

Le tissu adipeux : une écologie cellulaire subtile et complexe

par Béatrice Cousin, Sylvie Caspar-Bauguil, Valérie Planat-Bénard, Patrick Laharrague, Luc Pénicaud & Louis Casteilla

IFR31, Institut Louis Bugnard, UMR 5018 CNRS UPS, BP 84225, 31432 Toulouse Cedex 4, France.
Tél. : 33 5 61 32 34 98. Fax : 33 5 62 17 09 05. E-mail : cousinb@toulouse.inserm.fr

Reçu le 23 novembre 2005

RÉSUMÉ

Le tissu adipeux est l'un des tissus les plus abondants du corps humain. Le tissu adipeux blanc est composé de deux populations cellulaires qui peuvent être séparées facilement, les adipocytes matures d'une part et, d'autre part, la fraction stroma-vasculaire (SVF). Celle-ci contient deux compartiments, l'un stromal et l'autre hématopoïétique, qui ont été récemment caractérisés. La population stromale (ou ADAS) présente des analogies fonctionnelles ainsi qu'une relation de lignage avec les macrophages. Ces cellules qui peuvent également se différencier en adipocytes ou en cellules endothéliales peuvent être considérées comme des progéniteurs vasculaires. Il a également été montré que certaines cellules présentes dans le

tissu adipeux pouvaient se différencier *in vitro* ou *in vivo* en ostéoblastes, chondrocytes, cardiomyocytes, cellules musculaires, hématopoïétiques ou neuronales.

Le tissu adipeux apparaît donc comme un tissu complexe composé de cellules dont la nature et les potentiels de différenciation varient en fonction de leur localisation ou de l'environnement physiologique ou pathologique, et ces différentes sous populations peuvent interagir entre elles par le biais de sécrétions paracrines. Le tissu adipeux est donc un tissu hétérogène et plastique, facile à prélever, qui pourrait représenter une source potentielle de cellules dont l'utilisation en thérapie cellulaire semble prometteuse.

SUMMARY Adipose tissue: a subtle and complex cell system

White adipose tissue (WAT) represents a large amount of all adult tissues. For a long time, it was considered as a poorly active, overgrown and undesirable tissue. It was mainly studied for its involvement in energy metabolism and disorders, as well as for its endocrine functions. WAT is composed of two main populations, mature adipocytes and stroma vascular fraction (SVF) that can be separated easily. The SVF contains two compartments, stromal and hematopoietic that have been recently characterized. The stromal population (or ADAS for Adipose Derived Stromal Cells) presents functional features of, as well as lineage relationship with, macrophages. These stromal cells, that are able to differentiate into adipocytes, also display endothelial potential, and could be considered as vascular progenitors. Differentia-

tion of various adipose-derived cell subsets towards functional cardiomyocytes, osteoblasts, chondrocytes, muscle, hematopoietic and neural cells was also obtained *in vitro* or *in vivo*.

Adipose tissue thus appears as a complex tissue composed of different cell subsets that could vary according to the nature and the location of fat pads, or to the physiological or pathological status. WAT appears as a very plastic and heterogeneous tissue that is very easy to sample. This represents a great advantage when considering adipose tissue as a potential and suitable source of stem cell for cell therapy. Further investigations in this way have to lead to the emergence of new insights fundamental to progress in our knowledge of adipose tissue biology.

INTRODUCTION

Le tissu adipeux blanc est largement répandu dans le règne animal, et joue le rôle de principale réserve énergétique de l'organisme. Il a longtemps été considéré

comme un simple tissu de remplissage et utilisé comme tel en chirurgie plastique et reconstructrice. Il est par ailleurs très étudié pour son implication dans les syndromes métaboliques tels que l'obésité, le diabète ou les lipodystrophies, ainsi que pour ses fonctions endocrines.

Depuis quelques années, les cellules qui le constituent représentent un axe de recherche majeur pour leur plasticité, et leur intérêt potentiel en thérapie cellulaire. En effet, le tissu adipeux blanc est un tissu complexe, composé de différents types cellulaires interagissant entre eux, et dont les potentiels de différenciation sont multiples.

LES POPULATIONS CELLULAIRES DU TISSU ADIPEUX BLANC

Les cellules du tissu adipeux blanc peuvent être séparées en deux grandes populations cellulaires, les adipocytes matures et la fraction stroma-vasculaire (SVF), par

digestion enzymatique du tissu puis centrifugation. Les deux fractions sont ensuite séparées grâce à la différence de densité entre les adipocytes et les autres types cellulaires. Les adipocytes, gorgés de lipides, remontent à la surface à l'inverse des autres types cellulaires qui sédimentent et qui constituent la SVF. Cette fraction cellulaire est hétérogène et contient deux compartiments à l'instar de ceux décrits dans la moelle osseuse, l'un dit «stromal», et l'autre composé de cellules hématopoïétiques (Fig. 1) (Prunet-Marcassus *et al.*, 2006).

