THESE DE DOCTORAT DE L'ETABLISSEMENT UNIVERSITE BOURGOGNE EUROPE

Ecole doctorale n°554

Ecole Doctorale Environnements Santé

DOCTORAT DE MEDECINE, BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

Par Romain BARBOSA

Les endocannabinoïdes produits par le tissu adipeux viscéral et sous-cutané chez la souris et l'Homme. Mécanismes de régulation et rôles dans la physiopathologie de l'obésité et du diabète de type 2.

Thèse présentée et soutenue à Dijon, le 20 octobre 2026

Composition du Jury :

Dr. GONZALEZ MARISCAL Isabel	Chargée de recherche INSERM UMR 1190, Translational Research Laboratory for Diabetes, Université de Lille	Rapporteure
Dr. BOULOUMIÉ-DIEHL Anne	Directrice de recherche, INSERM UMR 1297, Institut des Maladies Métaboliques et Cardiovasculaires, Université Toulouse III	Rapporteure
Dr. DUGAIL Isabelle	Directrice de recherche, INSERM UMR-S 1269, Nutrition et obésités : approches systémiques, Sorbonne Université	Examinatrice
Pr. GROBER Jacques	Professeur des Universités, INSERM UMR 1231, Center for Translational and Molecular Medicine : NUTOX , Université de Bourgogne Europe	Président du jury
Pr. FÈVE Bruno	Professeur des Universités-Praticien Hospitalier, INSERM UMR-S 938, Centre de recherche Saint-Antoine, Sorbonne Université	Examinateur
Pr. DEGRACE Pascal	Professeur des Universités, INSERM UMR 1231, Center for Translational and Molecular Medicine: PADYS, Université de Bourgogne Europe	Directeur de thèse

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier l'ensemble des membres du jury qui ont accepté d'expertiser et d'évaluer ce travail de thèse. Je tiens également à exprimer ma gratitude aux docteures **Isabel GONZALEZ-MARISCAL** et **Anne BOULOUMIÉ-DIEHL**, toutes deux rapporteures de ce manuscrit, pour le temps qu'elles ont consacré à l'analyse de mon travail. Je remercie également la docteure **Isabelle DUGAIL**, ainsi que les professeurs **Bruno FÈVE** et **Jacques GROBER**, pour leur participation en tant qu'examinateurs et pour l'intérêt qu'ils portent à ce travail. Pour la plupart d'entre vous, j'ai eu le plaisir de vous rencontrer lors de congrès, et votre intérêt pour ce projet a donné lieu à des échanges particulièrement enrichissants.

Je remercie à nouveau **Isabelle DUGAIL**, ainsi que **Mickaël RIALLAND**, en leur qualité de membres de mon comité de suivi de thèse, pour leurs nombreuses remarques et leurs précieux conseils tout au long de ces trois années de doctorat.

Il est évident que je dois remercier très sincèrement mon directeur de thèse, le professeur **Pascal DEGRACE**, pour son encadrement infaillible, au long de ces trois années de thèse. La porte de ton bureau a toujours été ouverte pour m'accueillir et m'aider lorsque j'en avais besoin, plusieurs fois par heure même. En trois ans, même lorsque les résultats n'étaient pas au rendez-vous, je t'ai toujours vu de bonne humeur, avec une positivité à toute épreuve et une très grande patience. Je voudrais surtout te remercier pour la liberté que tu m'as accordée. Tu m'as fait confiance pour mettre en œuvre de nombreux protocoles et mener des expériences que tu n'avais jamais réalisé es auparavant, et tu as toujours été à l'écoute de mes idées, même lorsqu'elles n'aboutissaient pas. Grâce à cela, je ne me suis jamais senti bridé dans mon travail. Ces trois ans sont passés trop vite, merci à toi. J'espère que tu garderas une bonne image de moi ! :')

Patricia, si, la première fois que je t'ai eue comme enseignante à l'IUT, au sein de ma filière Industries agroalimentaires et biologiques, on m'avait dit que je me retrouverais un jour en thèse à étudier les cellules souches avec toi, je n'y aurais pas cru. Pourtant, huit ans plus tard, en réalisant ma thèse ici, je ne regrette absolument pas ce choix. Même si cette partie de ma thèse a été particulièrement compliquée, je ne regrette pas non plus nos fameux vendredis passés ensemble à couper du gras de souris. Ton humour, ta curiosité, ta gentillesse et ta pédagogie me manqueront. Merci.

Heureusement que **Julia** a été là pour moi pendant ces trois années, comment aurais-je fait sinon ? Sur le plan professionnel, ton implication dans cette publication a été extrêmement importante. Je ne pourrai jamais assez te remercier : ce papier, c'est aussi le tien. Au-delà de cela, je pense que tu

m'as aidé, formé, guidé, montré et expliqué une quantité de choses au sein de ce laboratoire que je ne pourrais toutes citer. Je ne sais pas si cela relève de ton instinct infaillible ou de ta méthodologie incroyable, disons que c'est probablement un mélange des deux. Merci pour tout le travail que tu apportes à l'équipe et qui reste trop peu visible. Merci également pour tous ces moments où tu m'as accueilli dans ton bureau lorsque je devenais fou à propos de mes cellules. Tu trouvais toujours les mots pour me redonner le sourire. :)

Tony, je crois qu'une certaine doctorante était passée dans ton bureau pour te faire part de son mécontentement en me voyant arriver dans l'équipe, et pourtant, tu m'as laissé une chance. Tout au long de ma thèse, tu as toujours été là pour m'aider, de la préparation de l'école doctorale jusqu'à la soutenance. Merci pour tous les congrès, les publications et les moments auxquels tu m'as associé. Une grande partie de la réussite de ma thèse te revient également. Je sais que tu seras toujours là pour m'accompagner lorsque j'en aurai besoin. L'équipe PADYS est entre de bonnes mains. ;)

Laurent, même si nous n'avons jamais travaillé directement ensemble, à part lorsque je te vole des souris, ta bienveillance, ton humour et tes anecdotes me manqueront. Merci également pour toute l'aide que tu m'as apportée au cours de ces trois années d'enseignement à tes côtés.

Adélie, je suis très heureux que tu aies rejoint l'équipe PADYS, mais également très déçu que cela se soit produit à la fin de ma thèse. Je pense très sincèrement que ton aide et ton expertise auraient pu être très précieuses pour mon projet. J'espère que tu continueras à nous raconter toutes ces pépites que tu vis dans le cadre de tes enseignements. Merci.

Amélie, grâce à nous, les soirées entre doctorants et stagiaires pour oublier nos mauvais résultats ont été inaugurées, si ce n'est pas incroyable, quand même ! C'était frustrant au début, mais on en rigole bien aujourd'hui. Merci pour ton aide et tes conseils, notamment pour la préparation de mes diapositives et de mes schémas de thèse. Je te souhaite sincèrement une très belle dernière année, en espérant que tu arriveras à tout gérer au mieux. Force à toi pour le rush final !

Maéva, je suis tellement ravi de t'avoir rencontrée et de t'avoir eue à mes côtés au cours de ces trois dernières années. Depuis l'époque où je venais t'embêter à la bibliothèque jusqu'à aujourd'hui, je n'ai pas vu le temps passer. Je ne doute pas que ta thèse sera une très belle réussite. Ta spontanéité, ta positivité et ton humanisme ont beaucoup compté pour moi, notamment au cours de cette dernière année de thèse. Je ne doute pas que tu seras une superbe enseignante. Ou peut-être nous rejoindras-tu dans un zoo dans quelques années ? :')

Sidy, il existe une réalité dans laquelle tu aurais été à ma place en thèse. Néanmoins, au vu de ta réussite en seulement deux années de doctorat, je pense que tu es exactement là où tu dois être ! Tu

as accompli un travail formidable. Tu es curieux, agréable, profondément gentil et très malin à la fois. J'aurais aimé avoir davantage de temps pour discuter avec toi, notamment en cette fin d'année, mais je ne doute pas que nous nous reverrons à l'avenir.

Isaline, malgré ton départ au début de ma dernière année de thèse, je n'oublierai pas tous les moments que nous avons passés ensemble au B3. Heureusement que nous nous entendions bien, car sinon, les journées au B3 auraient pu être très longues. Merci pour tout le temps que tu m'as fait gagner au quotidien. Je suis néanmoins heureux que tu sois davantage épanouie dans ton nouveau travail. Profite bien de cette nouvelle vie !

Je tiens à remercier l'ensemble des autres membres de **l'équipe PADYS**, que je ne côtoyais pas au quotidien, mais qui m'ont toujours apporté de précieux conseils et recommandations lors de nos discussions : **Bruno, Benjamin, Damien, Isabelle, Teddy, Alexia, Laurence** et **Jean-Christophe**.

Merci également à l'ensemble des membres du **couloir Gabriel**, que j'ai eu la chance de côtoyer au quotidien. Votre bienveillance à mon égard m'a beaucoup touché, et je suis heureux d'avoir partagé avec vous ces moments, malheureusement trop peu nombreux. Merci à **Jérôme, Sandrine, Sébastien, Sabrina, Line, Jean, Jean-Marc, Goundo, Michel, Aziz, Naïm** et **Amira**.

Je remercie également l'ensemble des soldats qui ont quitté le champ de bataille : **Aloïs**, le capitaine de notre bureau ; **Raphaëlle** et son merveilleux Litchi ; **Emma**, avec qui je partage un intérêt profond pour Peppa Pig ; **Léa**, accompagnée de Robin, la membre la plus efficace des réunions FJC ; **Kang-Jia**, pour son « poulet délicieux » ; ainsi qu'**Anthony**, **Charlotte** et **Chloé**, que je n'ai malheureusement pas eu l'occasion de beaucoup côtoyer.

Merci **Lukas**, pour tout le travail que tu as accompli à mes côtés. Sans toi, je n'aurais jamais pu produire autant de données au cours de ma dernière année de thèse. Tu es un acharné du travail et un véritable battant. Je suis très heureux que tu aies trouvé une thèse aussi rapidement. Je n'ai jamais douté de toi, et je ne doute pas que tout se passera bien. Bonne chance ! :)

Cloé, la stagiaire parfaite ! Franchement, depuis ton entretien jusqu'à la soutenance de ton BUT3, je n'ai jamais douté de toi. Tu es très compétente, réfléchie et agréable au quotidien. Depuis le début de ta nouvelle vie à Nancy, tout se passe bien pour toi, et j'espère que cela continuera ainsi ! Merci pour ton travail et pour tous les fous rires que nous avons eus ensemble. Bonne chance pour la suite ! Je suis fier de toi ! :)

Je remercie également tous les autres stagiaires que je n'ai pas eu la chance d'encadrer, mais que j'ai eu la chance de côtoyer. Vous m'avez tous marqué, et je garde d'excellents souvenirs de vous. J'ai

passé d'excellents moments avec vous et partagé de très bons verres de Ricard : **Julie, Alexia, Cassandra, Lucas, Amandine** et **Maëva**.

Je n'oublierai jamais mes deux stages de master 1 et de master 2 au sein de l'INSERM U1093 « CAPS », encadrés par **Alexandre** et **Philippe**, qui m'ont donné le goût de la recherche. Je remercie également les autres titulaires, **Anne, Aurore** et **Christelle**, pour leur bienveillance au quotidien. Et bien sûr, je remercie mes amis capsiens, aujourd'hui presque tous dispersés sur le globe : **Rémi**, dont l'encadrement a été incroyable et qui a été le premier à me former dans un laboratoire de recherche, et qu'est-ce que tu le faisais bien ! **Clémence**, pour son aide et sa bienveillance au quotidien, une véritable amie, que je respecte profondément ; **Julien**, pour tous les fous rires et les découvertes mystiques que nous avons faites ensemble ; et **Estelle**, pour nos superbes pauses goûter et nos péripéties romaines. J'espère que nos coups de soleil, avec Rémi, t'auront bien fait rire. :')

Les membres de la « Tchim » : **Lylou**, que j'ai connue à la fin de ma L3 ; **Marvin** et **Léo**, principalement rencontrés en M2 ; ainsi que **Cassandre**, au cours de ma première année de thèse. Je vous remercie pour toutes les soirées, les discussions et les moments passés ensemble. Je sais que je n'ai pas été le plus présent, surtout vers la fin, et je le regrette. Mais je n'oublierai jamais votre aide n i l'amitié qui nous lie. Merci à vous.

Je remercie l'ensemble des membres de **l'INSERM U1231 CTM** et de **l'UMS BioSanD** pour leur aide au quotidien. Merci à **Nicolas** et **Serge** pour leur accompagnement constant en cytométrie en flux. Clairement, je partais de loin, et vous avez fait preuve d'une patience incroyable avec moi. Merci également à **Jean-Paul, Hélène** et **Victoria** pour les longues heures consacrées à l'analyse de mes endocannabinoïdes : le travail accompli est colossal. Enfin, merci à **Alexandrine et Lucile** pour leur précieuse assistance administrative au quotidien.

Je remercie l'ensemble de mes **amis**, qui sont encore là après tant d'années pour certains, depuis le collège, le lycée, l'IUT ou la faculté. Merci à la team du mercredi soir : **Clément (BB), Matthieu, Leïla, Alexis, Pierre, Jordan, Elena, Thomas, Jonathan, Guillaume et Raphaël** ainsi que tous les autres, pour ces soirées endiablées.

Je remercie également l'ensemble de ma famille pour son soutien au quotidien. Merci à mes parents, **Carlos** et **Brigitte** de m'avoir éduqué et accompagné tout au long de ma vie. Cette réussite est aussi la vôtre. Même si je ne le montre pas assez, je suis fier de vous. Courage à vous deux pour la suite : nous serons là pour vous. Merci également à **Raymond** et **Christiane**. Merci à **Noémie** pour l'amour et la protection que tu m'apportes depuis que je suis petit. Je ne t'ai jamais rendu la pareille, mais tu sais que je te le rendrai le jour où tu en auras vraiment besoin. Je n'en ai jamais eu l'occasion, car tu es une bien meilleure battante que moi.

Je remercie également l'ensemble de ma belle-famille pour son accueil et toutes les petites attentions dont elle fait preuve à mon égard, notamment **Cédric**, **Thierry, Brigitte** et **Josette**. Vous êtes formidables.

Océane, *alias* Petit monstre. Tu sais que je n'aime pas exprimer ce que je ressens sur un morceau de papier, tu le fais bien mieux que moi. Et, comme tu fais beaucoup de choses bien mieux que moi, tu prends soin de moi comme personne ne l'a jamais fait. Tu sais que j'étais réticent au début de notre relation, et pourtant, essayer a été le meilleur choix que j'ai fait : je ne le regrette en aucun cas. Nous sommes très différents sur le plan du caractère et, pourtant, si semblables dans nos valeurs. Nous sommes complémentaires. Nous avons été séparés par la distance cette année, et nous savons à quel point cela a été compliqué. Il ne reste désormais que quelques jours, mais je peux le dire, nous avons réussi. Je ne doute pas de notre avenir ensemble. Merci pour ton soutien, ton humour et ta patience. Je n'oublierai jamais ta petite bouille lorsque tu as vu un panda pour la première fois, ni tous les moments vécus au cours de nos voyages. Je t'aime « fort d'amour ».

Table des matières

REMERCIEMENTS **1**

TABLE DES MATIERES **6**

TABLE DES FIGURES **11**

TABLE DES TABLEAUX **13**

ABRÉVIATIONS **14**

CONTEXTE SCIENTIFIQUE **19**

PARTIE A : LE TISSU ADIPEUX **26**

1. GENERALITES SUR LE TISSU ADIPEUX **26**

A. LE TISSU ADIPEUX BLANC 27

i. Structure et composition *27*

1. Les adipocytes blancs 27

2. La fraction stromale vasculaire 28

ii. Localisation *34*

iii. Fonctions *36*

1. La lipogenèse : mise en réserve des graisses 36

2. La lipolyse : Mobilisation des graisses 39

3. Activité sécrétoire et endocrine 42

B. LE TISSU ADIPEUX BRUN 48

i. Structure et fonction *48*

ii. Localisation *49*

C. LE TISSU ADIPEUX BEIGE 49

2. ADIPOGENESE **50**

A. LES CELLULES STROMALES ET LES PROGENITEURS ADIPOCYTAIRES DU TA 51

i. Homéostasie métabolique des cellules stromales mésenchymateuses *51*

ii. Signaux de la niche du TA régulant les ADSC et les progéniteurs adipocytaires *53*

iii. Rôle sécrétoire des ADSC dans l'homéostasie de la niche du TA *56*

iv. Caractéristiques phénotypiques et potentiel de différenciation des ADSC *57*

B. MECANISMES MOLECULAIRES DE LA DIFFERENCIATION ADIPOCYTAIRE 59

i. De l'ADSC au préadipocyte engagé : l'étape d'engagement adipocytaire *59*

ii. Le microenvironnement de la niche : voies de signalisation régulatrices *62*

1. Les voies pro-adipogéniques 63

2. Les voies anti-adipogéniques 64

iii. Le contrôle épigénétique : Reprogrammation de la chromatine *66*

iv. La cascade transcriptionnelle de la différenciation adipocytaire terminale 68

3. CONSEQUENCES DE L'OBESITE SUR LA REGULATION DE L'ADIPOGENESE 72

A. MODES D'EXPANSION DU TISSU ADIPEUX AU COURS DE L'OBESITE : HYPERTROPHIE VERSUS HYPERPLASIE 72

i. Expansion saine (Hyperplasie adipocytaire) 72

ii. Expansion pathologique (hypertrophie et limite d'extensibilité) 72

iii. Remodelage de la matrice extracellulaire et fibrose 73

B. LE MICROENVIRONNEMENT OBESOGENE : STRESS, INFLAMMATION ET SIGNAUX ENDOCRINIENS 73

i. Inflammation de bas grade et macrophages du tissu adipeux 73

ii. Stress cellulaires intrinsèques : hypoxie, réticulum endoplasmique et stress oxydant 74

iii. Impact du microenvironnement inflammatoire sur l'adipogenèse 75

iv. Environnement nutritionnel hypercalorique et dérégulation hormonale 75

C. ALTERATIONS FONCTIONNELLES ET REPROGRAMMATION DES CELLULES PROGENITRICES 78

i. Sénescence des progéniteurs : p16/p21/p53 et phénotype SASP 78

ii. Épuisement des sous-populations compétentes et perte de plasticité 79

iii. Mémoire métabolique et reprogrammation épigénétique des ADSC 79

D. CONSEQUENCES SUR LE RISQUE CARDIOMETABOLIQUE 81

i. Stockage ectopique des lipides et lipotoxicité 81

ii. Mise en place de l'insulinorésistance systémique 81

iii. Complications cardiométaboliques 82

PARTIE B : LE SYSTEME ENDOCANNABINOÏDE 83

1. GENERALITES 83

A. DECOUVERTE ET DEFINITION 83

B. COMPOSANTS DU SEC 85

2. METABOLISME DES ENDOCANNABINOÏDES 87

A. METABOLISME DU 2-AG ET DES 2-MAGS 87

i. Synthèse du 2-AG 87

ii. Dégradation du 2-AG 88

iii. Métabolisme des 2-MAGs 90

B. METABOLISME DES NAES 90

i. Synthèse des NAEs 90

ii. Dégradation des NAEs 91

C. LES RECEPTEURS AUX CANNABINOÏDES 94

i. Le récepteur cannabinoïde de type 1 94

ii. Signalisation du récepteur CB1 95

1. Activation par l'intermédiaire des protéines G 95
2. Activation par l'intermédiaire des β-arrestines 98

iii. Le récepteur cannabinoïde de type 2 99

iv. Récepteurs non canoniques du système endocannabinoïde 101

3. REGULATION DE L'HOMEOSTASIE ENERGETIQUE PAR LE SYSTEME ENDOCANNABINOÏDE 103

A. ROLE CENTRAL DU SYSTEME ENDOCANNABINOÏDE DANS LE CONTROLE DE LA PRISE ALIMENTAIRE ET DE L'HOMEOSTASIE ENERGETIQUE 103

i. Modulation rétrograde et intégration des signaux homéostasiques hypothalamiques 103

ii. Régulation du contrôle hédonique et du circuit de la récompense 104

iii. Intégration sensorielle : Olfaction et goût 105

iv. Contrôle central du métabolisme périphérique via le système autonome 106

B. CIBLAGE THERAPEUTIQUE DU SYSTEME ENDOCANNABINOÏDE DANS LE CONTROLE DE L'HOMEOSTASIE ENERGETIQUE 107

i. Les composés de première génération : focus sur le rimonabant 107

1. Origine, concept et validation préclinique 107
2. Efficacité métabolique clinique : le programme RIO 107
3. Effets indésirables psychiatriques et retrait du marché 108
4. Réévaluation et échec global de la première génération 108

