggest that the extensive ECM remodeling that occurs in abundant PPAT could explain both their “healthy” expansion and their role in prostate cancer progression.

In conclusion, our results highlight the importance of abundant PPAT in prostate cancer progression. This work should lead to the elaboration of new prognosis factors and/or new therapeutic targets for prostate cancer.

KEY WORDS: prostate cancer, tumor microenvironment, adipocytes, tumor progression, extracellular matrix

Rôle du tissu adipeux périprostatique (TAPP) abondant dans la dissémination du cancer de la prostate

Thèse présentée et soutenue par **Aurélie Toulet**

Date de soutenance : 21 novembre 2018

RESUME DE LA THESE

Le cancer de la prostate (CaP) est la première cause de cancer chez l'homme dans les pays industrialisés. Il s'agit d'une maladie hétérogène pouvant être indolente ou très agressive et mettant alors en jeu le pronostic des patients. Les mécanismes moléculaires impliqués dans cette progression tumorale sont mal connus. L'objectif de ma thèse était de caractériser le rôle d'un des composants majeurs du microenvironnement de ces tumeurs, le tissu adipeux périprostatique (TAPP), dépôt adipocytaire entourant la glande prostatique. En effet, l'invasion de ce TAPP par les cellules tumorales est reconnue comme un facteur de mauvais pronostic, suggérant que ce TAPP (en particulier les adipocytes) pourrait être un acteur clé de la progression tumorale.

Des études récentes montrent que certains patients pourraient présenter une accumulation anormale de ce TAPP indépendamment de l'indice de masse corporelle (IMC), ces TAPP abondants étant associés à des cancers agressifs. Nous avons montré, en mesurant le volume de TAPP sur les IRM de 147 patients atteints de CaP, que l'abondance du TAPP est dissociée de l'IMC et des autres dépôts adipeux. Ainsi, un sous-groupe de patients présente un TAPP particulièrement abondant et l'accumulation de ce dépôt adipeux ectopique est associée à des cancers plus agressifs. Nous avons, pour la première fois, combiné à cette étude clinique une caractérisation biologique de ces TAPP abondants qui révèle qu'ils sont très différents d'un TA obèse. En effet, si on retrouve une hypertrophie adipocytaire dans ces TAPP, il n'existe pas d'infiltration par des cellules immunes (en particulier macrophages). Par une approche protéomique, nous avons montré une diminution d'expression de plusieurs collagènes (collagènes I, IV, VI et XII) dans les TAPP abondants, ces résultats ayant été validés par des approches indépendantes. Ce résultat suggère une matrice extracellulaire plus lâche dans les TAPP abondants, ce qui permettrait une expansion « saine » du TA. A l'inverse, une augmentation de l'expression d'endotrophine (ETP), un peptide bioactif issu du clivage du collagène VI α 3, a été retrouvée dans le sécrétome des TAPP abondants. L'ETP a été décrite comme un acteur majeur de la progression tumorale dans le cancer du sein qui, en favorisant la fibrose, l'angiogenèse et l'inflammation, induit des tumeurs plus agressives. Ainsi, nos résultats suggèrent qu'il existe un remodelage extensif de la matrice extracellulaire dans les TAPP abondants, qui pourrait expliquer à la fois l'expansion « saine » du TA et son rôle dans la progression du cancer de la prostate.

En conclusion, ces travaux montrent l'importance du TAPP abondant dans la progression du cancer de la prostate. Ce travail devrait permettre de mettre en évidence de nouveaux facteurs pronostiques et/ou de définir de nouvelles cibles thérapeutiques dans le cadre du CaP.

MOTS-CLES : cancer de la prostate, microenvironnement tumoral, adipocytes, progression tumorale, matrice extracellulaire

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

IPBS (Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale)
205 route de Narbonne
31400 Toulouse

DIRECTEUR DE THESE : Pr. Catherine MULLER