Le compartiment stromal est composé de cellules d'aspect fibroblastique qui adhèrent en culture. Cette population cellulaire relativement homogène présente des caractéristiques antigéniques proches de celles des cellules souches mésenchymateuses (MSC) de la moelle

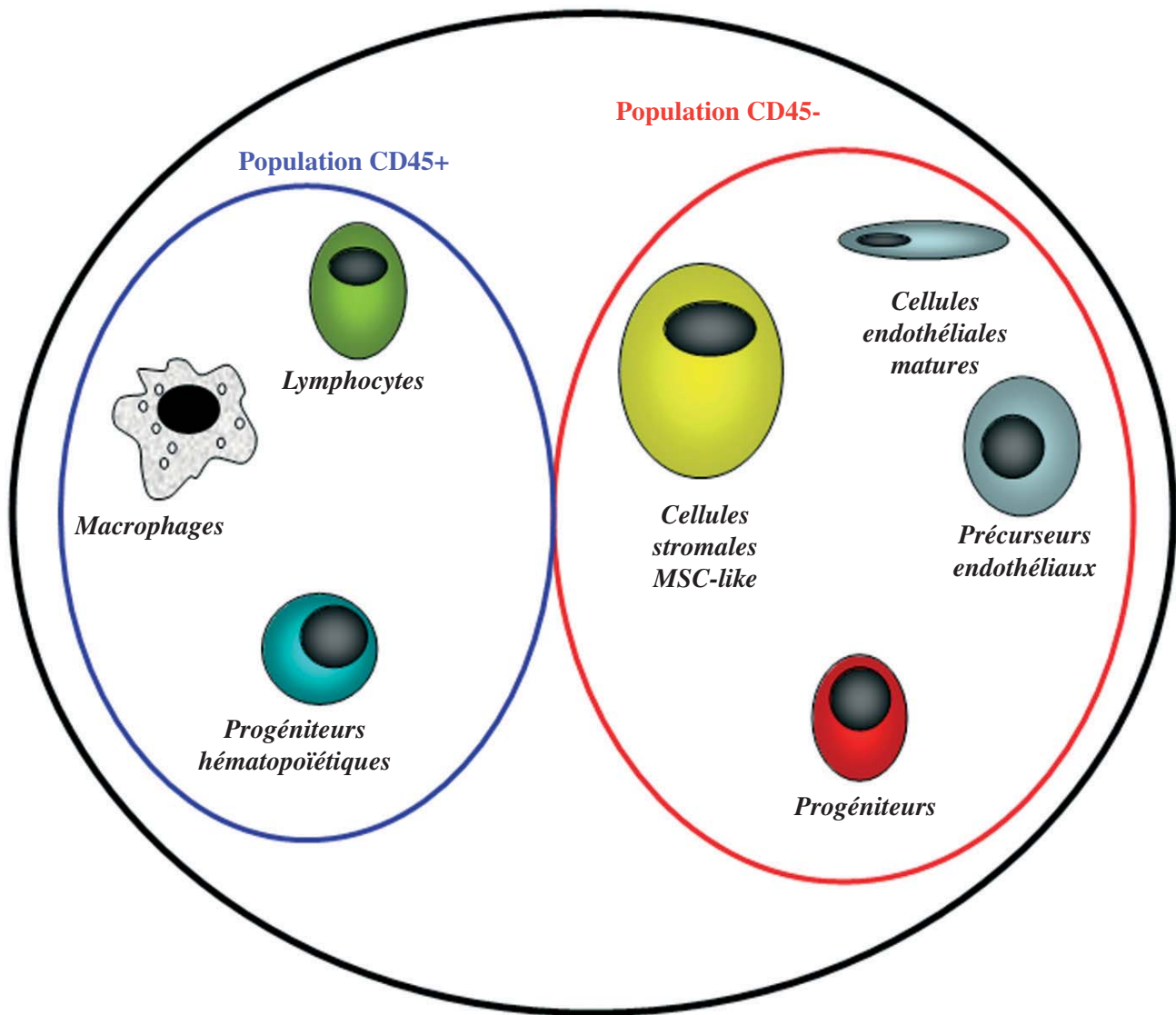


FIG. 1. – Représentation schématisée des deux compartiments cellulaires de la SVF, d'une part le compartiment hématopoïétique CD45+ composé de lymphocytes, macrophages et progéniteurs hématopoïétiques et d'autre part le compartiment stromal CD45-, composé majoritairement de cellules stromales ou préadipocytes, de cellules endothéliales matures et immatures et de progéniteurs qui restent à caractériser.