C. VALIDATION DES RECEPTEURS CB1R PERIPHERIQUES COMME CIBLE THERAPEUTIQUE DE CHOIX DANS LE SYNDROME METABOLIQUE 110

i. Le foie 110

ii. Le pancréas 111

iii. Le muscle squelettique 112

iv. Le rein 113

4. SYSTEME ENDOCANNABINOÏDE ET TISSU ADIPEUX 115

A. EXPRESSION ET ORGANISATION DU SYSTEME ENDOCANNABINOÏDE DU TA 116

B. LE TISSU ADIPEUX BLANC : PRODUCTEUR MAJEUR D'ENDOCANNABINOÏDES 118

C. MECANISMES DE SECRETION DES ECS PRODUITS PAR LE TA 119

D. REGULATION DES FONCTIONS ADIPOCYTAIRES PAR LE SEC 120

i. Lipolyse et lipogenèse 121

ii. Fonction endocrine 121

iii. Rôle dans l'inflammation du tissu adipeux 122

iv. Rôle du SEC dans l'adipogenèse et le contrôle des précurseurs adipeux 123

5. LES NOUVELLES STRATEGIES THERAPEUTIQUES CIBLANT LES CB1R PERIPHERIQUES 125

A. LES COMPOSES DE DEUXIEME GENERATION 125

B. LES COMPOSES DE TROISIEME GENERATION 127

C. LES ANTICORPS MONOCLONAUX 129

OBJECTIFS DE THÈSE 130

RÉSULTATS ET DISCUSSION 132

OBJECTIF 1 - CARACTERISATION DE LA PRODUCTION D'ENDOCANNABINOÏDES PAR LES DIFFERENTS DEPOTS ADIPEUX DANS DES CONDITIONS PATHOLOGIQUES 132

1. INTRODUCTION 132

2. ARTICLE 133

3. CONCLUSION 161

4. PERSPECTIVES 162

OBJECTIF 2 – ÉVALUATION DE L'IMPACT DES ENDOCANNABINOÏDES SUR L'ENGAGEMENT ADIPOGENIQUE DES ADSC 164

1. INTRODUCTION 164

2. RESULTATS 165

A. ANALYSE TRANSCRIPTOMIQUE DU TISSU ADIPEUX VISCERAL MURIN 165

i. Méthodologie 165

ii. Résultats et discussion 165

B. ÉTUDE DE LA FRACTION STROMALE VASCULAIRE DES SOURIS CONTROLES 168

i. Méthodologie 169

ii. Composition de la primo-culture de la FSV de souris saines (T_0) 170

iii. Impact de l'activation de CB1R sur l'accumulation lipidique (J_7/J_9) 172

iv. Impact de l'activation de CB1R sur l'expression génique (J_0 à J_9) 173

v. Impact de l'activation de CB1R sur la prolifération cellulaire (T_0 à J_0) 175

vi. Impact de l'activation de CB1R sur le phénotype cellulaire (J_0 à J_4) 177

C. ÉTUDE DE LA FRACTION STROMALE VASCULAIRE DES SOURIS OBESES 179

i. Méthodologie 179

ii. Composition de la primo-culture de la FSV de souris obèses (T_0) 180

iii. Impact de l'activation de CB1R sur l'accumulation lipidique (J_7) 181

iv. Impact de l'activation de CB1R sur l'expression génique (J_0 à J_9) 182

D. ÉTUDE DES PREADIPOCYTES 3T3-L1 184

i. Méthodologie 184

ii. Impact de l'activation de CB1R sur l'accumulation lipidique (J_7) 185

iii. Impact de l'activation de CB1R sur l'expression génique (J_0 à J_9) 186

iv. Impact de l'activation de CB1R sur la prolifération cellulaire (T_0 à J_0) 187

E. ÉTUDE DES ADSC ISOLEES DE SOURIS CONTROLES ET OBESES 189

i. Méthodologie 189

ii. Impact de l'activation de CB1R sur l'accumulation lipidique (J_7) 191

iii. Impact de l'activation de CB1R sur l'expression génique ($T_{50\%}$ à J_7) 193

F. ANALYSE TRANSCRIPTOMIQUE DU TISSU ADIPEUX VISCERAL HUMAIN 195

i. Méthodologie 195

ii. Résultats et discussion 196

G. UTILISATION DES BASES DE DONNEES TRANSCRIPTOMIQUES ET PROTEOMIQUES 199

i. Méthodologie 199

ii. Résultats et discussion 199

3. CONCLUSION 201

4. PERSPECTIVES 204

CONCLUSION 208

MATERIELS ET METHODES 210

1. ANIMAUX ET REGIMES 210

2. CULTURE CELLULAIRE 210

A. LIGNEES CELLULAIRES 210

i. Culture des HEK293 CB1Rm 210

ii. Culture des 3T3-L1 211

B. ISOLEMENT ET MISE EN CULTURE DE LA FSV 211

C. INDUCTION DE LA DIFFERENCIATION 212

D. MOLECULES 212

3. COLORATION A L'OIL RED O 212

4. ANALYSE DE L'EXPRESSION PROTEIQUE PAR CYTOMETRIE EN FLUX 213

A. PREPARATION DES CELLULES 213

B. MARQUAGE DE VIABILITE ET DES ANTIGENES DE SURFACE 213

C. FIXATION/PERMEABILISATION ET MARQUAGE INTRACELLULAIRE 214

5. ANALYSE DE L'EXPRESSION GENIQUE PAR RT-QPCR 215

A. EXTRACTION DE L'ARN DES CELLULES EN CULTURE 215

B. REVERSE-TRANSCRIPTION ET QPCR 215

6. ANALYSE DU RNA-SEQ ET DES BASES DE DONNEES PUBLIQUES 217

A. ANALYSE DU « BULK » RNA-SEQ 217

B. ANALYSE DE BASES DE DONNEES PUBLIQUES 217

7. ANALYSE STATISTIQUE 218

BIBLIOGRAPHIE 219

ANNEXE 1 277

Table des figures

FIGURE 1 - FACTEURS ET PRINCIPALES COMPLICATIONS ASSOCIEES A L'OBESITE 21
FIGURE 2 - EXPANSION DU TISSU ADIPEUX PAR HYPERPLASIE OU HYPERTROPHIE 23
FIGURE 3 - CARACTERISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET FONCTIONNELLES DES ADIPOCYTES BLANCS, BEIGES ET BRUNS 26
FIGURE 4 - COMPOSITION CELLULAIRE DU TISSU ADIPEUX BLANC 28
FIGURE 5 - LOCALISATION DES DEPOTS MAJEURS DE TA BLANC VISCERAL ET SOUS-CUTANE CHEZ LA SOURIS ET L'HOMME ADULTE 35
FIGURE 6 - MECANISMES DE STOCKAGE DES LIPIDES DANS L'ADIPOCYTE EN PERIODE POST-PRANDIALE 39
FIGURE 7 - REGULATION DE LA LIPOLYSE ADIPOCYTAIRE PAR LES SIGNAUX PRO- ET ANTI-LIPOLYTIQUES 42
FIGURE 8 - LOCALISATION DES DEPOTS MAJEURS DE TA BRUN CHEZ LA SOURIS ET L'HOMME ADULTE 49
FIGURE 9 - PLASTICITE METABOLIQUE DES ADSC ET ALTERATION DU SWITCH GLYCOLYSE/OXPHOS EN CONTEXTE D'OBESITE 53
FIGURE 10 - SIGNAUX DE LA NICHE PERIVASCULAIRE DU TISSU ADIPEUX REGULANT LES ADSC EN CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES ET AU COURS DE L'OBESITE 55
FIGURE 11 - SIGNAUX DE LA NICHE PERIVASCULAIRE REGULANT L'ENGAGEMENT ADIPOCYTAIRE DES ADSC 63
FIGURE 12 - CASCADE TRANSCRIPTIONNELLE DE LA DIFFERENCIATION ADIPOCYTAIRE 71
FIGURE 13 - REGULATION HORMONALE ET NUTRITIONNELLE DE LA DIFFERENCIATION ADIPOCYTAIRE 78
FIGURE 14 - REPRESENTATION SIMPLIFIEE DU SYSTEME ENDOCANNABINOÏDE ELARGI 86
FIGURE 15 - PRINCIPALES VOIES DE SYNTHESE ET DE DEGRADATION DU 2-ARACHIDONOYLGLYCEROL (2-AG) 89
FIGURE 16 - PRINCIPALES VOIES DE SYNTHESE ET DE DEGRADATION DE L'ANANDAMIDE (AEA) 93
FIGURE 17 - PRINCIPALES VOIES DE SIGNALISATION ACTIVEES PAR LE CB1R 97
FIGURE 18 - SIGNALISATION BIAISEE DU CB1R PAR LES B-ARRESTINES 99
FIGURE 19 - ROLE CENTRAL DU SYSTEME ENDOCANNABINOÏDE DANS LE CONTROLE DE L'HOMEOSTASIE ENERGETIQUE 106
FIGURE 20 - EFFETS OPPOSES DE L'HYPERACTIVATION ET DE L'INVALIDATION PERIPHERIQUES DE CB1R DANS LES PRINCIPAUX ORGANES METABOLIQUES 115
FIGURE 21 - ANALYSE TRANSCRIPTOMIQUE DIFFERENTIELLE ET ENRICHISSEMENT FONCTIONNEL DANS LE TAV 166
FIGURE 22 - PROFIL TRANSCRIPTIONNEL DES GENES IMPLIQUES DANS L'ENGAGEMENT, LA DIFFERENCIATION ET LA MATURATION ADIPOCYTAIRES DANS LE TISSU ADIPEUX VISCERAL DE SOURIS CONTROLES ET OBESES 167
FIGURE 23 - SCHEMA DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL D'ETUDE DE LA FSV DE SOURIS CONTROLES EN PRESENCE DE L'AGONISTE DE CB1R (ACEA) 170
FIGURE 24 - STRATEGIE D'IDENTIFICATION DES POPULATIONS CELLULAIRES PRESENTES DANS LA PRIMO-CULTURE DE LA FSV PAR CYTOMETRIE EN FLUX 170
FIGURE 25 - EFFET DE L'ACTIVATION DE CB1R PENDANT LA PHASE DE PROLIFERATION SUR L'ACCUMULATION LIPIDIQUE DES CELLULES DE LA PRIMO-CULTURE DE FSV DE SOURIS MINCES 172
FIGURE 26 - EFFET DE L'ACTIVATION DE CB1R PENDANT LA PHASE DE PROLIFERATION SUR L'EXPRESSION DE MARQUEURS ADIPOCYTAIRES DANS LA PRIMO-CULTURE DE FSV DE SOURIS MINCES 174
FIGURE 27 - STRATEGIE DE GATING POUR L'ANALYSE DE LA PROLIFERATION DES ADSC PAR CYTOMETRIE EN FLUX 176
FIGURE 28 - SUIVI TEMPOREL DE L'EXPRESSION DE KI-67 DANS LES ADSC ET DANS LES CELLULES HEK 293 SUREXPRIMANT CB1R 176
FIGURE 29 - STRATEGIE DE GATING POUR L'IDENTIFICATION DES ADSC ENGAGEES (PREADIPOCYTES) PAR CYTOMETRIE EN FLUX 177

FIGURE 30 - SUIVI TEMPOREL DE L'ENGAGEMENT DES ADSC AU COURS DE LA DIFFERENCIATION APRES TRAITEMENT PAR L'AGONISTE 178
FIGURE 31 - SCHEMA DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL D'ETUDE DE LA FSV DE SOURIS OBESES EN PRESENCE DE L'AGONISTE DE CB1R (ACEA) 179
FIGURE 32 - EFFET DE L'ACTIVATION DE CB1R PENDANT LA PHASE DE PROLIFERATION SUR L'ACCUMULATION LIPIDIQUE DES CELLULES DE LA PRIMO-CULTURE DE FSV DE SOURIS OBESES 182
FIGURE 33 - EFFET DE L'ACTIVATION DE CB1R PENDANT LA PHASE DE PROLIFERATION SUR L'EXPRESSION DE MARQUEURS ADIPOCYTAIRES DANS LA PRIMO-CULTURE DE FSV DE SOURIS OBESES 183
FIGURE 34 - SCHEMA DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL D'ETUDE DES PREADIPOCYTES 3T3-L1 EN PRESENCE DE L'AGONISTE DE CB1R (ACEA) 185
FIGURE 35 - EFFET DE L'ACTIVATION DE CB1R PENDANT LA PHASE DE PROLIFERATION SUR L'ACCUMULATION LIPIDIQUE DES CELLULES 3T3-L1 185
FIGURE 36 - EFFET DE L'ACTIVATION DE CB1R PENDANT LA PHASE DE PROLIFERATION SUR L'EXPRESSION DE MARQUEURS ADIPOCYTAIRES DE LA LIGNEE PREADIPOCYTAIRE 3T3-L1 186
FIGURE 37 - STRATEGIE DE GATING POUR L'ANALYSE DE LA PROLIFERATION DES 3T3-L1 PAR CYTOMETRIE EN FLUX 188
FIGURE 38 - EFFET DE L'ACTIVATION DE CB1R SUR L'EXPRESSION TRANSCRIPTOMIQUE ET PROTEOMIQUE DE KI-67 PENDANT LA PHASE DE PROLIFERATION 188
FIGURE 39 - STRATEGIE DE GATING POUR L'ISOLEMENT DES ADSC DE FSV FRAICHES DE SOURIS CONTROLES ET OBESES 190
FIGURE 40 - SCHEMA DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL D'ETUDE DES ADSC TRIEES DE LA FSV DE SOURIS CONTROLES ET OBESES EN PRESENCE DE L'AGONISTE DE CB1R (ACEA) 190
FIGURE 41 - EFFET DE L'ACTIVATION DE CB1R PENDANT LA PHASE DE PROLIFERATION SUR L'ACCUMULATION LIPIDIQUE DES ADSC TRIEES PROVENANT DE LA FSV DE SOURIS CONTROLES OU OBESES 191
FIGURE 42 - EFFET DE L'ACTIVATION DE CB1R PENDANT LA PHASE DE PROLIFERATION SUR LA TAILLE DES GOUTTELETTES LIPIDIQUES DES ADSC TRIEES PROVENANT DE LA FSV DE SOURIS CONTROLES, OBESES OU KO CB1R$^{-/-}$ 192
FIGURE 43 - EFFET DE L'ACTIVATION DE CB1R PENDANT LA PHASE DE PROLIFERATION SUR L'EXPRESSION DE MARQUEURS ADIPOCYTAIRES DES ADSC TRIEES DE LA FSV DE SOURIS CONTROLES ET OBESES 193
FIGURE 44 - ANALYSE TRANSCRIPTOMIQUE DIFFERENTIELLE ET ENRICHISSEMENT FONCTIONNEL DANS LE TAV DE BIOPSIES HUMAINES 196
FIGURE 45 - PROFIL TRANSCRIPTIONNEL DES GENES IMPLIQUES DANS L'ENGAGEMENT, LA DIFFERENCIATION ET LA MATURATION ADIPOCYTAIRES DANS LE TISSU ADIPEUX VISCERAL DE PATIENTS SAINS, OBESES OU OBESES DIABETIQUES 197
FIGURE 46 - EFFET DES AGONISTES DU CB1R SUR LA PROLIFERATION DES ASTROCYTES HUMAINS PRIMAIRES ET DE LA LIGNEE CELLULAIRE D'OLIGODENDROCYTES HUMAINS MO3.13 200

Table des tableaux

TABLEAU 1 - CLASSIFICATION DE L'INDICE DE MASSE CORPORELLE (IMC) SELON LES SEUILS DE L'ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE 19
TABLEAU 2 - PRINCIPALES ADIPOKINES ET ALTERATIONS DE LEUR PROFIL EN CONTEXTE D'OBESITE ET DE DIABETE DE TYPE 2 45
TABLEAU 3 - RECAPITULATIF DU DEVELOPPEMENT CLINIQUE DES ANTAGONISTES DE PREMIERE GENERATION 109
TABLEAU 4 - COMPOSITION DES CELLULES ADHERENTES ET NON ADHERENTES DE LA FSV DE SOURIS MINCES 171
TABLEAU 5 - COMPOSITION DES CELLULES ADHERENTES ET NON ADHERENTES DE LA FSV DE SOURIS OBESES 180
TABLEAU 6 - PANEL D'ANTICORPS UTILISE POUR L'ETUDE DE LA FSV DE SOURIS CONTROLES ET OBESES (COMPOSITION, PROLIFERATION ET PHENOTYPE) 215
TABLEAU 7 - PANEL D'ANTICORPS UTILISE POUR L'ETUDE DE LA PROLIFERATION DES HEK 293 $CB1R_M$ ET DES 3T3-L1 215
TABLEAU 8 - PANEL D'ANTICORPS UTILISE POUR LE TRI DES ADSC DE LA FSV DE SOURIS CONTROLES ET OBESES 215
TABLEAU 9 - PROGRAMME DE REVERSE-TRANSCRIPTION DES ARN 216
TABLEAU 10 - PROGRAMME D'AMPLIFICATION DE LA RT-QPCR 216
TABLEAU 11 - SEQUENCES DES AMORCES SENS ET ANTISENS MURINES 217

Abréviations

2-AG : 2-arachidonoylglycérol

2-LG : 2-linoléoylglycérol

2-MAG : 2-monoacylglycérol

2-OG : 2-oléoylglycérol

2-PG : 2-palmitoylglycérol

11β-HSD1 : 11β-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1

ABHD4 : α/β-hydrolase à domaine 4

ABHD6 : α/β-hydrolase à domaine 6

ABHD12 : α/β-hydrolase à domaine 12

AC : adénylate cyclase

ACC : acétyl-CoA carboxylase

AcM : anticorps monoclonaux

ACS : acyl-CoA synthétase

Acyl-CoA : acyl-coenzyme A

ADN : acide désoxyribonucléique

ADSC : cellule stromale dérivée du tissu adipeux

AEA : N-arachidonoyléthanolamine (anandamide)

AG : acide gras

AGPAT : 1-acylglycérol-3-phosphate O-acyltransférase

AgRP : peptide associé à l'agouti

AKT : protéine kinase B

ALPL : phosphatase alcaline, non spécifique du tissu

AMPc : adénosine monophosphate cyclique

ANP : peptide natriurétique atrial

AP : acide phosphatidique

APC : progéniteurs adipocytaires

ASP : protéine stimulant l'acylation

ATGL : lipase des triglycérides des adipocytes

ATP : adénosine triphosphate

BHE : barrière hémato-encéphalique

BMP : protéine morphogénétique osseuse

BNP : peptide natriurétique de type B

C/EBP : protéine de liaison à l'élément CCAAT/boîte amplificatrice

CARM1 : coactivateur 1 associé au récepteur nucléaire (coactivator-associated arginine methyltransferase 1)

CB1R : récepteur cannabinoïde de type 1

CB2R : récepteur cannabinoïde de type 2

CBP : protéine de liaison à l'élément de réponse à l'AMPc (CREB-binding protein)