osseuse, mais exprime le CD34, particularité des cellules stromales du tissu adipeux (Gronthos *et al.*, 2001 ; De Ugarte *et al.*, 2003 ; Miranville *et al.*, 2004 ; Prunet-Marcassus *et al.*, 2006). Parmi ces cellules, un très faible pourcentage exprime les marqueurs de surface caractéristiques des cellules endothéliales, et d'autres, les pré-adipocytes, vont progressivement accumuler des lipides et acquérir les caractéristiques des adipocytes matures. Malgré le grand nombre d'études faites sur le processus de différenciation adipocytaire, le préadipocyte n'est actuellement pas un type cellulaire pleinement caractérisé. Il n'existe en effet aucun marqueur antigénique spécifique de cette cellule, mais il a été récemment proposé que les précurseurs adipocytaires se trouvent dans la fraction CD34+/CD31-/CD105- (Sengenès *et al.*, 2005). La seule définition exacte du préadipocyte est une définition fonctionnelle, c'est une cellule capable de se différencier en adipocyte. Ces cellules adhérentes en culture ont été baptisées ADAS pour *Adipose-Derived Adult Stromal Cells*. En effet, il a été montré par plusieurs équipes que, outre leur capacité à se différencier en adipocytes, ces cellules peuvent également se différencier *in vitro* en ostéoblastes, chondrocytes, cellules musculaires ou même en cellules ayant quelques caractéristiques neuronales (Guilak *et al.*, 2004 ; Hattori *et al.*, 2004 ; Safford *et al.*, 2004 ; Zuk *et al.*, 2002).

Le second compartiment de la SVF est composé de cellules hématopoïétiques, caractérisées par l'expression du marqueur CD45. Trois populations cellulaires peuvent être distinguées : les lymphocytes, les macrophages et les progéniteurs hématopoïétiques (Caspar-Bauguil *et al.*, 2005 ; Prunet-Marcassus *et al.*, 2006). Le phénotype de la population lymphocytaire varie en fonction de la localisation du dépôt adipeux. En effet, dans le dépôt épidydimaire (profond), les lymphocytes présentent un phénotype ancestral (NK, NKT et T $\gamma\delta$) alors que les lymphocytes du dépôt inguinal (sous-cutané) présentent un phénotype adaptatif ($\alpha\beta$) (Caspar-Bauguil *et al.*, 2005). La présence de macrophages dans le tissu adipeux a été rapportée à plusieurs reprises à la fois chez la Souris et chez l'Homme et leur proportion varie dans certaines conditions physiopathologiques (Cousin *et al.*, 2001 ; Curat *et al.*, 2004 ; Villena *et al.*, 2001 ; Weisberg *et al.*, 2003). Enfin, le tissu adipeux contient une petite proportion de progéniteurs hématopoïétiques caractérisés par la co-expression des marqueurs CD34 et CD45 (Cousin *et al.*, 2003).

La présence de lymphocytes résidents dans le tissu adipeux, conjointement à celle de macrophages est un argument supplémentaire pour proposer que le tissu adipeux pourrait jouer un rôle dans les processus inflammatoires et/ou immunitaires.

DU PRÉADIPOCYTE AU MACROPHAGE

Ces relations entre tissu adipeux et système immunitaire, dans un premier temps uniquement basées sur l'activité sécrétoire des cellules adipeuses, ont été renforcées par la découverte des propriétés "macrophage-

like" des préadipocytes. En effet, nous avons montré que les préadipocytes murins en culture primaire ou en lignées présentent une activité de phagocytose ainsi qu'une activité microbicide partiellement dépendante de la production par les préadipocytes de radicaux libres oxygénés (Cousin *et al.*, 1999). Ces activités sont différentes en fonction des dépôts adipeux et des situations physiologiques ou physiopathologiques (Cousin *et al.*, 2001 ; Villena *et al.*, 2001). Elles sont également retrouvées chez l'Homme, où les préadipocytes sont en outre capables de phagocyter des corps apoptotiques (Saillan-Barreau *et al.*, 2003). Ces propriétés sont caractéristiques des macrophages qui jouent un rôle majeur dans l'inflammation et le remodelage tissulaire.

La multiplicité des propriétés communes entre préadipocytes et macrophages nous a conduits à émettre l'hypothèse que ces deux cellules provenaient probablement d'un même lignage. Afin de tester cette hypothèse, nous avons choisi une approche de comparaison génique à grande échelle, grâce à l'utilisation de micro-arrays. Cette technique très puissante permet de comparer l'expression de quelques milliers de gènes dans deux populations distinctes. L'analyse informatique de ces données nous a permis de définir la parenté qui existe entre les populations macrophagiques et adipocytaires en séparant les cellules issues de lignées, de celles issues de culture primaire. Que ce soit au sein des lignées ou des cultures primaires, les deux profils qui sont les plus proches sont ceux des préadipocytes et des macrophages, ce qui renforce l'hypothèse d'un lignage commun (Charriere *et al.*, 2003). Nous avons ultérieurement confirmé cette proximité entre préadipocytes et macrophages par des expériences de greffe cellulaire. Pour cela, nous avons injecté des préadipocytes préalablement marqués dans la cavité péritonéale de souris Nude, et avons suivi leur devenir. Six heures après leur injection dans la cavité péritonéale, la grande majorité des préadipocytes possède une activité de phagocytose et surtout exprime les marqueurs spécifiques des macrophages Mac-1 et F4/80. Cette «transdifférenciation» est stable puisque les mêmes observations ont été faites une semaine après l'injection. Nous avons ensuite montré que la transdifférenciation des préadipocytes ne s'observe que si les deux types cellulaires peuvent établir un contact physique entre eux (Charriere *et al.*, 2003).

En fait, il devient actuellement très difficile de discerner sans coup férir ces deux types cellulaires impliqués dans deux types de maladies métaboliques nutritionnelles, l'obésité et l'athérosclérose. Le point commun qui relie ces deux pathologies pourrait être l'inflammation et les cellules qui y sont impliquées. Ces analogies fonctionnelles entre préadipocytes et macrophages suggèrent que les préadipocytes pourraient être impliqués directement, au même titre que les macrophages, dans les processus inflammatoires voire immunitaires de l'organisme, comme dans le remodelage tissulaire des tissus adipeux. A l'appui de cette hypothèse, deux études récentes font émerger le concept que l'obésité peut être considérée comme un état inflammatoire chronique au même titre que l'athérosclérose (Wellen & Hotamisligil,

2003 ; Xu *et al.*, 2003). En effet, plusieurs articles montrent une infiltration de macrophages dans le tissu adipeux d'obèses, dont une partie seulement provient des cellules de moelle osseuse (Curat *et al.*, 2004 ; Weisberg *et al.*, 2003 ; Xu *et al.*, 2003). On peut donc penser qu'une fraction significative des macrophages présents dans le tissu adipeux d'obèses proviendrait de la différenciation des préadipocytes eux-mêmes.

PRÉADIPOCYTES ET CELLULES ENDOTHÉLIALES : UN PRÉCURSEUR COMMUN ?

L'analyse par cytométrie de flux fait clairement apparaître que la population stromale sélectionnée par ses capacités d'adhésion et qui, ultérieurement, peut se différencier en adipocytes exprime majoritairement et fortement l'antigène CD34 à l'exclusion de tout autre marqueur de surface correspondant à un phénotype différencié (Gronthos *et al.*, 2001 ; Sengenès *et al.*, 2005). Nous avons interprété ce phénotype comme la signature d'un potentiel angiogénique. C'est ainsi que nous avons pu, en collaboration étroite avec l'équipe de J. S. Silvestre et B. Levy (U541, Hôpital Lariboisière), montrer que les préadipocytes pouvaient acquérir le phénotype de cellules endothéliales fonctionnelles *in vitro* et *in vivo*. En effet, *in vitro*, les ADAS forment des alignements en réseaux, et expriment un certain nombre de marqueurs de surface caractéristiques des cellules endothéliales tels que CD31 ou le Facteur Von Willebrand. *In vivo*, l'injection d'ADAS dans un membre ischémié stimule fortement la néovascularisation *via* la sécrétion de facteurs pro-angiogéniques et leur transformation *in situ* en cellules endothéliales (Planat-Benard *et al.*, 2004). Résultats remarquables, l'efficacité « angiogénique » des cellules des tissus adipeux est aussi importante que celle des cellules mono-nucléées de la moelle osseuse qui sont testées à l'heure actuelle dans des protocoles de recherche clinique. Les mêmes résultats ont été reproduits avec des cellules graisseuses différenciées selon un protocole utilisé précédemment (Négreel *et al.*, 1985) ou avec une fraction purifiée (CD34+/CD31-) de la SVF (Miranville *et al.*, 2004). L'ensemble de ces résultats nous a conduits à proposer le schéma selon lequel une même cellule progénitrice pourrait se différencier en adipocyte et en cellule endothéliale (Planat-Benard *et al.*, 2004). Il existerait donc une relation de lignage entre les deux types cellulaires.