CCL2 : ligand 2 de la chimiokine C-C

CCN2 : facteur de croissance du tissu conjonctif 2

CD36 : translocase aux acides gras

CDK : kinases dépendantes des cyclines

CHOP : protéine homologue de C/EBP induite par le stress

ChREBP : protéine de liaison à l'élément de réponse aux glucides

CLS : structures en couronne (crown-like structures)

COL1A1 : chaîne α1 du collagène de type I

COX-2 : cyclo-oxygénase 2

CREBH : protéine H de liaison à l'élément de réponse à l'AMPc

CRP : protéine C-réactive

CSM : cellule souche mésenchymateuse

D2 : désiodase de type 2

D3 : désiodase de type 3

DAG : diacylglycérol

DAGLα : diacylglycérol lipase α

DAGLβ : diacylglycérol lipase β

DGAT2 : diacylglycérol O-acyltransférase 2

Dll4 : ligand Delta-like 4

DMSO : Diméthylsulfoxyde

EC : endocannabinoïde

EMR1 : récepteur EGF-like à module 7 transmembranaire 1

EPC : cellule progénitrice endothéliale

FAAH : hydrolase des amides d'acides gras

FABP : protéine de liaison aux acides gras

FATP : protéine de transport des acides gras

FAS : synthase des acides gras

FGF2 : facteur de croissance des fibroblastes 2

FGF21 : facteur de croissance des fibroblastes 21

FoxO1 : facteur de transcription de la famille forkhead O1

FSV : fraction stromale vasculaire

G3P : glycérol-3-phosphate

GIP : peptide insulinotrope dépendant du glucose

GLP-1 : peptide-1 similaire au glucagon

GLUT4 : transporteur de glucose de type 4

GMPc : guanosine monophosphate cyclique

GPAT : glycérol-3-phosphate acyltransférase

GPCR : récepteur couplé aux protéines G

GP-NAE : glycéro-phospho-N-acyléthanolamine

GR : récepteur aux glucocorticoïdes

GREM1 : gremlin 1

GREM2 : gremlin 2

GRK : kinase des récepteurs couplés aux protéines G

GRP78/BiP : protéine régulée par le glucose 78 / protéine de liaison aux immunoglobulines

GSK3 : glycogène synthase kinase 3

HbA1c : hémoglobine glyquée

HDAC : histone désacétylase

HDL : lipoprotéine de haute densité

HETE-EA : hydroxy-éicosatétraénoyléthanolamines

HGF : facteur de croissance des hépatocytes

HIF-1α : facteur inductible par l'hypoxie 1α

HSL : lipase hormono-sensible

IDL : lipoprotéine de densité intermédiaire

IFN-γ : interféron γ

IL-1β : interleukine 1β

IL-6 : interleukine 6

IL-8 : interleukine 8

IL-10 : interleukine 10

IL-17 : interleukine 17

IMC : indice de masse corporelle

iNOS : monoxyde d'azote synthase inductible

IP_3 : inositol-1,4,5-trisphosphate

IRS-1 : substrat du récepteur de l'insuline 1

JNK : kinase N-terminale de c-Jun

KLF : facteur de type Krüppel

LDL : lipoprotéine de faible densité

LEPR : récepteur de la leptine

lncARN : ARN long non codant

LOX : lipoxygénases

LPL : lipoprotéine lipase

LPP : phosphatase de lipides phosphorylés

LPS : lipopolysaccharide

LSD1 : déméthylase spécifique de la lysine 1

LXR : récepteur X du foie

MAG : monoacylglycérol

MAGL : lipase des monoacylglycérols

MAPK : protéine kinase activée par les mitogènes

MCC : milieu de culture complet

MCP-1 : protéine chimioattractante des monocytes 1

MED1 : sous-unité 1 du complexe médiateur

MIF : facteur inhibiteur de la migration des macrophages

MLL3 : lysine méthyltransférase 2C

MLL4 : lysine méthyltransférase 2D

MSigDB : base de données de signatures moléculaires

mTORC1 : complexe 1 de la cible mécanistique de la rapamycine

NAAA : amidase des acides gras N-acylés

NAEs : N-acyléthanolamines

NAPE : N-acyl-phosphatidyléthanolamine

NAPE-PLC : phospholipase C spécifique des N-acyl-phosphatidyléthanolamines

NAPE-PLD : phospholipase D des N-acyl-phosphatidyléthanolamines

NAT : N-acyltransférase Ca^{2+}-dépendante

NCoR : corépresseur des récepteurs nucléaires

NF-κB : facteur nucléaire κB

NG2 : protéoglycane NG2

NGF : facteur de croissance des nerfs

NO : monoxyde d'azote

NPY : neuropeptide Y

OEA : oléoyléthanolamine

OXPHOS : phosphorylation oxydative mitochondriale

PAHSA : acide palmitique hydroxy-stéarique

PAI-1 : inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1

PAP : phosphatase de l'acide phosphatidique

pAEA : phosphoanandamide

PDGF : facteur de croissance dérivé des plaquettes

PDGF-BB : facteur de croissance dérivé des plaquettes BB

PDGFR-β : récepteur β du facteur de croissance dérivé des plaquettes

PDK1 : kinase 1 dépendante des 3-phosphoinositides

PEA : palmitoyléthanolamine

PGC-1α : coactivateur 1α du récepteur activé par les proliférateurs de peroxysomes

PGE_2 : prostaglandine E_2

PG-G : ester glycérolé de prostaglandine

PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase

PIP_2 : phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate

PKA : protéine kinase A

PKCζ : protéine kinase C ζ

PKG : protéine kinase G

PLC-β : phospholipase C-β

POMC : pro-opiomélanocortine

PPARα : récepteur α activé par les proliférateurs de peroxysomes

PPARγ : récepteur γ activé par les proliférateurs de peroxysomes

PPP : voie des pentoses phosphates

PREF-1 : facteur préadipocytaire 1

PRC2 : complexe de répression polycomb 2

PRMT : protéine arginine méthyltransférase

PTPN22 : protéine tyrosine phosphatase non réceptrice 22

Rb : protéine du rétinoblastome

ROS : espèces réactives de l'oxygène

RUNX2 : facteur de transcription 2 lié au facteur Runt

SAA : protéine amyloïde sérique A

SA-β-gal : β-galactosidase associée à la sénescence

SASP : phénotype sécrétoire associé à la sénescence

scRNA-seq : séquençage d'ARN à l'échelle de la cellule unique

SEC : système endocannabinoïde

SHIP1 : inositol-5-phosphatase contenant un domaine SH2 1

SMRT : médiateur du silence des récepteurs de l'acide rétinoïque et des hormones thyroïdiennes

snRNA-seq : séquençage d'ARN à l'échelle du noyau unique

SOX9 : facteur de transcription SOX9

SPP1 : ostéopontine

SREBP-1c : protéine de liaison à l'élément de réponse aux stérols 1c

SRC : proto-oncogène tyrosine-protéine kinase Src

STAT3 : transducteur de signal et activateur de la transcription 3

T3 : triiodothyronine

TA : tissu adipeux

TASC : tissu adipeux blanc sous-cutané

TAV : tissu adipeux blanc viscéral

TCF4 : facteur de transcription 4

TG : triglycéride

TGF-β : facteur de croissance transformant β

Δ^9-THC : Δ^9-tétrahydrocannabinol

TLR : récepteur de type Toll

TNF-α : facteur de nécrose tumorale α

TRPA1 : canal à potentiel récepteur transitoire de type ankyrine 1

TRPV1 : canal à potentiel récepteur transitoire de type vanilloïde 1

TRPV4 : canal à potentiel récepteur transitoire de type vanilloïde 4

TSC2 : protéine 2 du complexe de sclérose tubéreuse (tubérine)

U.A. : unité arbitraire

UCP1 : protéine découplante 1

VE : vésicule extracellulaire

VEGF : facteur de croissance de l'endothélium vasculaire

VLDL : lipoprotéine de très faible densité

α-MSH : hormone mélanotrope α

Contexte scientifique

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, l'obésité est définie comme étant « une maladie chronique complexe qui se caractérise par un excès de dépôts graisseux qui peut nuire à la santé ». Sa prévalence globale ne cesse d'augmenter de manière préoccupante. En 2022, il était estimé que 2,5 milliards d'adultes, soit 43 % de la population adulte mondiale, étaient en surpoids, et que 890 millions d'adultes, soit 16 % de la population adulte mondiale, étaient obèses. Cette tendance touche également les plus jeunes : la proportion d'enfants et d'adolescents obèses a quadruplé en 30 ans, passant de 2 % en 1990 à 8 % en 2022.

Le diagnostic de l'obésité repose classiquement sur le calcul de l'indice de masse corporelle (IMC), obtenu en divisant le poids (kg) par la taille (m) au carré. Un IMC ≥ 25 kg/m² définit le surpoids, et un IMC ≥ 30 kg/m² correspond à une obésité (**Tableau *1***).

Tableau 1 - Classification de l'indice de masse corporelle (IMC) selon les seuils de l'Organisation mondiale de la Santé : Ce tableau présente les différentes catégories de corpulence définies à partir de l'IMC, calculé en rapportant le poids à la taille au carré, et allant de la dénutrition à l'obésité morbide.

IMC (kg/m²)	Interprétation
IMC < 16,5	Dénutrition
16,5 ≤ IMC < 18,5	Maigreur
18,5 ≤ IMC < 25	Normal
25 ≤ IMC < 30	Surpoids
30 ≤ IMC < 35	Obésité modérée
35 ≤ IMC < 40	Obésité sévère
IMC ≥ 40	Obésité morbide

Néanmoins, cette classification basée sur l'IMC fait l'objet de critiques croissantes au sein de la communauté scientifique, car elle ne permet pas d'évaluer la composition corporelle en tant que telle, notamment les proportions de masse grasse et de masse maigre (en particulier la masse musculaire), ni de prendre en compte la répartition de la graisse dans l'organisme. Or, ces éléments jouent un rôle déterminant dans le risque cardiométabolique. Ainsi, des indicateurs anthropométriques complémentaires, tels que le tour de taille, qui reflète l'accumulation de graisse viscérale, ou le rapport taille/hanche, sont de plus en plus utilisés en pratique clinique (Rubino et al., 2025). Ces mesures permettent de mieux différencier les profils de répartition de la masse grasse et de distinguer les silhouettes de type androïde (viscérale) et gynoïde (sous-cutanée).

Dans la majorité des cas, l'obésité est une pathologie multifactorielle incluant de nombreux paramètres environnementaux et comportementaux (**Figure *1***). Le premier facteur est la suralimentation, qui s'est fortement accentuée avec la facilité d'accès à la nourriture dans la société moderne. En effet, il semble que l'Homme consomme de plus en plus d'aliments ultra-transformés, dont la qualité nutritionnelle est mauvaise (Beslay et al., 2020). Le deuxième facteur de risque majeur est la sédentarité, qui favorise la prise de poids en diminuant la dépense énergétique. Une progression parallèle de la sédentarité et de la prévalence de l'obésité a été observée au cours des dernières décennies (Curran et al., 2023). Les facteurs génétiques jouent également un rôle important, notamment dans le cadre de l'obésité monogénique, représentant moins de 5 % des patients obèses (Baron et al., 2020). Le premier gène identifié comme responsable de l'obésité est le gène codant pour la leptine, mis en évidence chez les souris ob/ob en 1994 (Zhang et al., 1994). Chez l'Homme, il a été démontré quelques années plus tard qu'une déficience en leptine était aussi corrélée à une obésité importante chez deux enfants issus de familles consanguines (Montague et al., 1997). D'autres anomalies génétiques peuvent également être responsables d'une obésité excessive, comme celle touchant le récepteur à la leptine, identifiée pour la première fois en 1998 (Clément et al., 1998) (**Figure *1***).

En plus des trois premiers paramètres évoqués, de nombreux autres paramètres environnementaux ont été identifiés comme responsables en partie de l'obésité. Ainsi, il est bien connu que la composition du microbiote intestinal est largement influencée par le mode de vie, diffère entre les individus sains et ceux souffrant d'obésité, suggérant qu'une dysbiose pourrait contribuer à la régulation de la masse corporelle. Des travaux ont mis en évidence l'existence d'interactions complexes entre facteurs génétiques, alimentation et microbiote intestinal, jouant un rôle clé dans le développement de l'obésité et du syndrome métabolique (Cuevas-Sierra et al., 2019; Dugas et al., 2016) (**Figure *1***).

Plus récemment, il a été démontré que certains perturbateurs endocriniens, tels que les dioxines et les pesticides organochlorés, favorisent l'inflammation du tissu adipeux tout en altérant son fonctionnement métabolique et son développement, notamment par une diminution du nombre de progéniteurs adipocytaires (Behan-Bush et al., 2023).

Les études épidémiologiques montrent que l'obésité est une maladie fortement influencée par des facteurs sociaux, les caractéristiques sociodémographiques jouant un rôle majeur dans son développement. Parmi ces facteurs, l'âge constitue un déterminant important : le vieillissement s'accompagne d'un risque accru d'obésité, notamment en raison d'une diminution de la dépense énergétique totale, liée à une baisse du métabolisme basal et à une réduction de l'activité physique

spontanée (Manini, 2010). Par ailleurs, les modifications hormonales associées au vieillissement, ainsi que la diminution de la captation du glucose par les muscles squelettiques, favorisent le stockage des lipides au sein du tissu adipeux (Pataky et al., 2021).

Le niveau d'éducation et le revenu constituent également des déterminants majeurs de l'obésité. Un faible niveau d'éducation et des revenus modestes sont associés à une prévalence plus élevée de l'obésité. L'éducation exerce un effet protecteur indirect en favorisant une meilleure compréhension des recommandations nutritionnelles, une plus grande capacité à anticiper les conséquences sanitaires à long terme et un regard plus critique sur les stratégies de marketing alimentaire (Cutler and Lleras-Muney, 2006). En parallèle, les contraintes économiques conduisent souvent les ménages à privilégier des aliments peu coûteux, généralement plus denses en énergie et de moindre qualité nutritionnelle (Drewnowski and Specter, 2004; Stringhini et al., 2017).

Enfin, les inégalités sociales interagissent avec le genre. À niveau d'éducation ou de revenu comparable, les femmes issues de milieux défavorisés présentent une prévalence de l'obésité significativement plus élevée que les hommes, soulignant l'existence d'une forte interaction entre les déterminants socio-économiques et le sexe dans le développement de cette pathologie (Devaux and Sassi, 2013).

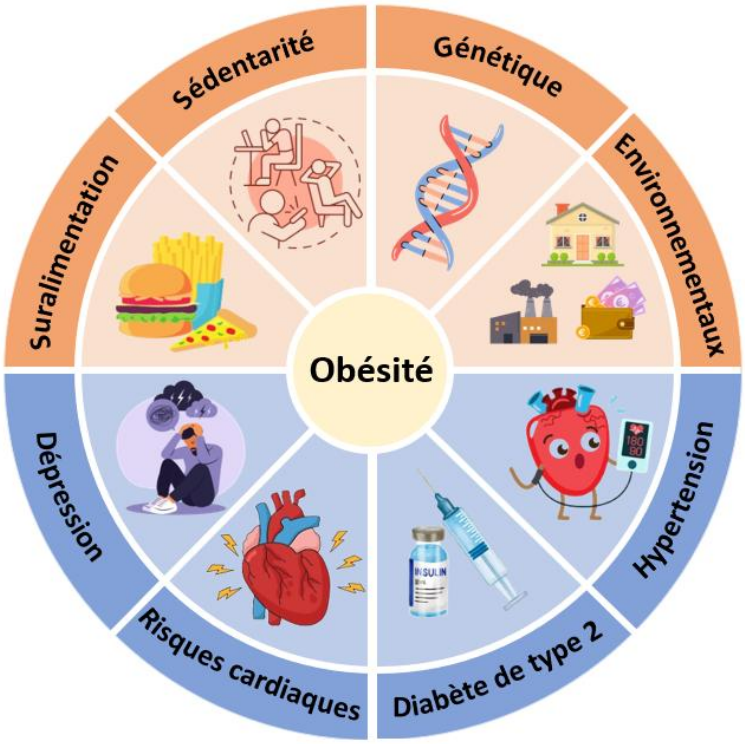


Figure 1 - Facteurs et principales complications associées à l'obésité : Schéma illustrant l'obésité comme une pathologie multifactorielle située au centre de l'interaction entre plusieurs facteurs représentés en orange : suralimentation, sédentarité, facteurs génétiques et facteurs environnementaux et plusieurs complications associées représentées en bleu : dépression, complications cardiovasculaires, diabète de type 2 et hypertension artérielle. Schéma adapté d'après (Jin-Feng et al., 2025).

Il est désormais bien établi que la pathogénicité de l'obésité dépend fortement de la localisation de la graisse dans l'organisme. Deux grands phénotypes sont classiquement distingués :

- **L'obésité gynoïde**, caractérisée par une accumulation de la masse grasse sous-cutanée dans la région glutéo-fémorale (au niveau des fesses et des cuisses). Ce profil est majoritairement observé chez les femmes, en lien avec une prédominance des œstrogènes, qui favorisent le stockage lipidique dans cette région (Furnham et al., 1997). Sur le plan clinique, ce phénotype est associé à un risque relativement faible de développer un syndrome métabolique (Blouin et al., 2008).

- **L'obésité androïde**, au contraire, se manifeste par une accumulation de graisse viscérale dans la région abdominale. Cette distribution est plus fréquente chez les hommes, en lien avec les effets métaboliques de la testostérone (Furnham et al., 1997). Elle est fortement associée à un risque accru de complications métaboliques.

L'obésité constitue ainsi un facteur de risque pour le développement de diverses pathologies métaboliques (**Figure *1***). Ainsi, elle est corrélée à de nombreuses maladies cardiovasculaires, notamment l'hypertension, l'insuffisance coronarienne, l'insuffisance cardiaque, les accidents vasculaires cérébraux, les dyslipidémies (Pakhare and Anjankar, 2024; Volpe and Gallo, 2023). Par ailleurs, elle représente un facteur de risque majeur de développer un diabète de type 2.

Le diabète de type 2 se définit comme une maladie métabolique chronique caractérisée par une hyperglycémie, c'est-à-dire une élévation chronique du taux de glucose dans le sang, principalement due à une résistance à l'insuline (diminution de la sensibilité des tissus à l'insuline) associée à une sécrétion inadéquate d'insuline par les cellules bêta du pancréas (Khamis, 2023). Contrairement à son homologue, le diabète de type 1, le diabète de type 2 n'est pas lié à une carence absolue en insuline, mais plutôt à la combinaison d'une résistance périphérique à l'action de l'insuline et d'un défaut progressif de sa sécrétion par le pancréas. Cette pathologie, longtemps asymptomatique, évolue lentement et s'associe à une élévation de la glycémie à jeun (> 7,0 mmol/L) ou de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) (> 6,5%), critères utilisés pour le diagnostic (Khamis, 2023). Cette pathologie touche majoritairement l'adulte, mais sa prévalence augmente chez les sujets plus jeunes en lien avec l'épidémie d'obésité, la sédentarité et l'alimentation déséquilibrée. Le diabète de type 2 représente plus de 90% des cas de diabète à travers le monde (Baynest, 2015) (**Figure *1***).

L'obésité est également associée à un risque accru de dépression avec des conséquences cliniques et psychosociales importantes. L'obésité favorise l'apparition de symptômes dépressifs spécifiques comme une humeur basse, un manque d'intérêt, un sentiment d'inadéquation et une fatigue marquée (Frank et al., 2022). Chez les personnes obèses, les épisodes dépressifs sont souvent plus longs et plus

sévères, avec une tendance à la prise de poids due à la suralimentation pendant ces épisodes dépressifs (Murphy et al., 2009) (**Figure 1**).

Quel que soit le phénotype d'obésité, l'expansion du tissu adipeux repose sur deux mécanismes fondamentaux : l'hyperplasie, correspondant à la formation de nouveaux adipocytes à partir de cellules précurseurs et par l'hypertrophie des adipocytes existants. Ces deux modes de croissance n'ont pas les mêmes conséquences métaboliques et leur équilibre conditionne en grande partie la transition entre une expansion adaptative et une expansion délétère des dépôts adipeux (Sun et al., 2011) (**Figure 2**).