Au sein des tissus adipeux, l'environnement en oxygène par les contraintes qu'il exerce sur la mitochondrie semble jouer un rôle majeur dans cette plasticité. En effet, il contrôle la sécrétion des facteurs angiogéniques, dont la leptine (Lolmede *et al.*, 2003). De ce fait les adipocytes, en étant une source importante de facteurs angiogéniques, favoriseraient la vascularisation du tissu adipeux lui-même et donc sa propre croissance (Dobson *et al.*, 1990 ; Rehman *et al.*, 2004). Dans le même temps, les mêmes signaux inhibent les processus de développement et de différenciation de l'adipocyte et stimulent très fortement l'angiogénèse (Yun *et al.*, 2002). Les nou-

velles capacités des préadipocytes à assurer des fonctions de type macrophagique ou endothélial rendent encore plus complexe cette alchimie qui tendrait à prouver que les progéniteurs adipocytaires auraient les propriétés nécessaires et suffisantes pour assurer la stabilité fonctionnelle et le développement des tissus adipeux. Ce nouveau schéma de développement « autonome » du tissu adipeux pourrait ouvrir de nouvelles voies thérapeutiques de traitement contre l'obésité.

LES AUTRES CELLULES SOUCHES DES TISSUS ADIPEUX

La plasticité importante des précurseurs adipocytaires et la présence d'un pourcentage significatif de cellules CD34+, CD45+ nous a conduits à émettre l'hypothèse que certaines des cellules dérivées des tissus adipeux pouvaient avoir des potentialités hématopoïétiques plus vastes et, en particulier, soutenir et permettre la reconstitution hématopoïétique. Cette hypothèse a été validée *in vitro* et *in vivo*. En effet, l'injection de cellules purifiées à partir des tissus adipeux permet la reconstitution hématopoïétique de souris irradiées à doses létales, et cette reconstitution est aussi efficace que l'injection de cellules médullaires (Cousin *et al.*, 2003). Nous avons entrepris une caractérisation plus complète des événements qui permettent d'expliquer la survie des souris reconstituées avec des cellules des tissus adipeux.

Dans un premier temps, des souris femelles irradiées ont été reconstituées avec des cellules isolées des tissus adipeux de souris mâles. Ce protocole de reconstitution permet de suivre le devenir des cellules greffées en détectant le gène *sry* qui est localisé sur le chromosome Y. Huit à 10 semaines après la greffe, nous avons détecté par PCR la présence du gène *sry* dans les tissus hématopoïétiques (moelle osseuse, thymus et rate) et dans une moindre mesure dans le sang des souris reconstituées. Le degré de chimérisme des animaux est de l'ordre de 2 % (Cousin *et al.*, 2003).

Dans un second temps, les cellules issues de la moelle osseuse et de la rate des souris femelles reconstituées par de la SVF issue de tissu adipeux de souris mâles ont été ensemencées dans un milieu semi-solide apte à promouvoir la différenciation myéloïde des progéniteurs hématopoïétiques. L'analyse par PCR des clones obtenus a permis de détecter le gène *sry* dans un certain nombre d'entre-eux, ce qui indique que certaines cellules greffées (provenant de la SVF) se sont comportées comme des progéniteurs hématopoïétiques (Cousin *et al.*, 2003).

Par ailleurs, des résultats obtenus au laboratoire montrent que les ADAS en culture sont capables de promouvoir l'hématopoïèse à court terme. En effet, lorsque des cellules CD34+ issues de moelle osseuse sont mises en culture sur des ADAS, elles-mêmes différenciées ou non en adipocytes matures, elles sont capables de se différencier pour donner tous les lignages hématopoïétiques (Corre *et al.*, sous presse). En revanche, les ADAS ne supportent pas l'hématopoïèse à long terme, au contraire des cellules de moelle osseuse, puisqu'elles ne permet-

tent pas l'auto-renouvellement des cellules souches (Corre *et al.*, sous presse).

L'ensemble de ces données permet de conclure que les cellules des tissus adipeux stimulent et permettent la reprise de l'hématopoïèse endogène mais participent aussi directement à la reconstitution de cette hématopoïèse grâce à des progéniteurs hématopoïétiques présents dans le tissu.

LA COMPLEXITÉ DU TISSU ADIPEUX

L'ensemble des études faites sur le tissu adipeux montre que c'est un membre de l'organisme à part entière, qui intervient directement ou indirectement dans toutes les grandes fonctions. Ce tissu est très hétérogène et constitué de nombreuses populations cellulaires qui interagissent entre elles (Fig. 2). Dernier tissu à se déve-

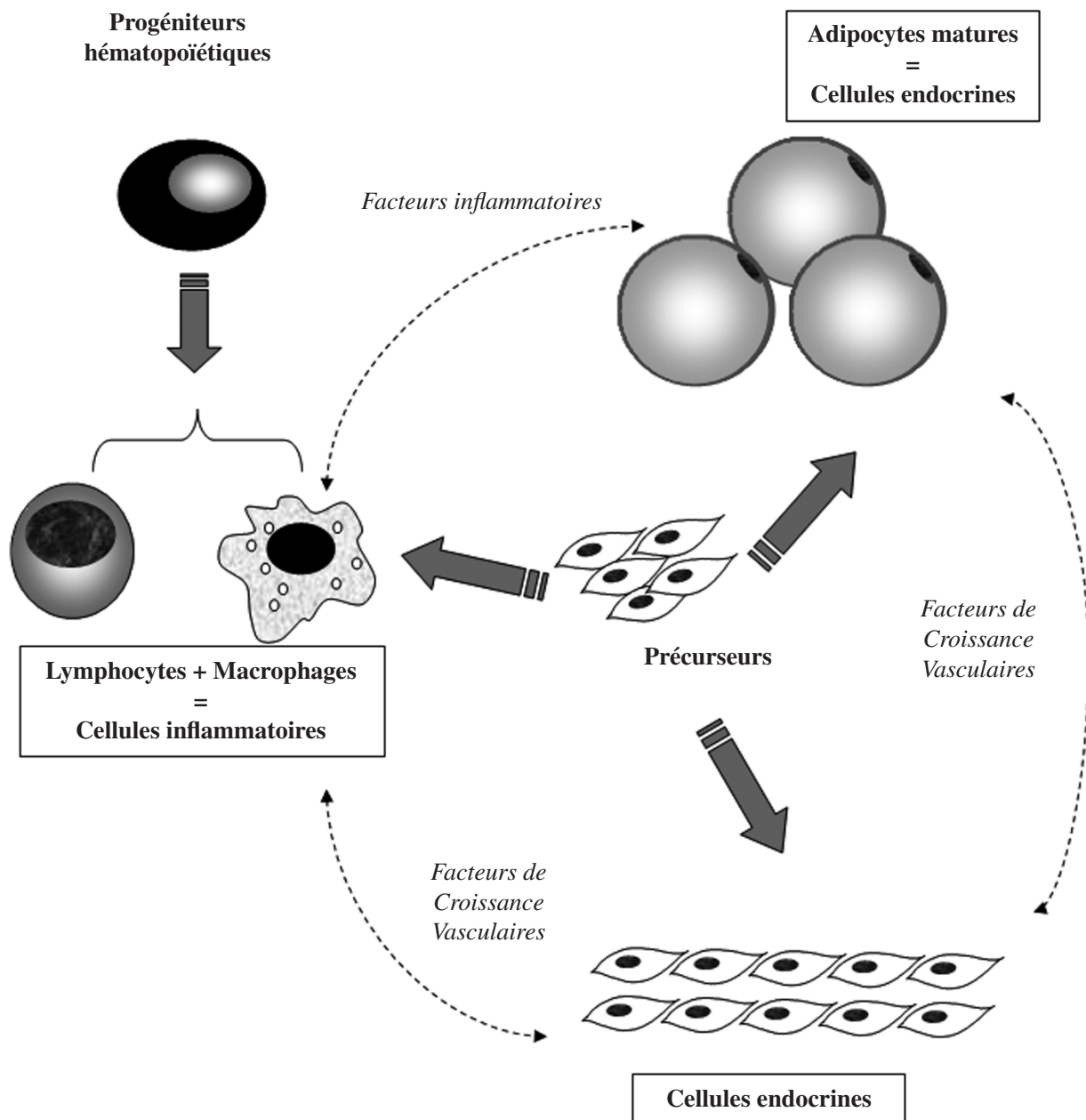


FIG. 2. – Le tissu adipeux blanc est un tissu hétérogène et plastique, composé de plusieurs populations cellulaires qui présentent des potentiels de différenciation multiples et interagissent entre elles *via* des sécrétions paracrines.

Il a été montré que les précurseurs adipocytaires, outre leur capacité à se différencier en adipocytes, peuvent également se différencier *in vivo* en macrophages et cellules endothéliales. Les macrophages, ainsi que les lymphocytes résidents du tissu adipeux, pourraient provenir en partie des progéniteurs hématopoïétiques présents dans le tissu.

opper, il contient des précurseurs qui peuvent être recrutés pour se différencier en adipocytes et/ou en d'autres types cellulaires en fonction des besoins de l'organisme. En théorie, ceci permet de comprendre les capacités de développement du tissu adipeux chez l'adulte. Cependant, l'accroissement tissulaire et l'homéostasie du tissu ne peuvent se faire que grâce à des interactions et une coordination étroite entre différents types cellulaires, dont les cellules constituant les vaisseaux et les cellules de l'immunité. Les nombreuses sécrétions des préadipocytes et adipocytes participent activement aux échanges d'informations qui permettent d'établir localement ces interactions (Fig. 2).