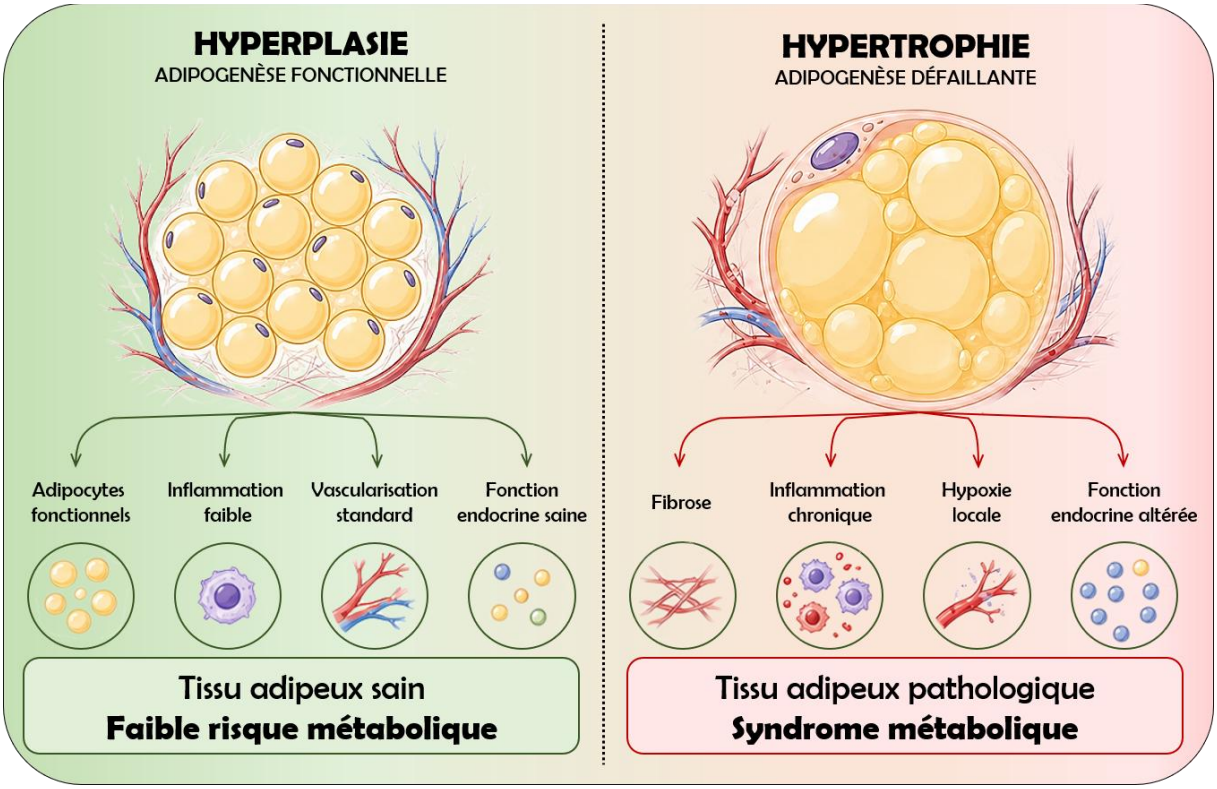


Figure 2 - Expansion du tissu adipeux par hyperplasie ou hypertrophie *: Représentation schématique des deux principaux modes d'expansion du tissu adipeux en situation de surplus énergétique. L'hyperplasie repose sur l'adipogenèse et la formation de nouveaux adipocytes à partir de cellules précurseurs, conduisant à des adipocytes plus petits, plus fonctionnels, faiblement inflammatoires, mieux vascularisés, et à une fonction endocrine saine. À l'inverse, l'hypertrophie adipocytaire correspond à l'augmentation de la taille des adipocytes existants et s'accompagne d'une altération progressive du tissu adipeux, associant remodelage fibrotique, inflammation chronique de bas grade, hypoxie locale et altération de la fonction endocrine aboutissant au développement du syndrome métabolique.*

L'hypertrophie adipocytaire est classiquement associée à une altération progressive du tissu adipeux, comprenant une hypoxie locale, une infiltration macrophagique, une inflammation chronique de bas grade et un remodelage fibrotique des cellules stromales. Ces modifications s'accompagnent d'une perte de flexibilité métabolique des adipocytes, d'une altération de leur capacité de stockage et de mobilisation des lipides et, à terme, de complications cardiométaboliques telles que

l'insulinorésistance et la stéatose hépatique (Virtue and Vidal-Puig, 2010). À l'inverse, une expansion reposant davantage sur l'hyperplasie, avec la génération d'adipocytes plus petits, mieux vascularisés et faiblement inflammatoires, est généralement corrélée à un profil métabolique plus favorable (Spalding et al., 2008) (**Figure 2**). Par conséquent, la capacité du tissu adipeux à recruter et différencier de nouveaux adipocytes fonctionnels apparaît comme un déterminant majeur de la santé métabolique en situation de surplus énergétique.

La plasticité du tissu adipeux est ainsi régulée par l'adipogenèse, correspondant à l'engagement de cellules stromales mésenchymateuses en préadipocytes, suivi de la différenciation des préadipocytes en adipocytes matures. Sur le plan moléculaire, l'adipogenèse est régulée par une cascade de facteurs de transcription, et notamment PPARγ, considéré comme le régulateur clé de l'engagement adipocytaire et du programme génétique des adipocytes matures. Son activation dans les cellules précurseurs est indispensable au développement d'un tissu adipeux capable d'assurer à la fois le stockage lipidique et une fonction endocrine adaptée (Lefterova et al., 2014).

Ce processus ne dépend pas uniquement des cellules stromales et des préadipocytes, mais est finement modulé par le microenvironnement tissulaire et les signaux circulants. Les hormones telles que l'insuline, le cortisol ou l'IGF-1 stimulent la prolifération et la différenciation des préadipocytes (Rocha et al., 2026). À l'inverse, les cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL-6, TGF-β), produites par les cellules immunitaires infiltrant le tissu adipeux en contexte d'obésité, tendent à freiner la différenciation adipocytaire et à dévier le destin des cellules vers des phénotypes moins favorables (Petruschke and Hauner, 1993). Ainsi, le tissu adipeux se comporte donc comme un véritable organe endocrine et paracrine, dont les adipocytes et les cellules environnantes participent ensemble à l'autorégulation de l'adipogenèse et du remodelage tissulaire (Rocha et al., 2026; Rosen and Spiegelman, 2014).

Dans ce contexte, le tissu adipeux est également reconnu comme une source importante d'endocannabinoïdes, intégrés au réseau plus large du système endocannabinoïde. Les endocannabinoïdes sont des médiateurs lipidiques dérivés d'acides gras polyinsaturés, produits à la demande à partir des phospholipides membranaires et dégradés par des enzymes spécifiques, ce qui permet un contrôle fin de leur tonus local. Leur action principale s'exerce *via* les récepteurs CB1 et CB2, GPCR exprimés à la fois dans le système nerveux central et dans de nombreux tissus périphériques dont le tissu adipeux (Matias et al., 2006; Pagano et al., 2008).

Sur le plan cellulaire, la signalisation de CB1R s'articule notamment autour des voies PI3K–Akt, MAPK et de la régulation de facteurs de transcription lipogéniques, établissant un lien entre le système endocannabinoïde et la signalisation insulinique et lipidique (Cota et al., 2003). Dans les adipocytes et

les cellules précurseurs, ces cascades pourraient influencer l'équilibre entre prolifération, survie, différenciation et capacité de stockage, et donc la manière dont le tissu adipeux s'adapte à une surcharge calorique. Cette dimension est particulièrement intéressante dans le cadre de l'adipogenèse, où l'activation de CB1R semble, dans plusieurs modèles, favoriser la différenciation adipocytaire et l'expansion du tissu adipeux (Myers et al., 2023; Ruhl et al., 2021).

Ainsi, l'expansion du tissu adipeux présente une double face. Dans un contexte physiologique, elle constitue un mécanisme adaptatif essentiel permettant d'augmenter la capacité de stockage énergétique, en transformant les acides gras en triglycérides et en limitant leur accumulation ectopique dans des organes non spécialisés, où ils pourraient exercer des effets lipotoxiques. En revanche, lorsque cette expansion est sollicitée de manière chronique dans un contexte de surcharge énergétique, de sédentarité et d'inflammation persistante, les capacités d'adaptation du tissu adipeux peuvent être dépassées. Le remodelage tissulaire s'oriente alors vers une hypertrophie excessive des adipocytes, associée à une inflammation, une fibrose et une altération des fonctions métaboliques, contribuant ainsi au développement d'un profil cardiométabolique défavorable (Sun et al., 2011; Virtue and Vidal-Puig, 2010).

Malgré les travaux déjà réalisés concernant les liens existants entre le système endocannabinoïde et la régulation de l'adipogenèse, plusieurs questions restent ouvertes. En particulier, le rôle autocrine des endocannabinoïdes dans les phases précoces de l'engagement des cellules stromales mésenchymateuses en préadipocytes demeure encore partiellement élucidé. La majorité des données disponibles provient de modèles *in vitro* utilisant des lignées préadipocytaires ou des cellules stromales dérivées du tissu adipeux cultivées dans des conditions contrôlées, qui ne reflètent pas la complexité de la niche du tissu adipeux *in vivo*.

Ces limites de connaissance empêchent la compréhension globale du rôle du système endocannabinoïde dans l'homéostasie adipocytaire et dans la transition entre une expansion métaboliquement saine et une expansion délétère du tissu adipeux.

Ainsi, pour répondre à ces interrogations, la suite de ce manuscrit s'articulera autour d'une revue bibliographique de la littérature, suivie de la présentation des résultats expérimentaux issus de mon travail de thèse, centré sur la production des endocannabinoïdes par le tissu adipeux et leur rôle régulateur dans l'adipogenèse.

Partie A : Le tissu adipeux

1. Généralités sur le tissu adipeux

Le tissu adipeux (TA) est un tissu conjonctif constitué principalement d'adipocytes, jouant un rôle essentiel dans le stockage de l'énergie sous forme de lipides, l'isolation thermique, la protection mécanique des organes, ainsi que dans les régulations endocrinienne et métabolique de l'organisme. Chez les mammifères, plusieurs types de TA aux caractéristiques et localisations anatomiques distinctes coexistent : le TA blanc, le TA brun et le TA beige. Les adipocytes de ces différents tissus présentent des caractéristiques cellulaires spécifiques reflétant leurs fonctions respectives (**Figure 3**). Le TA blanc, quantitativement majoritaire chez l'adulte, est principalement spécialisé dans le stockage de l'énergie sous forme de TG et joue également un rôle endocrine majeur par la sécrétion d'adipokines impliquées dans la régulation du métabolisme, de l'inflammation et de la sensibilité à l'insuline. Les adipocytes blancs se caractérisent notamment par une unique grande vacuole lipidique occupant la majeure partie du cytoplasme (**Figure 3**).

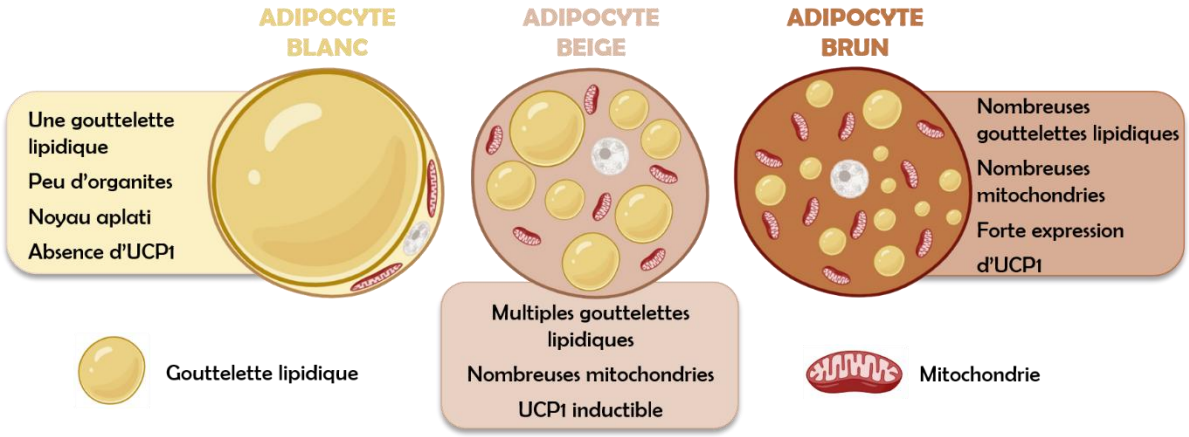


Figure 3 - Caractéristiques morphologiques et fonctionnelles des adipocytes blancs, beiges et bruns : Représentation schématique des principales différences structurales entre les adipocytes blancs, beiges et bruns. L'adipocyte blanc est caractérisé par une unique grande gouttelette lipidique, un cytoplasme réduit, un noyau aplati en périphérie et un faible contenu mitochondrial, ce qui reflète sa fonction principale de stockage de l'énergie sous forme de triglycérides. Au contraire, les adipocytes beiges et bruns présentent plusieurs petites gouttelettes lipidiques et un grand nombre de mitochondries ; ils possèdent une capacité thermogénique liée à l'expression de la protéine mitochondriale UCP1, inductible dans l'adipocyte beige et très élevée dans l'adipocyte brun.

À l'inverse, le TA brun présente de nombreuses petites gouttelettes lipidiques et une forte densité mitochondriale. Il possède une forte capacité thermogénique grâce à l'expression de la protéine découplante 1 (UCP1) dans les mitochondries, permettant la dissipation de l'énergie sous forme de chaleur. Enfin, le TA beige correspond à une population d'adipocytes inductibles apparaissant au sein du TA blanc en réponse à certains stimuli, notamment au froid ou à l'exercice physique et partageant

certaines propriétés morphologiques et thermogéniques avec le TA brun. Bien que ces différents types de TA participent tous à l'équilibre énergétique de l'organisme, le TA blanc demeure le principal compartiment de stockage lipidique et le plus directement impliqué dans les altérations métaboliques associées à l'obésité.

a. Le tissu adipeux blanc

Le TA blanc est principalement reconnu comme le principal réservoir énergétique de l'organisme. Il stocke l'excès d'énergie en cas de balance énergétique positive, tout en étant capable de mobiliser ces réserves lipidiques pour fournir de l'énergie *via* le processus de lipolyse. Le TA blanc se divise en deux grandes catégories fonctionnelles : le TA blanc viscéral (TAV) et le TA blanc sous-cutané (TASC).

i. Structure et composition

Le TA blanc constitue un tissu conjonctif spécialisé, hétérogène, organisé en un réseau complexe associant des adipocytes uniloculaires, des cellules endothéliales, des péricytes, des fibroblastes, des cellules immunitaires ainsi que des cellules stromales/progénitrices adipogéniques formant la fraction stromale vasculaire (FSV). Les composants de la FSV assurent des fonctions de soutien, de modulation immunitaire et une grande plasticité métabolique. Cette organisation structurale particulière confère au TA blanc, en plus de sa fonction de réserve énergétique, des rôles auto-, para- et endocrines essentiels dans la régulation hormonale et immunitaire de l'organisme (Wronska and Kmiec, 2012).

1. Les adipocytes blancs

Les adipocytes blancs uniloculaires, de forme sphérique, sont les cellules les plus volumineuses de l'organisme, mesurant en moyenne entre 30 à 150 µm. Selon des données issues d'analyse RNA-seq, environ 50 % des cellules du TA blanc sont des adipocytes blancs chez l'Homme et la souris (Emont et al., 2022). Ces cellules sont constituées d'une grande gouttelette lipidique occupant la quasi-totalité du volume cellulaire, délimitée par une monocouche lipidique enrichie d'une série de protéines structurales, comme la vimentine ou la périlipine (Ohsaki et al., 2009). Par manque de place, le noyau est aplati et repoussé contre la membrane plasmique, à la périphérie de la cellule. Le cytoplasme contient un appareil de Golgi, un réticulum endoplasmique lisse et rugueux, des ribosomes libres ainsi que de grandes mitochondries allongées (Sato et al., 2005). Les lipides nouvellement synthétisés forment initialement de petites gouttelettes dans la zone périphérique du cytoplasme (**Figure 3**).

Ces gouttelettes sont transportées le long des microtubules et finissent par fusionner avec la gouttelette lipidique centrale (Verstraeten et al., 2011). Il est estimé qu'entre 90 à 99 % des lipides stockés dans les gouttelettes lipidiques sont des triglycérides (TG). Une étude a suggéré que la totalité des TG stockés dans l'organisme contient suffisamment d'énergie pour couvrir les besoins énergétiques d'un adulte en bonne santé pendant une période de deux mois (Frigolet and Gutiérrez-

Aguilar, 2023). Il est estimé que la durée de vie d'un adipocyte mature est de 10 ans et que le renouvellement des triglycérides à l'intérieur se produit tous les 2 ans (Spalding et al., 2008). La génération de nouveaux adipocytes résulte de l'adipogenèse, un processus au cours duquel des cellules stromales du tissu adipeux, incluant des progéniteurs adipocytaires à différents degrés d'engagement, acquièrent progressivement un phénotype adipocytaire mature. Chez l'adulte, ces populations sont principalement localisées au sein de la FSV et comprennent des cellules progénitrices immatures ainsi que des préadipocytes déjà engagés dans la lignée adipocytaire. Ce mécanisme, relativement lent, s'étend sur une durée d'environ 10 ans (Arner et al., 2011), et sera décrit plus en détail dans la suite du manuscrit.

2. La fraction stromale vasculaire

La FSV correspond à l'ensemble hétérogène de cellules obtenu après dissociation du TA et séparation des adipocytes matures (**Figure 4**). Elle a été isolée pour la première fois par Martin RODBELL en 1964 (Rodbell, 1964). À cette époque, l'attention de la communauté scientifique était majoritairement portée sur les adipocytes, avant que l'intérêt ne s'étende progressivement à leur microenvironnement, en particulier à la FSV. Il n'existe pas de consensus sur les proportions relatives des différents types cellulaires en raison des variations liées aux conditions physiopathologiques (García-Rubio et al., 2018). De plus, il n'existe pas de valeurs officielles sur les proportions relatives des différents types cellulaires en raison des disparités entre les résultats obtenus par cytométrie en flux et par RNA-seq, même si certaines publications donnent des estimations relativement précises (Bourin et al., 2013; X. Liu et al., 2022).