Enfin, un élément supplémentaire à prendre en considération est la différence de biologie et de plasticité des cellules en fonction de leur localisation. La comparaison des obésités androïdes et gynoïdes a montré depuis longtemps que le développement des tissus adipeux en fonction de leur localisation n'avait pas les mêmes conséquences sur l'organisme. À l'inverse, l'apparition de lipodystrophies associées aux traitements contre le HIV n'a fait que confirmer que chaque dépôt adipeux est régi par des lois spécifiques. Dans ce contexte, nous avons montré que cette différence de fonctionnalité entre les dépôts adipeux pouvait être au moins en partie expliquée par une variation dans la composition cellulaire de leur SVF (Prunet-Marcassus *et al.*, 2006). De même, les potentiels de différenciation des cellules dépendent de la localisation de celles-ci. Il est à noter que, chez la Souris, le tissu dont les cellules présentent le plus large spectre de différenciation est le tissu adipeux blanc sous-cutané (Prunet-Marcassus *et al.*, 2006).

CONCLUSION

Les résultats que nous avons présentés dans les paragraphes précédents entrent en résonance avec de très nombreuses études qui démontrent la présence de cellules souches pluripotentes dans la majorité des tissus adultes de l'organisme associée à une plasticité cellulaire beaucoup plus importante que celle attendue. Dans des conditions ou des environnements appropriés, ces cellules peuvent se différencier en un grand nombre de types cellulaires. On comprend alors aisément que l'identification de ces cellules représente un enjeu thérapeutique majeur car leur utilisation permet de concevoir la reconstruction fonctionnelle de n'importe quel tissu. Les résultats obtenus sur les autres potentiels des cellules dérivées des tissus adipeux sont cruciaux car ils ouvrent des voies originales et prometteuses à la thérapie régénératrice. Le tissu adipeux se comporterait comme l'ensemble des tissus avec cependant une forte originalité qui est son abondance et sa facilité d'accès. Bien évidemment, de nombreuses études complémentaires doivent être menées pour valider et sécuriser de telles applications. Il faut toutefois garder à l'esprit que, parmi toutes les sources de cellules souches envisagées, les tissus adipeux, par leur abondance, gagnent de plus en plus

la faveur des investigateurs et des cliniciens d'autant plus que l'utilisation déjà ancienne des tissus adipeux en chirurgie plastique a montré l'intérêt thérapeutique de ce tissu.

En conclusion, en lieu et place d'un tissu adipeux le plus souvent indésirable, les données récentes révèlent la présence de cellules ayant des potentiels de différenciation insoupçonnés en son sein. Si leur étude est porteuse d'ores et déjà d'espérance en thérapie cellulaire, elle apporte un éclairage insoupçonné sur les capacités et les mécanismes de développement des tissus adipeux. Grâce à ses nouvelles potentialités, les grandes quantités de tissu adipeux chez l'adulte après avoir été son handicap pourraient devenir sa richesse.

BIBLIOGRAPHIE

- Caspar-Bauguil S., Cousin B., Galinier A., Segafredo C., Nibbelink M., Andre M., Casteilla L. & Penicaud L., Adipose tissues as an ancestral immune organ: site-specific change in obesity. *FEBS Lett.*, 2005, 579, 3487-3492.
- Charriere G., Cousin B., Arnaud E., Andre M., Bacou F., Penicaud L. & Casteilla L., Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, 9850-9855.
- Corre J., Barreau C., Chavoïn J. P., Caton D., Fournial G., Penicaud L., Casteilla L. & Lahanague P., Human subcutaneous adipose cells support complete differentiation but not self-renewal of hematopoietic progenitors. *J. Cell Physiol.*, 2006 (sous presse).
- Cousin B., Andre M., Arnaud E., Penicaud L. & Casteilla L., Reconstitution of lethally irradiated mice by cells isolated from adipose tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003, 301, 1016-1022.
- Cousin B., André M., Casteilla L. & Pénicaud L., Altered macrophage-like functions of preadipocytes in inflammation and genetic obesity. *J. Cell. Physiol.*, 2001, 186, 380-386.
- Cousin B., Munoz O., André M., Fontanilles A. M., Dani C., Cousin J. L., Laharragur P., Casteilla L. & Pénicaud L., A role for preadipocytes as macrophage-like cells. *FASEB J.*, 1999, 13, 305-312.
- Curat C. A., Miranville A., Sengenès C., Diehl M., Tonus C., Busse R. & Bouloumie A., From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes*, 2004, 53, 1285-1292.
- De Ugarte D. A., Alfonso Z., Zuk P. A., Elbarbary A., Zhu M., Ashjian P., Benhaim P., Hedrick M. H. & Fraser J. K., Differential expression of stem cell mobilization-associated molecules on multi-lineage cells from adipose tissue and bone marrow. *Immunol. Lett.*, 2003, 89, 267-270.
- Dobson D. E., Kambe A., Block E., Dion T., Lu H., Castellot J. Jr & Spiegelman B. M., 1-Butyryl-glycerol: a novel angiogenesis factor secreted by differentiating adipocytes. *Cell*, 1990, 61, 223-230.
- Gronthos S., Franklin D. M., Leddy H. A., Robey P. G., Storms R. W. & Gimble J. M., Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells. *J. Cell. Physiol.*, 2001, 189, 54-63.
- Guilak F., Awad H. A., Fermor B., Leddy H. A. & Gimble J. M., Adipose-derived adult stem cells for cartilage tissue engineering. *Biorheology*, 2004, 41, 389-399.
- Hattori H., Sato M., Masuoka K., Ishihara M., Kikuchi T., Matsui T., Takase B., Ishizuka T., Kikuchi M., Fujikawa K. & Ishihara M., Osteogenic potential of human adipose tissue-