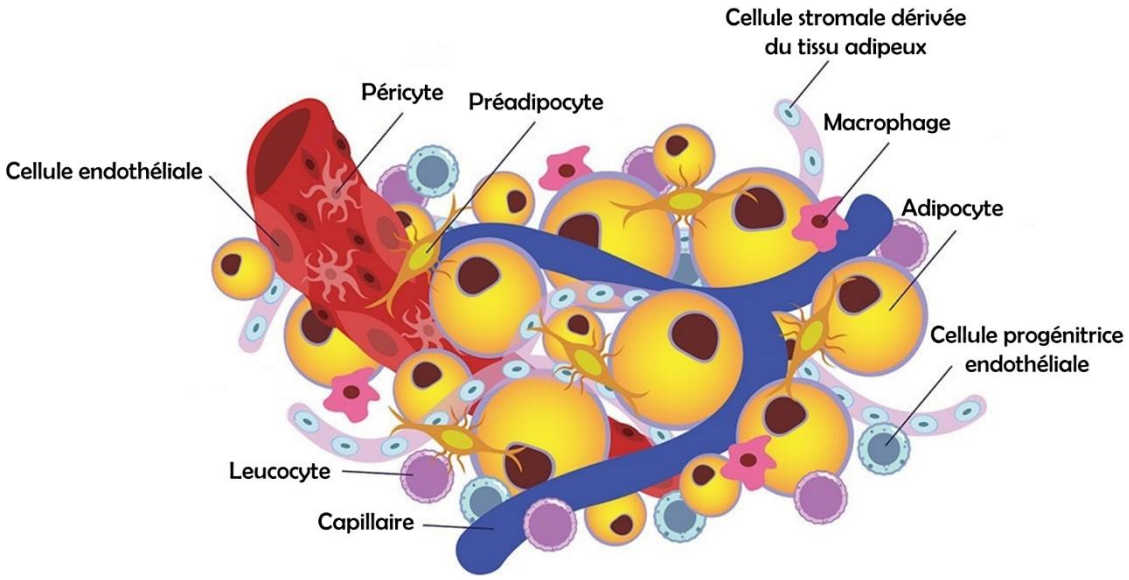


Figure 4 - Composition cellulaire du tissu adipeux blanc *: Représentation schématique des principales populations cellulaires du tissu adipeux blanc. Celui-ci comprend des adipocytes matures et une fraction stromale vasculaire (FSV) hétérogène, regroupant notamment des cellules stromales dérivées du tissu adipeux, des cellules*

endothéliales, des péricytes et des cellules immunitaires. Le compartiment stromal comprend des progéniteurs adipocytaires présentant différents degrés d'engagement, dont les préadipocytes constituent une sous-population engagée dans la lignée adipocytaire. Le réseau vasculaire et les cellules qui lui sont associées participent à l'organisation de la niche adipocytaire et au maintien de l'homéostasie tissulaire. Schéma adapté de « Ambrose Cell Therapy », https://ambrosecelltherapy.com.

- **Les cellules stromales dérivées du tissu adipeux**

Le terme ADSC (adipose-derived stromal cells) désigne les cellules stromales du TA. Son utilisation nécessite toutefois de distinguer les cellules stromales fraîchement isolées de la FSV des populations obtenues après sélection par adhérence au plastique et amplification en culture. Ces dernières ne reproduisent pas nécessairement la diversité ni les propriétés des populations stromales présentes dans le tissu d'origine, car les conditions de culture exercent une sélection et modifient leur phénotype (Baer, 2014; Bourin et al., 2013).

Historiquement, les ADSC cultivées ont été rapprochées des cellules stromales mésenchymateuses (CSM) en raison de leur adhérence au plastique, de leur profil de marqueurs de surface et de leur capacité à se différencier, dans des conditions inductrices définies, vers les lignées adipocytaire, ostéogénique et chondrogénique (Cawthorn et al., 2012; Dominici et al., 2006). Les critères minimaux proposés pour caractériser les cellules stromales mésenchymateuses humaines en culture comprennent :

- Ces cellules sont adhérentes au plastique dans des conditions de culture standard.
- Ces cellules possèdent un phénotype bien caractérisé : au moins 95% des cellules doivent exprimer les marqueurs CD105, CD73 et CD90, tandis que moins de 2% des cellules doivent exprimer CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79α ou CD19, ainsi que HLA-DR.
- Ces cellules ont la capacité de se différencier *in vitro* en ostéoblastes, chondrocytes ou adipocytes, après induction par des cocktails définis pour chacune de ces lignées. Ces capacités de différenciation constituent des critères fonctionnels obtenus dans des conditions expérimentales contrôlées et ne permettent pas, à elles seules, de conclure à une multipotence équivalente *in vivo*. Dans certaines conditions expérimentales spécifiques, elles peuvent également adopter des phénotypes décrits comme musculaires ou endothéliaux, mais la pertinence physiologique de ces observations demeure discutée (Caplan, 2017; Dominici et al., 2006).

Ces critères concernent les cellules humaines cultivées et ne doivent pas être transposés directement aux populations fraîchement isolées ni aux cellules murines. En particulier, les ADSC peuvent exprimer CD34 lors de leur isolement, puis perdre progressivement son expression en culture (Bourin et al., 2013; Mitchell et al., 2006; Sidney et al., 2014). Par ailleurs, les capacités de

différenciation observées in vitro ne suffisent pas, à elles seules, à démontrer une multipotence équivalente in vivo.

Dans ce manuscrit, le terme ADSC est conservé pour décrire les cellules stromales dérivées du tissu adipeux étudiées expérimentalement, en précisant leur mode d'isolement et leurs conditions de culture. Le terme APC (progéniteurs adipocytaires) est privilégié lorsque la discussion porte spécifiquement sur les progéniteurs de la lignée adipocytaire et leur degré d'engagement. Les deux termes ne sont donc pas employés comme des synonymes stricts.

- **Les progéniteurs adipocytaires**

Les progéniteurs adipocytaires (adipocyte progenitor cells, APC) constituent un ensemble hétérogène de populations stromales susceptibles de contribuer à la formation de nouveaux adipocytes. Dans la terminologie retenue ici, ils comprennent des progéniteurs immatures et des populations plus avancées dans leur engagement adipocytaire, dont les préadipocytes (Berry and Rodeheffer, 2013; Merrick et al., 2019).

Les approches de séquençage d'ARN à l'échelle de la cellule ou du noyau unique ont profondément renouvelé la description de ces populations. Elles ont révélé différents états transcriptionnels au sein du compartiment stromal, associés notamment à la prolifération, à la compétence adipogénique, au remodelage de la matrice extracellulaire et aux interactions avec les compartiments vasculaire et immunitaire. Leur distribution et leurs caractéristiques varient selon le dépôt adipeux, l'espèce et le contexte physiopathologique (Emont et al., 2022; Hepler et al., 2018; Merrick et al., 2019).

Les travaux de Merrick et al. ont notamment identifié des progéniteurs stromaux immatures exprimant DPP4 et des populations plus engagées correspondant à des préadipocytes. Ces résultats soutiennent l'existence de transitions entre différents états de progéniteurs, plutôt qu'une population uniforme de cellules précurseurs. Cette organisation ne doit cependant pas être considérée comme une hiérarchie universelle identique dans tous les dépôts et toutes les conditions expérimentales (Merrick et al., 2019).

Il convient ainsi de distinguer l'engagement adipocytaire, au cours duquel les progéniteurs acquièrent progressivement l'identité de la lignée adipocytaire, de la différenciation terminale, qui conduit à l'acquisition des caractéristiques morphologiques et fonctionnelles de l'adipocyte mature (Hepler et al., 2017b; Merrick et al., 2019).

- **Les préadipocytes**

Les préadipocytes constituent une population de cellules progénitrices adipocytaires engagées, représentant un stade intermédiaire de l'adipogenèse (Merrick et al., 2019). Ils résident majoritairement dans des niches périvasculaires de la FSV et se distinguent des populations stromales plus immatures par l'acquisition progressive d'un programme transcriptionnel adipogénique. Plutôt que de dériver directement et uniformément des ADSC telles qu'elles sont définies en culture, les préadipocytes s'inscrivent dans un ensemble de progéniteurs adipocytaires présents *in vivo*, à des degrés variables de compétence et d'engagement dans la lignée adipocytaire (Berry and Rodeheffer, 2013; Hepler et al., 2017b; Merrick et al., 2019).

Les premières descriptions microscopiques, remontant aux années 1940, caractérisaient ces cellules par une structure fibroblastique, mononucléaire, mitotiquement active, localisée en périphérie des capillaires vasculaires, proche des péricytes (Clark and Clark, 1940). Outre leur capacité à se différencier en adipocytes, les préadipocytes détiennent une plasticité remarquable, pouvant se dédifférencier en cellules multipotentes et s'orienter vers une ligne de différenciation alternative, notamment ostéogénique, chondrogénique ou myogénique. La portée physiologique de cette plasticité reste toutefois incertaine (Wei et al., 2013a).

Morphologiquement proches des ADSC cultivées, ils partagent de nombreux marqueurs de surface spécifiques, tout en exprimant des facteurs transcriptionnels adipogéniques essentiels, tels que le récepteur gamma activé par les proliférateurs de peroxysomes (PPARγ), indispensable à la différenciation et au fonctionnement des adipocytes matures. Par ailleurs, ils expriment également des facteurs de transcription tels que Zfp423 et Zfp467 qui favorisent notamment l'établissement ou l'activation du programme transcriptionnel contrôlé par PPARγ (Gupta et al., 2010; Huang et al., 2009; Quach et al., 2011). Cependant, la littérature scientifique récente reste controversée concernant la nomenclature, la classification et la fonction exacte des préadipocytes, illustrant la complexité de cette famille cellulaire et la présence probable de plusieurs sous-populations distinctes (Ramirez et al., 2020; H. Wang et al., 2024).

- **Les cellules endothéliales**

Les cellules endothéliales tapissent la lumière des vaisseaux sanguins du TA. Le réseau vasculaire dense qu'elles constituent est indispensable à l'apport local en oxygène et en nutriments, à l'évacuation des métabolites et au maintien de l'homéostasie tissulaire. Elles participent également au remodelage du TA par leurs interactions avec les adipocytes, les cellules stromales et les cellules immunitaires, ainsi que par la sécrétion de médiateurs impliqués dans la régulation de l'angiogenèse (Bourin et al., 2013; Gandolfi et al., 2023).

Les approches de cytométrie et de transcriptomique unicellulaire ou nucléaire mettent en évidence une forte hétérogénéité du compartiment endothélial du TA. Les atlas récents distinguent notamment des cellules endothéliales artérielles, veineuses, capillaires et lymphatiques, ainsi que des sous-populations à profil angiogénique (Emont et al., 2022; Massier et al., 2023).

Dans le TA murin, des cellules endothéliales présentant des profils angiogéniques de type *tip* et *stalk* ont été décrites. Les cellules de type *tip*, généralement migratrices, participent au guidage du bourgeonnement vasculaire, tandis que les cellules de type *stalk*, plus prolifératives, contribuent à l'allongement du bourgeon capillaire et à la formation de sa lumière. Ces états reflètent des programmes fonctionnels dynamiques, dépendants des signaux angiogéniques locaux et susceptibles d'évoluer au cours du remodelage vasculaire (So et al., 2025). Cette organisation fonctionnelle soutient l'adaptation du réseau vasculaire lors du remodelage du TA.

Historiquement, certaines populations de la FSV ont été désignées comme cellules progénitrices endothéliales (EPC). Toutefois, cette dénomination recouvre des populations hétérogènes et leur identité fonctionnelle *in vivo* reste discutée. Les données de transcriptomique unicellulaire du TA humain identifient notamment une sous-population exprimant des gènes précédemment associés à des « early endothelial progenitor cells », tels que *TYROBP* et *FCER1G*. Cette signature est cependant également compatible avec une origine hématopoïétique et une activité pro-angiogénique principalement paracrine. Ainsi, dans ce manuscrit, le terme EPC sera utilisé uniquement de manière opérationnelle pour désigner la population définie par la stratégie de cytométrie correspondante, sans préjuger de son statut de véritable progéniteur endothélial dans le TA adulte (Massier et al., 2023).

En cytométrie, les cellules endothéliales sanguines peuvent être identifiées au sein de la FSV par l'expression conjointe de CD31 et de CD34, associée à l'exclusion des cellules hématopoïétiques $CD45^+$. Toutefois, l'expression de ces marqueurs varie selon le type de vaisseau, le dépôt adipeux, l'espèce, la méthode d'isolement et les conditions expérimentales. L'identification précise des sous-populations endothéliales doit donc reposer sur une combinaison de marqueurs plutôt que sur l'expression isolée de CD31 ou de CD34 (Garipcan et al., 2011).

- **Les péricytes**

Les péricytes constituent une population minoritaire au sein de la FSV, représentant moins de 5 % du nombre total de cellules (Bourin et al., 2013). Tout comme les cellules endothéliales, les péricytes sont des cellules murales périvasculaires localisées à l'extérieur des capillaires sanguins. Cette position stratégique leur permet d'établir une communication étroite avec les cellules endothéliales *via* des jonctions communicantes et des interactions paracrines, contribuant ainsi à la régulation du remodelage vasculaire et au bon déroulement de l'angiogenèse (Díaz-Flores et al., 2009). Les péricytes

contribuent notamment à la maturation, à la stabilité, à la perméabilité et à la contractilité des microvaisseaux, en partie par leur dialogue avec les cellules endothéliales et par la sécrétion de médiateurs tels que l'angiopoïétine-1 (Gaengel et al., 2009). Certaines études ont rapporté que des sous-populations de péricytes isolées pouvaient, dans des conditions de culture et d'induction spécifiques, acquérir des caractéristiques adipocytaires, ostéogéniques ou chondrogéniques (Farrington-Rock et al., 2004). Par ailleurs, des péricytes implantés chez des souris athymiques ont donné lieu, 56 jours plus tard, à des cellules présentant des caractéristiques similaires à celles d'adipocytes matures (Crisan et al., 2011; Farrington-Rock et al., 2004). Toutefois, les études de traçage de lignée réalisées *in vivo* remettent en question l'idée que les péricytes adultes constituent une population de cellules souches mésenchymateuses multipotentes ou une source majeure de progéniteurs adipocytaires dans les conditions physiologiques et pathologiques étudiées (Guimarães-Camboa et al., 2017). Ainsi, dans ce manuscrit, les péricytes sont principalement considérés comme des cellules murales assurant des fonctions de soutien, de stabilité et de remodelage de la microvascularisation (Tallone et al., 2011).

- **Les cellules d'origine hématopoïétique**

Les cellules hématopoïétiques $CD45^+$ constituent une composante importante de la FSV du TA. Leur abondance relative varie toutefois selon le dépôt adipeux, l'espèce, l'âge, le sexe et le contexte métabolique. Les approches de cytométrie multiparamétrique et de transcriptomique unicellulaire ont mis en évidence une grande diversité de populations immunitaires dans le TA, incluant notamment des macrophages, des monocytes, des cellules dendritiques, des lymphocytes T, des lymphocytes B, des cellules NK, des mastocytes et des cellules lymphoïdes innées (Emont et al., 2022; X. Liu et al., 2022).

Les macrophages constituent généralement l'une des populations immunitaires les plus abondantes du tissu adipeux, particulièrement dans le tissu adipeux viscéral et en situation d'obésité. Toutefois, leur description selon une opposition stricte entre macrophages « M1 » pro-inflammatoires et « M2 » anti-inflammatoires apparaît aujourd'hui insuffisante. Les données de transcriptomique unicellulaire mettent plutôt en évidence un ensemble de sous-populations macrophagiques présentant des profils distincts, associés notamment à la surveillance périvasculaire, au métabolisme lipidique, à la phagocytose et au remodelage tissulaire. Certaines sous-populations, notamment les macrophages associés aux lipides, sont enrichies au cours de l'obésité et participent au remodelage inflammatoire et métabolique du TA (Kang and Lee, 2024).

L'ensemble des cellules immunitaires résidentes ou recrutées contribue à la surveillance immunitaire, à l'élimination des adipocytes endommagés, au remodelage de la matrice extracellulaire,

à l'angiogenèse et à la régulation des interactions entre adipocytes, cellules vasculaires et cellules stromales. Au cours de l'obésité, la composition et l'état d'activation de ces populations sont modifiés, contribuant à l'installation d'une inflammation chronique de bas grade et à la dysfonction métabolique du tissu adipeux. Des études chez l'Homme montrent que ces modifications peuvent, au moins en partie, évoluer après une perte de poids (García-Rubio et al., 2018). Cette sensibilité souligne le rôle clé de ces cellules immunitaires dans la réponse inflammatoire et métabolique associée au TA.

ii. Localisation

Le TA blanc est classiquement subdivisé en deux compartiments anatomiques, le TASC et le TAV, qui se distinguent chacun par leurs localisations anatomiques spécifiques, respectivement sous la peau et dans la cavité abdominale entourant les organes internes.

Chez la souris, il est difficile de déterminer avec précision le pourcentage de masse grasse par rapport à la masse totale, car cela varie selon l'espèce, le sexe, l'âge et l'état physiopathologique de l'animal. Par définition, la souris présente sous la peau de très nombreux dépôts de TASC, parmi lesquels deux sont particulièrement importants (**Figure 5**). Le TA inguinal est le principal dépôt sous-cutané, situé sous la peau dans la région inférieure de la paroi abdominale et de l'aine, de chaque côté du corps. Le TA antérieur se trouve également sous la peau, à l'avant du corps entre les épaules. La souris possède aussi plusieurs dépôts de TAV. Le plus volumineux est le TA gonadique, entourant l'épididyme et les testicules chez le mâle, ou les ovaires et l'utérus chez la femelle. Ce dépôt est considéré comme l'un des plus représentatifs des altérations métaboliques associées à l'obésité chez la souris, car il augmente fortement au cours de la prise de poids et est largement utilisé comme modèle d'étude du TAV, bien qu'il ne possède pas d'homologue anatomique strict chez l'Homme (**Figure 5**).

La souris possède également un TA mésentérique, moins volumineux, qui s'accumule en réseau le long du mésentère, une structure péritonéale assurant le maintien des intestins et contenant les structures vasculo-nerveuses associées. D'autres dépôts viscéraux sont présents, notamment le TA périrénal, localisé autour des reins et le TA omental, situé dans le grand omentum, un repli du péritoine reliant l'estomac aux organes abdominaux et recouvrant partiellement les anses intestinales (**Figure 5**). Ces différents dépôts de TAV présentent des caractéristiques biologiques distinctes en termes de vascularisation, de composition cellulaire et de profil inflammatoire, contribuant de manière variable aux altérations métaboliques observées dans l'obésité (Barthelemy et al., 2023).

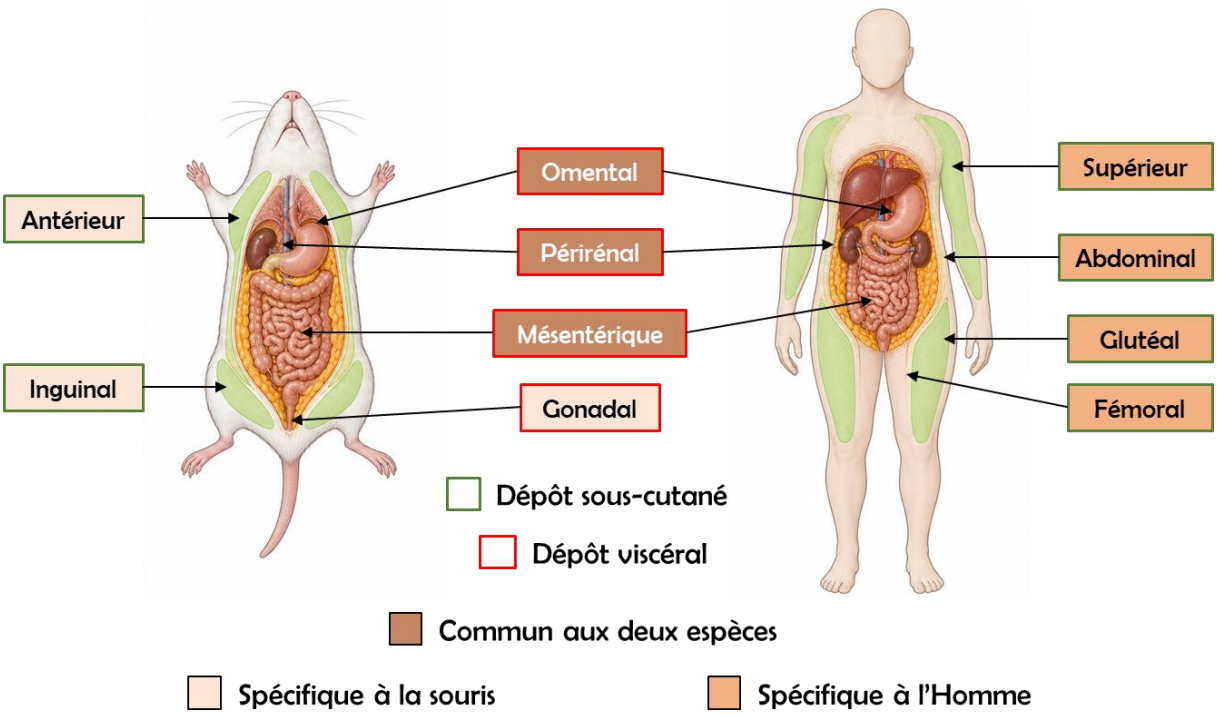


Figure 5 - Localisation des dépôts majeurs de TA blanc viscéral et sous-cutané chez la souris et l'Homme adulte *: Les dépôts spécifiques à la souris sont indiqués en beige ; les dépôts spécifiques à l'Homme sont indiqués en orange et les dépôts communs aux deux espèces sont indiqués en marron. Les dépôts de TA viscéral sont entourés en rouge et les dépôts de TA sous-cutané sont entourés en vert.*

Chez l'Homme adulte, il est plus facile d'obtenir des données représentatives de la population, bien que comme chez la souris, la variation individuelle puisse être importante. Les estimations indiquent qu'entre 80 à 90 % de la masse grasse appartient au TASC, contre 10 à 20 % au TAV (Ibrahim, 2010). L'Homme possède de nombreux dépôts de TASC, notamment les dépôts des membres supérieurs et du tronc localisés autour des épaules et des bras (Figure 5). Le dépôt glutéo-fémoral constitue également une zone importante du TASC, souvent plus développée chez les femmes que chez les hommes (Blaak, 2001). Le compartiment sous-cutané comprend également un dépôt abdominal, localisé au niveau de la paroi abdominale. Le TAV, quant à lui, est représenté notamment par le dépôt omental, localisé au sein du grand omentum, un repli péritonéal s'étendant de la grande courbure gastrique au côlon transverse, et constitue l'un des principaux dépôts de TAV intra-abdominal. Il existe également, chez l'Homme, plusieurs dépôts adipeux localisés au contact direct ou à proximité immédiate de certains organes, comme la graisse périrénale, la graisse péricardique/épicardique, la graisse péri-hépatique ou encore les dépôts péri-pancréatiques et mésentériques (Figure 5). Ces compartiments, bien que quantitativement moins abondants que les grands dépôts sous-cutanés ou omentaux, présentent un intérêt physiopathologique majeur en raison de leur proximité anatomique avec les organes qu'ils entourent, ce qui favorise des interactions locales paracrines et mécaniques (Wang et al., 2026).