- derived stromal cells as an alternative stem cell source. *Cells Tissues Organs*, 2004, 178, 2-12.
- Lolmede K., Durand de Saint Front V., Galitzky J., Lafontan M. & Bouloumie A., Effects of hypoxia on the expression of proangiogenic factors in differentiated 3T3-F442A adipocytes. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2003, 27, 1187-1195.
- Miranville A., Heeschen C., Sengenès C., Curat C. A., Busse R. & Bouloumie A., Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation*, 2004, 110, 349-355.
- Négrel R., Grimaldi P. & Ailhaud G., Establishment and characterization of fibroblast-like cell lines derived from adipocytes with the capacity to redifferentiate into adipocyte-like cells. *Methods Enzymol.*, 1985, 109, 377-385.
- Planat-Benard V., Silvestre J., Cousin B., André M., Nibelink M., Tamarat R., Clergue M., Manneville C., Saillan-Barreau C., Duriez M., Tedgui A., Levy B., Pénicaud L. & Casteilla L., Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells. Physiological and therapeutic perspectives. *Circulation*, 2004, 109, 656-663.
- Prunet-Marcassus B., Cousin B., Caton D., André M., Pénicaud L. & Casteilla L., From heterogeneity to plasticity in adipose tissues: site-specific differences. *Exp. Cell Res.*, 2006, 312, 727-736.
- Rehman J., Traktuev D., Li J., Merfeld-Clauss S., Temm-Grove C. J., Bovenkerk J. E., Pell C. L., Johnstone B. H., Consideine R. V. & March K. L., Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation*, 2004, 109, 1292-1298.
- Safford K. M., Safford S. D., Gimble J. M., Shetty A. K. & Rice H. E., Characterization of neuronal/glial differentiation of murine adipose-derived adult stromal cells. *Exp. Neurol.*, 2004, 187, 319-328.
- Saillan-Barreau C., Cousin B., André M., Villena P., Casteilla L. & Pénicaud L., Human adipose cells as candidates in defense and tissue remodeling phenomena. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003, 309, 502-505.
- Sengenès C., Lolmede K., Zakaroff-Girard A., Busse R. & Bouloumie A., Preadipocytes in the human subcutaneous adipose tissue display distinct features from the adult mesenchymal and hematopoietic stem cells. *J. Cell. Physiol.*, 2005, 205, 114-22.
- Villena J., Cousin B., André M., Casteilla L. & Pénicaud L., Adipose tissues display differential phagocytic and microbicidal activities depending on their localization. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2001, 25, 1275-1280.
- Weisberg S., McCann D., Desai M., Rosenbaum M., Leibel R. & Ferrante A. Jr, Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.*, 2003, 112, 1796-1808.
- Wellen K. & Hotamisligil G., Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J. Clin. Invest.*, 2003, 112, 1785-1788.
- Xu H., Barnes G., Yang Q., Tan G., Yang D., Chou C., Sole J., Nichols A., Ross J., Tartaglia L. & Chen H., Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, 2003, 112, 1821-1830.
- Yun Z., Maecker H. L., Johnson R. S. & Giaccia A. J., Inhibition of PPAR γ 2 gene expression by the HIF-1-regulated gene DEC1/Stra13: a mechanism for regulation of adipogenesis by hypoxia. *Dev. Cell.*, 2002, 2, 331-341.
- Zuk P., Zhu M., Ashjian P., De Ugarte D., Huang J., Mizuno H., Alfonso Z., Fraser J., Benhaim P. & Hedrick M., Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol. Biol. Cell.*, 2002, 13, 4279-4295.