Cependant, certains dépôts présentent des comportements distinctifs en situation physiopathologique. En effet, au cours de l'obésité, les dépôts de TAV, notamment omental et mésentérique, présentent une expansion préférentielle et sont associés à un risque accru de complications métaboliques. Le TA omental est classiquement fortement corrélé à l'insulinorésistance et aux perturbations cardiométaboliques systémiques, tandis que le TA mésentérique contribue plus spécifiquement aux altérations de l'axe intestin–foie, notamment à la stéatose hépatique (Neeland et al., 2013).

iii. Fonctions

Le TAB est principalement connu pour ses fonctions de gestion des réserves énergétiques par l'intermédiaire de 2 voies métaboliques majeures : la lipogenèse, conduisant à la synthèse et au stockage des lipides sous forme de TG dans les adipocytes, et la lipolyse, permettant la mobilisation de ces TG pour fournir de l'énergie à l'organisme sous forme d'acides gras (AG) et de glycérol.

1. *La lipogenèse : mise en réserve des graisses*

Le stockage de l'énergie sous forme de TG au sein des gouttelettes lipidiques des adipocytes repose sur la coordination de deux voies métaboliques complémentaires, souvent regroupées sous le terme générique de lipogenèse. Toutefois, il convient de différencier la lipogenèse *de novo* de la voie d'estérification des AG préformés. Alors que la première consiste en la synthèse endogène de nouveaux AG à partir de précurseurs non lipidiques (principalement le glucose), la seconde assure l'assemblage de TG à partir d'AG d'origine exogène (alimentaire ou hépatique) captés dans la circulation. Cette distinction est importante car ces deux voies répondent à des régulations hormonales propres, présentent des coûts énergétiques différents pour la cellule et jouent un rôle distinct dans l'homéostasie métabolique et la physiopathologie du TA.

La majorité des AG utilisés pour la synthèse des TG dans le TA proviennent de l'alimentation. Après un repas, les lipides alimentaires sont absorbés par l'intestin grêle, puis se retrouvent dans le plasma où ils sont transportés sous forme de lipoprotéines complexes en raison de leur hydrophobicité. Les TG issus de l'alimentation sont majoritairement transportés par les chylomicrons, alors que les lipides endogènes, notamment le cholestérol, sont principalement transportés par des lipoprotéines de différentes densités : lipoprotéines de très faible densité (VLDL), lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL), lipoprotéines de faible densité (LDL) et lipoprotéines de haute densité (HDL). Au niveau des dépôts de TA, les AG sont libérés de ces complexes par la lipoprotéine lipase (LPL), qui est fixée à la membrane apicale des cellules endothéliales grâce à la protéine $GpiHBP_1$. La LPL catalyse l'hydrolyse des TG, libérant des AG à partir des chylomicrons et des VLDL (Davies et al., 2010). Le transport des AG à travers la membrane plasmique des adipocytes n'est pas encore totalement

compris, cependant, la littérature distingue deux mécanismes principaux selon la taille des acides gras : par diffusion simple pour les AG à courte et moyenne chaîne et par captage médié par des protéines de transport d'AG, comme les protéines de liaison aux acides gras (FABPs), la translocase aux acides gras (CD36). D'autres protéines ont également été identifiées, comme la cavéoline-1 ou les protéines de transport aux acides gras (FATPs) (Carpentier, 2021) (**Figure *6***).

À l'intérieur de l'adipocyte, les AG d'origine exogène sont transportés par la FABP4 (ou Ap2) puis activés sous la forme d'acyl-coenzyme A (acyl-CoA) par l'acyl-CoA synthase (ACS) afin d'être estérifiés séquentiellement avec une molécule de glycérol 3-phosphate (G3P) pour former un TG selon la voie de Kennedy combinant l'action de 4 enzymes (**Figure *6***) : 1) La GPAT (Glycerol-3-phosphate acyltransferase) qui transfère le premier acyl-CoA sur le G3P, formant le lysophosphatidate. 2) La 1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase (AGPAT) ajoute un second acyl-CoA, formant l'acide phosphatidique (AP). 3) La phosphatidate phosphatase (PAP) qui déphosphoryle l'AP en diacylglycérol (DAG). Enfin, 4) la diacylglycérol-O-acyltransférase 2 (DGAT2) qui catalyse la réaction terminale : DAG + Acyl-CoA formant un TG qui sera ensuite stocké dans les gouttelettes lipidiques (Rutkowski et al., 2015) (**Figure *6***).

Les AG issus de la lipogenèse *de novo* à partir de substrats glucidiques (essentiellement le glucose) sont également estérifiés en TG mais leur participation reste minoritaire dans des conditions nutritionnelles normales (Schwarz et al., 1995). Le glucose est importé dans la cellule *via* le transporteur de glucose de type 4 (GLUT4), puis métabolisé par la glycolyse qui génère du pyruvate. Ce dernier est transformé en acétyl-CoA dans la mitochondrie, puis exporté sous forme de citrate vers le cytosol et reconverti en acétyl-CoA par l'ATP citrate lyase. L'acétyl-CoA, précurseur des AG, est carboxylé en malonyl-CoA par l'acétyl-CoA carboxylase (ACC), puis condensé en palmitate par la fatty acid synthase (FAS). Le palmitate produit (C16:0) peut ensuite subir des réactions d'élongation et de désaturation pour donner d'autres AG, comme l'oléate (C18:1) ou être directement incorporé dans les TG après estérification (Rutkowski et al., 2015) (**Figure *6***).

La lipogenèse est contrôlée par plusieurs hormones agissant à divers niveaux de la voie de synthèse lipidique. L'insuline, sécrétée par les cellules β-pancréatiques en réponse à l'élévation glycémique post-prandiale (Petersen and Shulman, 2018), favorise le captage du glucose par les adipocytes *via* la translocation du transporteur GLUT4 à la membrane plasmique (Govers et al., 2004). De plus, l'hyperinsulinisme post-prandial augmente l'expression et la maturation protéique de Sterol regulatory element-binding protein (SREBP-1c), facteur transcriptionnel qui favorise l'expression des gènes lipogéniques majeurs tels que *FAS* et *ACC* (Horton et al., 2002; Shimomura et al., 1999). Le glucose peut également intervenir directement sur la lipogenèse par l'intermédiaire du facteur de

transcription Carbohydrate-responsive element-binding protein (ChREBP) en empruntant la voie des pentoses phosphates. Le glucose est alors métabolisé en xylulose-5-phosphate qui déphosphoryle ChREBP par l'intermédiaire de la phosphatase 2A. Ainsi, ChREBP peut être transloqué dans le noyau sur les promoteurs des gènes lipogéniques FAS et ACC pour augmenter leur expression (Kabashima et al., 2003). Les Liver X receptors (LXRs) sont également des facteurs de transcription favorisant la lipogenèse. En effet, leur activation par des agonistes stimule l'expression de SREBP-1c, favorisant par conséquent l'expression des gènes *Fas* et *Acc* comme démontré dans le modèle 3T3-L1 (Seo et al., 2004). Enfin, l'Acylation Stimulating Protein (ASP) peut lui aussi réguler la synthèse des TG dans le TA. En effet, il est produit par les adipocytes et agit localement en stimulant la capture de glucose et des AG libres et en favorisant l'activité des enzymes terminales de la voie de synthèse des TG (Maslowska et al., 1997; Yasruel et al., 1991) (**Figure *6***).

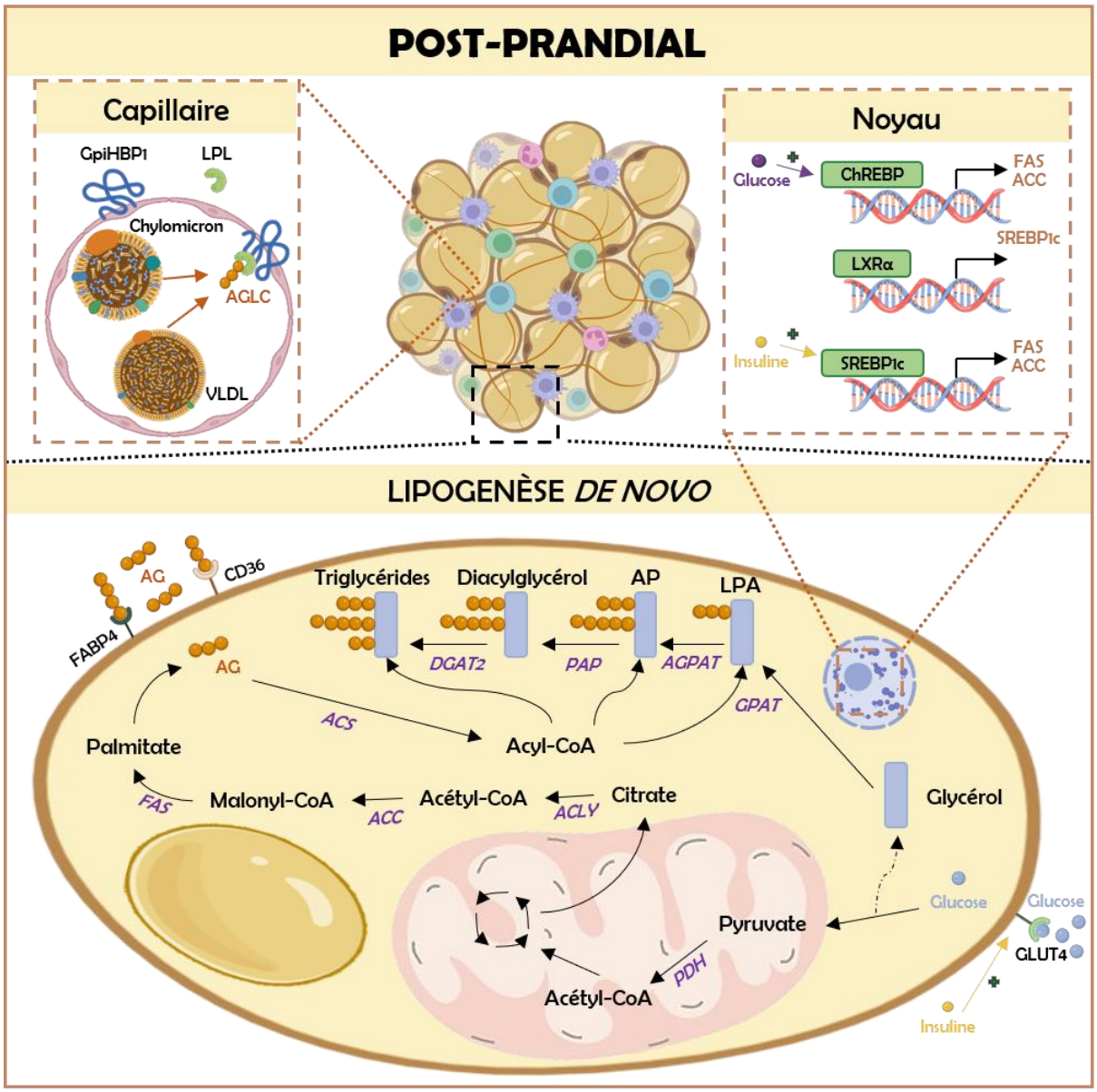


Figure 6 - Mécanismes de stockage des lipides dans l'adipocyte en période post-prandiale : Les adipocytes *captent différentes sources de nutriments, notamment le glucose et les acides gras. Ces derniers proviennent de l'hydrolyse des triglycérides transportés par les chylomicrons et les lipoprotéines de très basse densité. Sous l'effet de l'insuline, la translocation de GLUT4 augmente l'entrée du glucose dans l'adipocyte, contribuant à la production de glycérol-3-phosphate et d'acétyl-CoA. La lipogenèse de novo utilise l'acétyl-CoA, provenant majoritairement du glucose, comme substrat pour la synthèse des acides gras. Ceux-ci sont ensuite estérifiés en triglycérides pour être stockés dans les gouttelettes lipidiques. L'expression des enzymes clés de la synthèse lipidique, telles que la fatty acid synthase et l'acétyl-CoA carboxylase, est régulée par des facteurs de transcription comme ChREBP, LXRα et SREBP1c, activés en réponse au glucose et à l'insuline. Schéma inspiré de (Sakers et al., 2022).*

2. La lipolyse : Mobilisation des graisses

À l'inverse de la lipogenèse, la lipolyse correspond à la mobilisation des réserves lipidiques des adipocytes lorsque les besoins énergétiques augmentent, notamment au cours du jeûne, de l'exercice physique ou d'autres situations de stress métabolique.

Dans le TA blanc, ce processus repose sur l'hydrolyse séquentielle des TG stockés dans les gouttelettes par trois lipases principales : La lipase des triglycérides des adipocytes (ATGL) catalyse la première étape conduisant à la formation de DAG, la lipase hormono-sensible (HSL) hydrolyse principalement les DAG en monoacylglycérol (MAG), puis la lipase des monoacylglycérols (MAGL) achève la cascade en libérant un AG et du glycérol (Lafontan and Langin, 2009; Yang and Mottillo, 2020). Les acides gras non estérifiés ainsi libérés sont exportés vers la circulation et utilisés comme substrats oxydatifs par plusieurs tissus, notamment le muscle squelettique, le foie, le cœur et le TA brun, tandis que le glycérol alimente principalement la néoglucogenèse hépatique. Une fraction importante, estimée entre 40 à 70 % des acides gras libérés, est toutefois réestérifiée localement au sein de l'adipocyte, ce qui limite la lipotoxicité et participe au maintien d'un flux lipidique basal (Wolfe et al., 1990) (**Figure 7**).

La lipolyse adipocytaire est principalement contrôlée par le système nerveux sympathique, *via* la libération locale de noradrénaline au niveau des terminaisons nerveuses innervant le TA (Wirsén, 1964). Des travaux de surrénalectomie ont montré que la suppression de la source circulante d'adrénaline n'abolit pas la lipolyse, indiquant que la contribution des catécholamines circulantes est limitée par rapport au contrôle nerveux direct (Paschoalini and Migliorini, 1990). Les catécholamines activent surtout les récepteurs β-adrénergiques couplés à Gs, ce qui stimule l'adénylate cyclase (AC), augmente la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) et active la protéine kinase A (PKA) (Lafontan and Langin, 2009). À l'inverse, les récepteurs α2-adrénergiques, couplés à Gi, exercent un effet anti-lipolytique en inhibant l'AC et en réduisant les niveaux d'AMPc (Arner et al., 1990; Braun et al., 2018). Chez les rongeurs, le récepteur β3-adrénergique occupe une place importante dans cette réponse, alors que sa contribution semble plus limitée chez l'humain, chez qui la régulation de la lipolyse dépend davantage des récepteurs β1 et β2 (Braun et al., 2018; Lafontan and Langin, 2009).

Au niveau de la gouttelette lipidique, l'activation de la PKA induit la phosphorylation de la périlipine 1 et de la HSL, coordonnant ainsi l'accès des lipases à leurs substrats. À l'état basal, la périlipine 1 séquestre le coactivateur ABHD5/CGI-58 à la surface de la gouttelette lipidique. Après phosphorylation, CGI-58 est libéré et peut activer l'ATGL, initiant efficacement l'hydrolyse des triglycérides. En parallèle, la HSL phosphorylée transloque du cytosol vers la gouttelette lipidique, où elle hydrolyse préférentiellement les DAG produits par l'ATGL. Cette organisation spatiale souligne que la lipolyse dépend non seulement de l'activité intrinsèque des lipases, mais également d'un contrôle fin de l'accessibilité des substrats à la surface de la gouttelette lipidique (Yang and Mottillo, 2020) (**Figure 7**).

Outre la voie AMPc/PKA, d'autres signaux hormonaux participent également à la régulation de la lipolyse adipocytaire. Les peptides natriurétiques cardiaques, notamment le peptide natriurétique atrial (ANP) et le peptide natriurétique de type B (BNP), activent une voie parallèle impliquant la guanylate cyclase, le GMPc et la PKG, laquelle phosphoryle également la périlipine 1 et la HSL, favorisant ainsi la mobilisation des réserves lipidiques (Sengenes et al., 2005). À l'inverse, le rôle du glucagon comme régulateur direct de la lipolyse dans le TA blanc doit être nuancé. Son effet apparaît fortement dépendant de l'espèce et ne constitue pas, chez l'humain, un déterminant majeur de la lipolyse adipocytaire comparativement aux catécholamines (Hayashi, 2021; Lafontan and Langin, 2009) (**Figure 7**).

À l'opposé, l'insuline constitue le principal signal anti-lipolytique du TA blanc. Après activation de son récepteur, elle déclenche la voie IRS/PI3K/Akt, conduisant notamment à l'activation de la phosphodiestérase 3B, responsable de l'hydrolyse de l'AMPc et de l'antagonisme direct de la cascade catécholaminergique (Lafontan and Langin, 2009). D'autres signaux Gi-couplés, comme le lactate *via* GPR81, renforcent également ce frein anti-lipolytique (Liu et al., 2009). L'insuline inhibe également la lipolyse *via* une régulation transcriptionnelle : chez des souris soumises à un régime riche en graisses, l'activation du récepteur à l'insuline induit PI3K/Akt qui stimule mTORC1 (mechanistic target of rapamycin-1), provoquant l'induction d'Egr1 (Early growth response protein 1). Ce facteur se lie directement au promoteur ATGL, diminuant son expression et la lipolyse basale. *In vitro*, l'utilisation d'un adénovirus Egr1 mime l'effet insulinique, tandis que les inhibiteurs mTORC1 (rapamycine) le bloquent (Chakrabarti et al., 2013, 2010) (**Figure 7**).

Enfin, la lipolyse du TA blanc ne doit pas être considérée comme un simple mécanisme de libération de carburants, mais comme un processus central de la flexibilité métabolique de l'organisme. Une activation excessive de la lipolyse augmente l'exposition de s tissus périphériques aux acides gras non estérifiés et peut contribuer à l'insulinorésistance, à la stéatose hépatique et à d'autres complications métaboliques. À l'inverse, un défaut de lipolyse peut altérer la capacité de l'organisme à mobiliser ses réserves, réduire la flexibilité énergétique et favoriser une reprise pondérale rapide après perte de poids. Ainsi, l'intensité de la lipolyse résulte d'un équilibre dynamique entre signaux stimulants et freins moléculaires, équilibre dont l'altération participe directement au dysfonctionnement du TA blanc dans l'obésité.

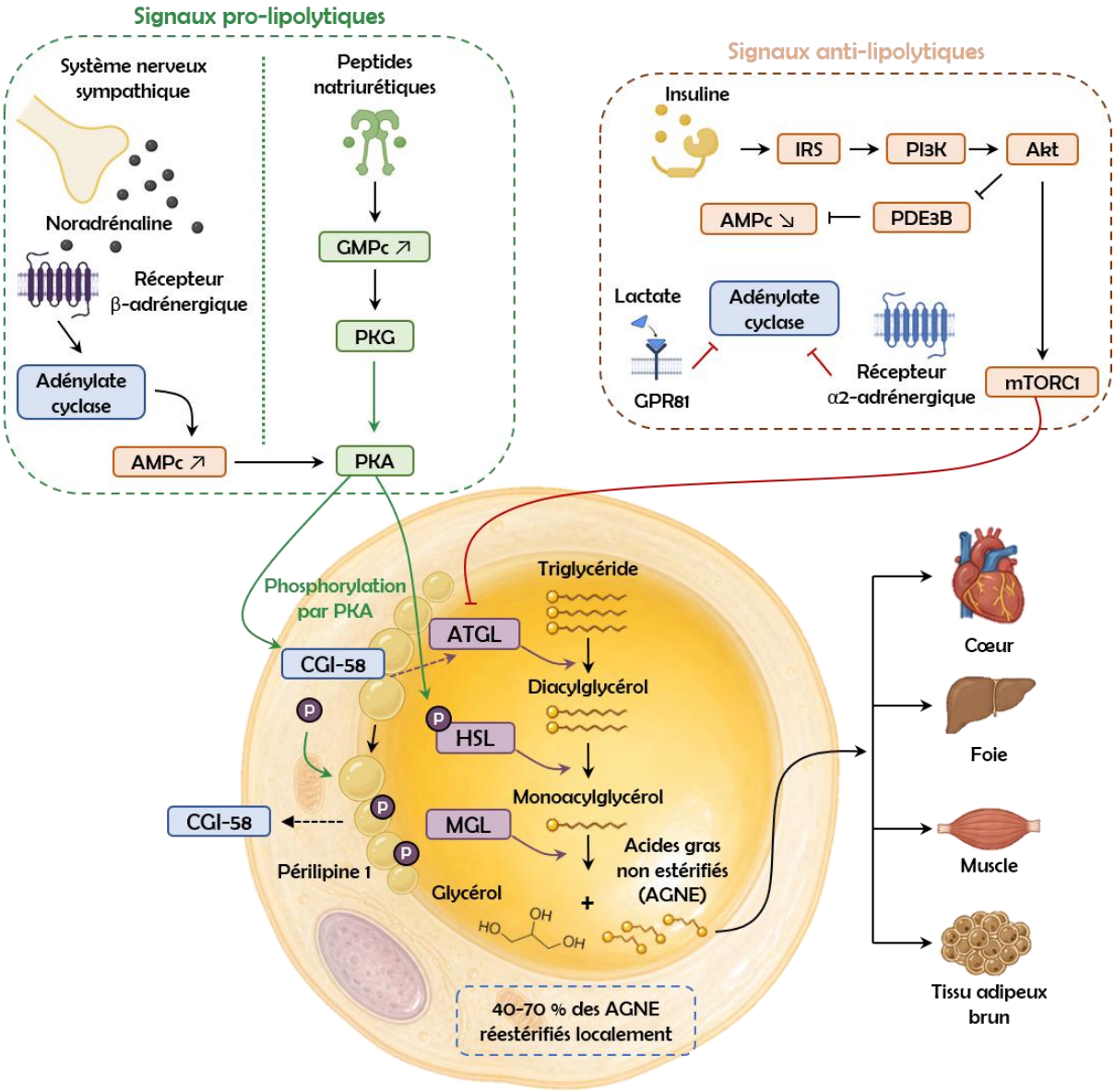


Figure 7 - Régulation de la lipolyse adipocytaire par les signaux pro- et anti-lipolytiques *: La lipolyse adipocytaire est stimulée par les catécholamines issues du système nerveux sympathique et par les peptides natriurétiques, qui activent respectivement les voies AMPc/PKA et cGMP/PKG. L'activation de la PKA conduit à la phosphorylation de périlipine 1 et de HSL, favorisant la libération de CGI-58, l'activation d'ATGL et l'hydrolyse séquentielle des triglycérides par ATGL, HSL puis MGL, avec production d'AGNE et de glycérol. Une partie des acides gras libérés est réestérifiée localement, tandis qu'une autre est exportée vers des tissus périphériques tels que le foie, le muscle, le cœur ou le tissu adipeux brun. À l'inverse, l'insuline exerce un effet anti-lipolytique majeur via les voies IRS/PI3K/Akt et PDE3B, tandis que les récepteurs α2-adrénergiques et GPR81 contribuent également à freiner la production d'AMPc et l'activation de la lipolyse.*

3. Activité sécrétoire et endocrine

Pendant de nombreuses années, le TA était considéré comme un simple réservoir énergétique pour l'organisme. Aujourd'hui, il est reconnu comme un véritable organe endocrine capable de sécréter un large éventail de molécules biologiquement actives, nommées adipokines. Ces molécules régulent des fonctions métaboliques importantes de manière autocrine, paracrine et endocrine au sein

de l'organisme. Cette capacité sécrétoire confère au TA un rôle central dans l'homéostasie énergétique, le contrôle de l'appétit, la sensibilité à l'insuline ainsi que dans la modulation des réponses inflammatoires et immunitaires.

- **Les adipokines**

La première adipokine identifiée est la leptine, découverte en 1994 par l'équipe de Friedman. Cette étude a démontré que les adipocytes blancs étaient les principaux producteurs de la leptine (Zhang et al., 1994). Peu après, une corrélation positive a été établie entre les taux plasmatiques de leptine et la masse grasse chez le rongeur et l'Homme (Maffei et al., 1995). De plus, le taux d'ARNm de leptine est également corrélé à la taille des adipocytes (Guo et al., 2004). Des études menées sur des souris ob/ob (déficientes en leptine) ont révélé qu'elles développaient une hyperphagie et une obésité, tandis que l'administration de leptine recombinante restaure un phénotype normal en réduisant l'appétit et en favorisant la perte de poids (Campfield et al., 1995). Ces observations ont permis d'établir que la leptine module la prise alimentaire en agissant sur le système nerveux central, en traversant la barrière hémato-encéphalique (BHE) par l'intermédiaire d'une isoforme du récepteur à la leptine (LEPR) ou par d'autres mécanismes indépendants (Zhang and Chua, 2017). La leptine exerce également une action autocrine *via* l'interaction avec les LEPR exprimés dans le TA. En effet, la leptine stimule directement l'oxydation des AG en régulant positivement l'expression des gènes associés à peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARα) ou peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1alpha (PGC-1α). Parallèlement, la leptine diminue l'expression des gènes spécifiques de la lipogenèse, tels que la *Fas* et l'*Acc* (Picó et al., 2022). Ces effets caractérisent la leptine comme une hormone de la satiété, dont la dysfonction est impliquée lors de l'obésité. L'administration de leptine recombinante à des patients obèses a montré une efficacité limitée, principalement en raison d'un phénomène de résistance à la leptine qui se développe au cours de l'obésité (Heymsfield et al., 1999).

L'adiponectine, découverte à la fin des années 1990, est une autre adipokine largement étudiée. Largement utilisée comme un marqueur adipocytaire, son taux plasmatique est négativement corrélé à la masse grasse (Arita et al., 1999), à l'inverse de la leptine. Plusieurs études ont aussi montré une corrélation négative entre l'adiponectine et le diabète de type 2 (Arita et al., 1999), ainsi que certaines pathologies cardiovasculaires (Ouchi et al., 1999). L'adiponectine possède de nombreux effets métaboliques bénéfiques, tels que l'amélioration de la sensibilité à l'insuline, ainsi que des propriétés anti-apoptotiques, anti-inflammatoires et anti-fibrotiques (Xia et al., 2018). La délétion totale ou spécifique du gène codant pour l'adiponectine dans les adipocytes entraîne une dysfonction totale de ces régulations (Maeda et al., 2002; Xia et al., 2018). Elle agit en favorisant la dépense énergétique sur

d'autres organes. En effet, l'injection intra-cérébroventriculaire d'adiponectine stimule la dépense énergétique, ce qui favorise la perte de poids chez le rongeur (Qi et al., 2004). Elle agit principalement en inhibant la production de glucose par le foie et augmente l'oxydation des AG dans le muscle squelettique (Tomas et al., 2002; Yamauchi et al., 2002).

L'asprosine, découverte en 2016, est une adipokine produite et sécrétée par le clivage de la fibrilline-1 (Romere et al., 2016). Son taux augmente au cours d'un jeûne prolongé et elle se lie à son récepteur spécifique, qui, *via* l'AMPc, favorise la production de glucose dans le foie (Li et al., 2019). L'asprosine traverse également la BHE et stimule les neurones orexigènes, ce qui favorise la prise alimentaire (Duerrschmid et al., 2017). Elle agit aussi localement en inhibant le brunissement du TA blanc, en réduisant l'expression d'UCP-1 et favorisant le stockage lipidique dans le TA blanc (Miao et al., 2021). Des taux plasmatiques élevés d'asprosine ont été observés chez des patients obèses et diabétiques de type 2 (Wang et al., 2019), et elle pourrait constituer un biomarqueur potentiel pour prédire l'apparition du diabète (Wang et al., 2018).

La chémerine, clairement identifiée en 2007 (Bozaoglu et al., 2007), est une adipokine principalement produite par le TA blanc, avec une expression beaucoup plus faible dans le TA brun (Goralski et al., 2007). Chez l'Homme, les taux d'expression de chémerine dans le TA, ainsi que ses concentrations circulantes sont positivement corrélés à l'augmentation de l'IMC (Bozaoglu et al., 2009, 2007). Bien que les résultats soient parfois contrastés, la majorité des études indiquent que la chémerine favorise la prolifération et la différenciation des préadipocytes en adipocytes matures, cellules où sa présence est particulièrement élevée (Goralski et al., 2007; Jiang et al., 2018). Par ailleurs, l'inhibition de la chémerine ou de son récepteur freine le processus d'adipogenèse, réduit le poids corporel et la masse grasse, tout en améliorant la tolérance au glucose (Ernst et al., 2012; Muruganandan et al., 2011).

Outre les adipokines majeures détaillées précédemment, le TA blanc sécrète une large gamme d'autres adipokines telles que la résistine, l'omentine, la visfatine/Nampt, RBP4 ou l'apéline qui participent à la régulation de l'homéostasie énergétique, de la sensibilité à l'insuline, de l'inflammation et du risque cardiométabolique. Plusieurs de ces molécules présentent des modifications importantes de leurs concentrations circulantes ou de leur expression tissulaire au cours de l'obésité et du diabète de type 2, certaines adoptant un profil plutôt délétère (résistine, visfatine, RBP4), d'autres jouant au contraire un rôle protecteur, généralement diminué dans ces contextes (omentine) (Stern et al., 2016).

Le tableau ci-dessous résume les principales caractéristiques de ces adipokines et médiateurs, en mettant l'accent sur leurs effets métaboliques et leur profil dans l'obésité/diabète de type 2 (**Tableau 2**).

Tableau 2 - Principales adipokines et altérations de leur profil en contexte d'obésité et de diabète de type 2 *: Ce tableau résume les principales adipokines sécrétées par le tissu adipeux blanc ainsi que leurs effets métaboliques. La deuxième colonne indique leur origine, en précisant les principaux types cellulaires qui les sécrètent. La troisième décrit leurs principaux effets métaboliques centraux et périphériques, tandis que la quatrième présente les modifications de leurs concentrations circulantes en contexte d'obésité et/ou de diabète de type 2, ainsi que leurs principales implications physiopathologiques.*

Adipokines sécrétées	Cellules productrices	Effets métaboliques physiologiques	Conséquences lors de l'obésité et/ou diabète de type 2
Leptine	Adipocytes	↗ Oxydation des AG ; ↘ Prise alimentaire ; ↘ Lipogenèse	↗ Taux circulants ↗ Résistance à la leptine
Adiponectine	Adipocytes	↗ Sensibilité à l'insuline ; ↗ Oxydation des AG ; ↘ Glucose hépatique Effets anti-inflammatoires ; Effets anti-fibrotiques	↘ Taux circulants
Asprosine	Adipocytes ADSC	↗ Prise alimentaire ; ↗ Lipogenèse du TA ; ↗ Glucose hépatique ↘ Brunissement / UCP1	↗ Taux circulants
Chémerine	Adipocytes, Macrophages, FSV	↗ Adipogenèse	↗ Taux circulants ↗ Résistance à l'insuline
Résistine	Adipocytes (souris) Macrophages (humain)	↗ Résistance à l'insuline ; Effets pro-inflammatoires	↗ Taux circulants
Visfatine / Nampt	Macrophages, Adipocytes, ADSC	↗ Résistance à l'insuline ; Effets anti-inflammatoires	↗ Taux circulants
RBP4	Adipocytes	↗ Glucose hépatique ; ↘ Captation de glucose Effets pro-inflammatoires	↗ Taux circulants
Apéline	Adipocytes, Cellules endothéliales	↗ Captation de glucose ; ↗ Sensibilité à l'insuline ; ↗ Oxydation des AG	↗ Taux circulants ↗ Résistance à l'insuline ↗ Résistance à l'apéline Effets pro-inflammatoires
Omentine	Cellules stromales	↗ Sensibilité à l'insuline ; ↘ Athérogenèse ; Effets anti-inflammatoires	↘ Taux circulants ↗ Résistance à l'insuline Effets pro-inflammatoires

- **Facteurs de croissance et différenciation**

Le TA sécrète également plusieurs facteurs de croissance qui participent à son remodelage local et à ses effets paracrines et endocrines. Parmi eux, les BMPs (Bone Morphogenetic Proteins) occupent une place importante en raison de leur rôle dans l'engagement des précurseurs adipocytaires, la différenciation adipocytaire et la plasticité métabolique du TA (Blázquez-Medela et al., 2019).

Les BMPs, qui appartiennent à la famille du TGF-β (Transforming Growth Factor-β), sont des molécules produites par le TA pouvant agir localement. Parmi les différentes formes de BMP, on retrouve principalement les isoformes BMP-2 et surtout BMP-4. Cette dernière est positivement corrélée à l'adiposité et à la taille des adipocytes (Gustafson et al., 2015a). Plusieurs études montrent qu'à concentration physiologique, les BMPs favorisent l'engagement et la différenciation des précurseurs adipocytaires en adipocytes matures (Huang et al., 2009; Tang et al., 2004a). Chez la souris, une surexpression spécifique de BMP-4 dans les adipocytes augmente l'angiogenèse et le brunissement du TA blanc en TA brun, stimulant ainsi la dépense énergétique, favorisant la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline (Tang et al., 2016). Ensemble, ces effets favorisent un remodelage plus adaptatif du TA et limitent les conséquences métaboliques délétères associées à l'obésité. Cependant, en contexte d'obésité, un mécanisme de résistance au BMP-4 semble s'installer, bloquant ses effets bénéfiques lorsque le BMP-4 est produit abondamment par les adipocytes hypertrophiés (Gustafson et al., 2015a).

- **Les cytokines**

De plus, le TA est considéré comme une véritable source de cytokines pro- et anti-inflammatoires, produites à la fois par les adipocytes, les macrophages infiltrés et d'autres cellules immunitaires résidentes, ce qui en fait un acteur central de l'inflammation de bas grade associée à l'obésité. Les adipocytes expriment et sécrètent des cytokines telles que TNF-α, IL-6, IL-1β et IL-8, ainsi que des chimiokines comme MCP-1/CCL2 et des médiateurs « immuno-métaboliques » (PAI-1, SAA, haptoglobine, NGF, MIF) (Trayhurn and Wood, 2004). Toutefois, des études de fractionnement cellulaire ont montré que, si les adipocytes contribuent de manière importante à la production de certaines molécules comme PAI-1, MCP-1 et IL-6, la majorité de la sécrétion de nombreuses cytokines inflammatoires (TNF-α, IL-6, IL-8, MCP-1, IL-1β, IL-10, VEGF, TGF-β1, HGF, PGE_2, CRP, cathepsine S, etc…) provient de la FSV, riche en cellules immunitaires (Fain, 2010). En parallèle, des études ont montré que l'obésité s'accompagne d'une accumulation massive de macrophages dans le TA, formant des structures en « couronnes » autour des adipocytes hypertrophiés, et que ces macrophages sont responsables de l'essentiel de l'expression tissulaire de TNF-α, ainsi que d'une part importante d'IL-6 et d'iNOS (Weisberg et al., 2003). D'autres populations immunes (cellules T $CD4^+$ et $CD8^+$, cellules T

régulatrices, cellules B, cellules NK et ILCs) contribuent également à la sécrétion de cytokines du TA en produisant IFN-γ, IL-17, IL-10 ou encore des facteurs de croissance, modulant ainsi la balance entre états pro- et anti-inflammatoires et influençant directement la sensibilité à l'insuline et le remodelage de la FSV (Trim and Lynch, 2022).

- **Les lipokines**

Le TA sécrète également des lipides bioactifs regroupés sous le terme de lipokines. Plusieurs familles de lipokines ont été décrites, notamment les esters d'acides gras hydrolysés et les acides hydroxy stéariques d'acide palmitique (PAHSA) (Yore et al., 2014). Parmi ces derniers, les plus étudiés sont le 5-PAHSA et le 9-PAHSA, qui possèdent des effets anti-inflammatoires et anti-diabétiques en améliorant la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline. Ces deux composés agissent localement en favorisant l'adipogenèse et l'absorption du glucose stimulée par l'insuline dans le TA. De plus, ils peuvent stimuler la production d'insuline par les cellules β du pancréas, augmenter la sécrétion de GLP-1 dans les cellules L intestinales, tout en inhibant l'activation des macrophages et la production de cytokines pro-inflammatoires (Hammarstedt et al., 2018b; Kuda et al., 2016; Yore et al., 2014).

Les endocannabinoïdes (ECs) peuvent également être décrits comme des lipokines. En effet, il a été montré que des explants de TA ou des adipocytes isolés produisent et sécrètent des ECs (Buch et al., 2021; Gonthier et al., 2007). Chez l'Homme, les patients obèses expriment davantage les gènes de synthèse des ECs et moins les gènes de dégradation des ECs dans le TA (Engeli et al., 2014). Des études *in vitro* ont démontré que les ECs agissent en favorisant la différenciation adipocytaire (Myers et al., 2023).

- **Les vésicules extracellulaires**

Il est désormais bien admis que le TA produit des vésicules extracellulaires (VE) décrites comme des vésicules délimitées par une bicouche lipidique et sécrétées dans le milieu extracellulaire, parmi lesquelles figurent les exosomes. Ces derniers sont les particules les plus petites des VEs, avec un diamètre compris entre 50 à 100 nm. D'autres VEs comme les microvésicules ont un diamètre compris entre 100 à 1000 nm. Les VEs, sécrétées par le TA, véhiculent diverses molécules bioactives, telles que des protéines, des acides nucléiques et des lipides (Cocucci and Meldolesi, 2015). Il a été montré que la composition lipidique des VEs était altérée au cours de l'obésité, suggérant la possibilité d'associer certains profils métaboliques à des biomarqueurs spécifiques mesurables dans ces vésicules (Blandin et al., 2023). En situation d'hypoxie, les VEs sont enrichies en enzymes lipogéniques, telles que l'ACC ou la FAS, susceptibles d'être captées par des préadipocytes et adipocytes adjacents, favorisant ainsi le stockage énergétique (Sano et al., 2014). Par ailleurs, l'injection chronique de VEs issues de cultures primaires d'ADSC chez des souris soumises à un régime riche en graisses a permis de réduire la masse

corporelle, d'améliorer la sensibilité à l'insuline et de diminuer l'inflammation du TA (Zhao et al., 2018). Ces effets semblent s'expliquer principalement par une action immunomodulatrice des VEs sur le microenvironnement adipocytaire, notamment *via* une reprogrammation des macrophages vers un profil plus anti-inflammatoire, limitant ainsi l'inflammation chronique de bas grade associée à l'obésité (Zhao et al., 2018).

En somme, le TA apparaît comme un carrefour sécrétoire complexe, où adipokines, cytokines, lipokines et VEs, auxquelles s'ajoutent d'autres médiateurs tels que le système rénine-angiotensine local ou certaines batokines, comme le facteur de croissance des fibroblastes 21 (FGF21) sécrété par le TA brun, interagissent pour assurer l'homéostasie métabolique. La dérégulation de cette activité sécrétoire au cours de l'obésité joue ainsi un rôle central dans l'installation d'une inflammation chronique de bas grade et dans le développement des complications cardiométaboliques.

b. Le tissu adipeux brun

i. Structure et fonction

La fonction principale du TA brun est la thermogénèse. Les adipocytes bruns se caractérisent par l'expression de la protéine découplante UCP1 à la membrane interne mitochondriale, essentielle pour la thermogenèse. En effet, le gradient électrochimique de protons, généré par la chaîne respiratoire au niveau de la membrane mitochondriale interne, constitue une réserve d'énergie habituellement utilisée pour la synthèse d'adénosine triphosphate (ATP) *via* l'ATP synthase (Zhao et al., 2019). Cependant, lorsqu'il est dissipé par la protéine découplante UCP1, ce gradient entraîne la libération directe de l'énergie sous forme de chaleur, au détriment de la production d'ATP. Ce mécanisme est central dans la thermogenèse du TA brun (Cheng et al., 2021). Bien qu'il soit difficile d'en apporter une preuve formelle, certains éléments indiquent que le développement du TA brun constitue un avantage évolutif majeur, permettant aux mammifères non seulement de survivre, mais aussi de rester actifs lors des froids nocturnes ainsi que de supporter le stress du froid à la naissance (Klingenspor et al., 2008). Les adipocytes bruns se distinguent des autres types d'adipocytes par leur petite taille, n'excédant pas 60 µm. Ils présentent une morphologie multiloculaire : leur cytoplasme renferme de nombreuses petites gouttelettes lipidiques (≤ 10 µm) autour d'un noyau central (Silva et al., 2014). Une caractéristique majeure est la présence d'un grand nombre de mitochondries, responsables de la coloration brune et disposées autour des gouttelettes lipidiques (Bartelt and Heeren, 2014). Le réseau mitochondrial des adipocytes bruns est dynamique : les mécanismes de fusion, de fission et la mitophagie régulent la thermogenèse (Gao et al., 2014).

ii. Localisation

Chez la souris, la taille et la composition du TA brun varient en fonction de l'âge, du sexe et de la souche, le plus grand dépôt étant localisé dans la région interscapulaire, tandis que des dépôts plus petits sont présents au niveau des régions cervicale, supra claviculaire et péri-aortique (**Figure 8**). Chez le nouveau-né humain, le TA brun est principalement localisé dans les régions interscapulaire, cervicale, axillaire et périrénale, avec de plus petits dépôts situés derrière le sternum et le long de la colonne vertébrale. Chez l'adulte, le TA brun est principalement retrouvé dans les régions cervicale, axillaire et supra claviculaire, tandis que des dépôts plus réduits peuvent être observés au niveau des zones péri-aortique, périrénale et paravertébrale (**Figure 8**) (Suchacki and Stimson, 2021).

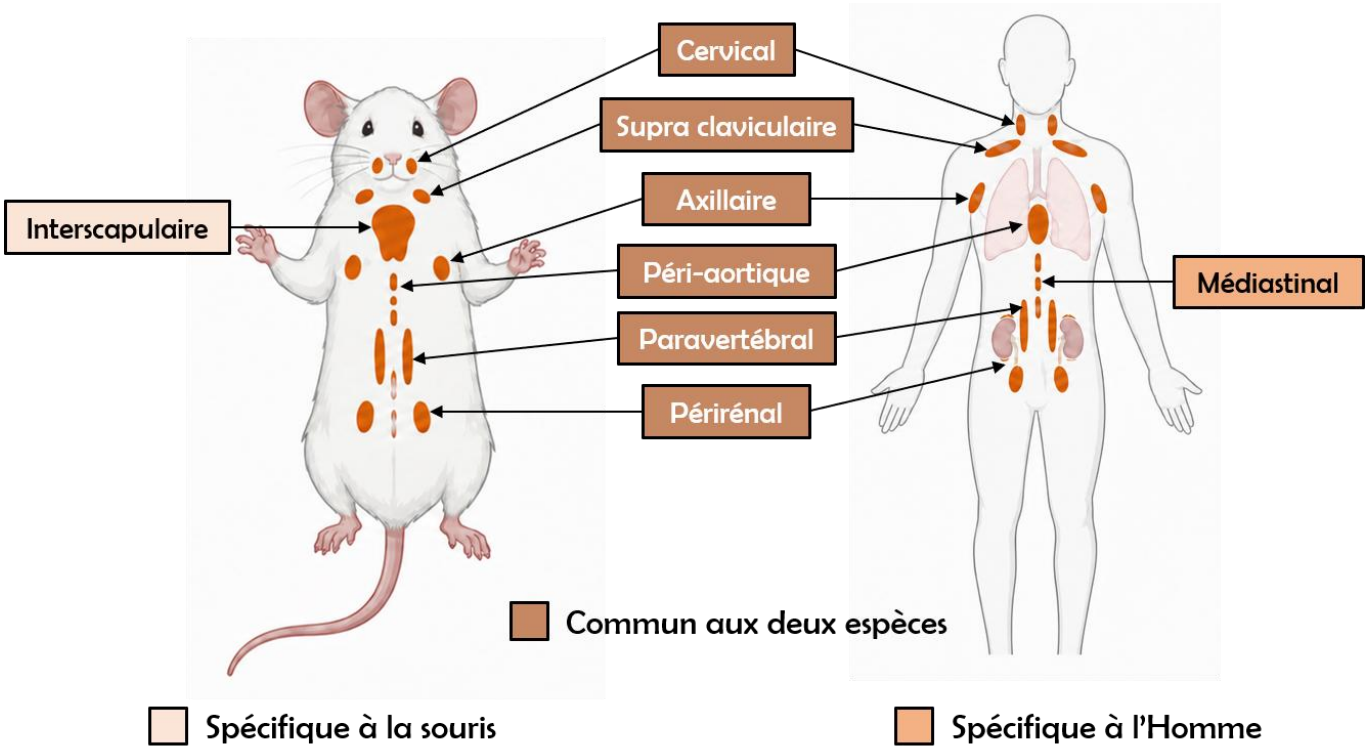


Figure 8 - Localisation des dépôts majeurs de TA brun chez la souris et l'Homme adulte *: Les dépôts spécifiques à la souris sont indiqués en beige ; les dépôts spécifiques à l'Homme sont indiqués en orange et les dépôts communs aux deux espèces sont indiqués en marron. Schéma inspiré de (Suchacki and Stimson, 2021).*

c. Le tissu adipeux beige

En 1992, une équipe a mis en évidence la présence d'adipocytes présentant des caractéristiques proches de celles des adipocytes bruns dans le TA blanc à la suite d'une exposition prolongée au froid ou d'un traitement avec des agonistes adrénergiques (Cousin et al., 1992). Ce n'est toutefois qu'une vingtaine d'années plus tard que la communauté scientifique les identifie clairement en les nommant « adipocytes beiges » (Rosenwald and Wolfrum, 2014). Ils sont morphologiquement semblables aux

adipocytes bruns, exprimant fortement la protéine UCP-1 et riches en mitochondries. Les adipocytes bruns et beiges remplissent des fonctions largement similaires, mais se distinguent principalement par leur localisation anatomique. En effet, les adipocytes bruns se retrouvent dans le TA brun et semblent agir de manière systémique sur l'organisme alors que les adipocytes beiges sont éparpillés dans l'ensemble du TA blanc et agissent donc de manière localisée. Le brunissement du TA blanc repose sur l'intermédiaire d'un facteur adipogénique, nommé PRDM16, qui est bien plus exprimé et actif dans le TA blanc sous-cutané que le TA blanc viscéral (Seale et al., 2011).

Deux mécanismes principaux participent au recrutement des adipocytes beiges :

- Le premier mécanisme repose sur la transdifférenciation des adipocytes matures blancs. Une première étude a mis en évidence ce mécanisme en utilisant un intercalant de l'ADN, puis en soumettant les animaux à un traitement de sept jours avec un agoniste adrénergique, ce qui a montré que les adipocytes beiges recrutés provenaient d'adipocytes blancs (Himms-Hagen et al., 2000). Par ailleurs, une autre étude a démontré qu'après exposition du TA blanc au froid, la diminution du nombre d'adipocytes blancs correspondait au nombre d'adipocytes beiges formés, suggérant leur conversion (Cinti, 2009).

- Le second mécanisme implique la différenciation *de novo* à partir de cellules souches. En effet, une étude plus récente ayant marqué tous les adipocytes matures par un gène rapporteur a montré qu'après exposition au froid, seule une petite fraction des adipocytes beiges exprimait ce marqueur, ce qui suggère que la majorité d'entre eux provenaient de la différenciation de nouvelles cellules souches, plutôt que de la transdifférenciation d'adipocytes blancs matures (Wang et al., 2013).

Aujourd'hui, la communauté scientifique considère le brunissement du TA blanc en TA beige comme une stratégie thérapeutique prometteuse. En favorisant ce processus, il est possible d'augmenter la dépense énergétique *via* la thermogenèse, réduisant ainsi le stockage lipidique au sein des réserves de TA blanc (Cheng et al., 2021).

2. Adipogenèse

L'adipogenèse est le processus par lequel les précurseurs cellulaires du TA, notamment les ADSC, se différencient en préadipocytes puis en adipocytes matures capables de stocker des lipides. Ce processus, clé pour la plasticité du TA, permet l'expansion, le renouvellement et la conversion fonctionnelle du tissu dans des conditions physiologiques ou pathologiques. La compréhension des

mécanismes qui régulent l'adipogenèse est essentielle pour mieux appréhender la physiopathologie des maladies métaboliques, notamment l'obésité et le diabète.

a. Les cellules stromales et les progéniteurs adipocytaires du TA

Les ADSC sont principalement localisées au niveau périvasculaire du TA. À proximité des vaisseaux sanguins et des adipocytes, ces cellules contribuent à l'adipogenèse, à l'angiogenèse, à la régénération et à l'homéostasie du TA (Crisan et al., 2008; Traktuev et al., 2008).

En 1978, Raymond Schofield a introduit le concept de niche des CSM, définie comme l'ensemble du microenvironnement cellulaire modulant intrinsèquement leur quiescence, prolifération, engagement et différenciation (Schofield, 1978). La niche cellulaire exerce également une protection contre les stress environnementaux, tant qu'elle demeure intacte. De nombreuses pathologies, dont l'obésité caractérisée par une expansion hypertrophique du TA, s'accompagnent d'altérations du fonctionnement de cette niche cellulaire (Morrison and Spradling, 2008).

i. Homéostasie métabolique des cellules stromales mésenchymateuses

Le métabolisme des ADSC varie en fonction de leur état quiescent, prolifératif ou engagé dans la différenciation adipocytaire. À l'état indifférencié, l'activité mitochondriale est maintenue à un niveau très bas, alors que l'activité glycolytique est au contraire élevée (Chen et al., 2008). La glycolyse est un mécanisme majeur de la synthèse d'ATP qui permet de transformer une molécule de glucose en deux molécules de pyruvate, deux molécules d'ATP et deux molécules de NADH. Le pyruvate produit peut être réduit en lactate ou entrer dans la mitochondrie pour produire davantage d'énergie sous forme d'ATP *via* le cycle de Krebs. Un recours préférentiel à la glycolyse plutôt qu'au métabolisme oxydatif correspond à un métabolisme de type « effet Warburg ». Chez les CSM, il a ainsi été montré que la glycolyse pouvait contribuer à plus de 97% de la production totale d'ATP, tandis que la phosphorylation oxydative mitochondriale (OXPHOS) ne contribue qu'à moins de 3% (Fillmore et al., 2015). Ce profil fortement glycolytique, souvent associé à une relative hypoxie locale, limite la production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), favorise le maintien de la "stemness" et de la quiescence et s'accompagne d'une forte utilisation de la voie des pentoses phosphates (PPP) pour la production de NADPH (Hu et al., 2016) (**Figure 9**).

Lors de l'engagement dans la différenciation adipocytaire, les ADSC subissent un véritable switch métabolique caractérisé par une augmentation de l'oxydation mitochondriale et de la biogenèse mitochondriale (**Figure 9**). Plusieurs études ont montré qu'une induction adipogénique pendant quelques jours suffit à augmenter fortement la consommation d'oxygène, la masse mitochondriale et la capacité respiratoire maximale, tandis que la production de lactate diminue, indiquant une transition d'un métabolisme principalement glycolytique vers une phosphorylation oxydative accrue

(Drehmer et al., 2016; Zhang et al., 2013). Dans les ADSC humaines, la stimulation adipogénique s'accompagne d'une réduction de la capacité glycolytique et d'une augmentation des capacités enzymatiques mitochondriales du cycle de Krebs et de la chaîne respiratoire (Meyer et al., 2018). Ce remodelage s'appuie sur une biogenèse mitochondriale active, mise en évidence par l'augmentation du contenu en ADN mitochondrial, de l'expression de protéines de la membrane externe et des sous-unités des complexes OXPHOS, observée au cours de la différenciation adipogénique de différentes populations des CSM/ADSC (Lee et al., 2019; Zhang et al., 2013). Sur le plan redox, les premiers jours d'induction adipogénique s'accompagnent d'une hausse transitoire de la production de ROS, qui semble participer probablement au signal d'engagement, puis d'une normalisation de l'état oxydatif liée à l'augmentation des systèmes antioxydants comme la catalase et la SOD2 (Zhang et al., 2013). Enfin, l'inhibition de la respiration mitochondriale, par hypoxie ou inhibition de la chaîne respiratoire, altère fortement l'accumulation de lipides et l'expression de marqueurs adipocytaires, indiquant que l'augmentation de l'activité mitochondriale n'est pas simplement une conséquence, mais une condition indispensable à une adipogenèse efficace (Zhang et al., 2013) (**Figure *9***).

Au cours de l'obésité, ce switch métabolique de la glycolyse vers l'OXPHOS, nécessaire à une adipogenèse efficace, est profondément perturbé (**Figure *9***). Les ADSC issues de donneurs obèses présentent une dysfonction mitochondriale marquée : diminution du potentiel de membrane mitochondrial, augmentation de la production de superoxyde, réduction du contenu en ADN mitochondrial et altération de la morphologie du réseau mitochondrial (Eirin et al., 2024). Ces altérations structurales et fonctionnelles des mitochondries s'accompagnent d'une capacité adipogénique réduite *in vitro*, comparativement aux ADSC de sujets minces, suggérant que l'incapacité des ADSC issues de sujets obèses à réaliser le switch métabolique requis pour la différenciation constitue un mécanisme central de la dysfonction adipogénique observée dans l'obésité (B. Wang et al., 2024). Des études épigénétiques ont identifié des modifications du profil de méthylation de gènes codant des protéines mitochondriales dans les ADSC issues de sujets obèses, dont TBX15, régulateur de la masse mitochondriale, suggérant que le microenvironnement obèse pourrait imprimer une mémoire épigénétique durable sur le métabolisme de ces cellules stromales (Ejarque et al., 2019).

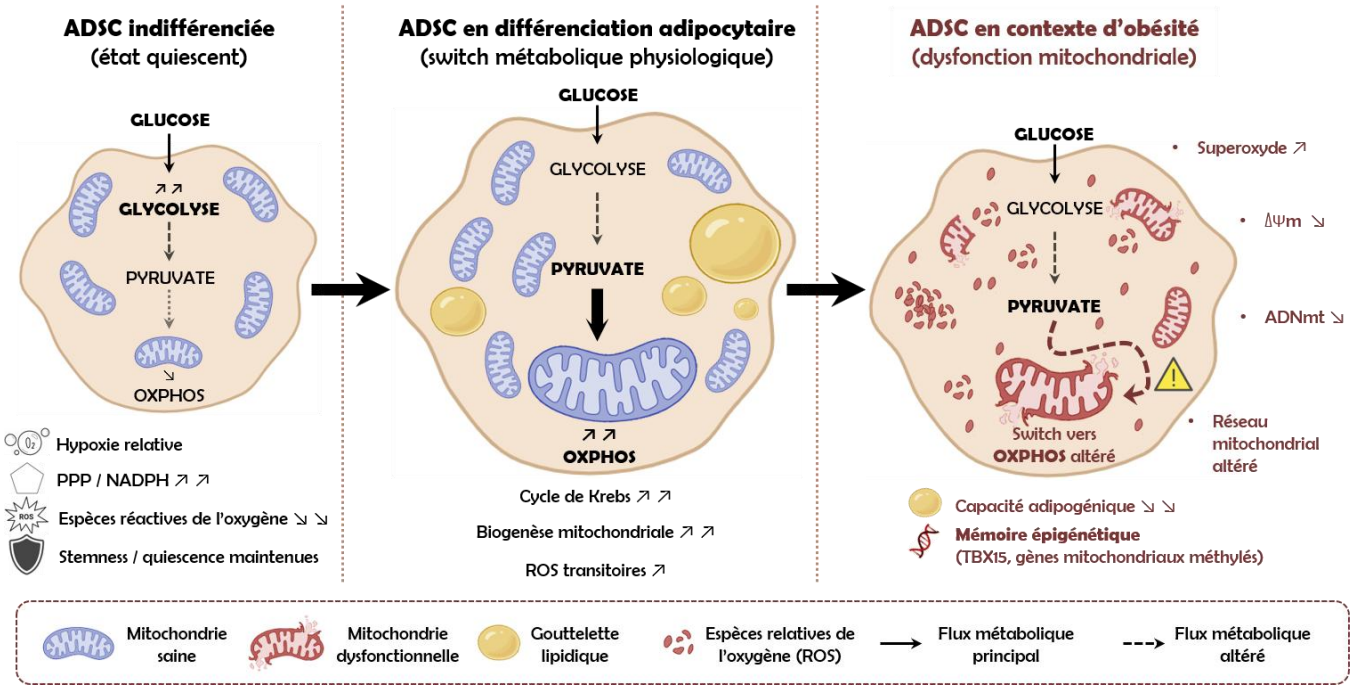


Figure 9 - Plasticité métabolique des ADSC et altération du switch glycolyse/OXPHOS en contexte d'obésité : *Schéma illustrant les adaptations métaboliques des ADSC au cours de leur état quiescent, de leur engagement adipogénique et en situation d'obésité. Les ADSC indifférenciées (gauche) présentent un métabolisme fortement glycolytique associé à une hypoxie relative, une activité mitochondriale minimale et une activation de la voie des pentoses phosphates qui protège contre les ROS et maintient la quiescence. L'engagement dans la différenciation adipocytaire (centre) nécessite un switch métabolique vers une phosphorylation oxydative accrue, couplée à une biogenèse mitochondriale active et une production transitoire de ROS qui signale l'engagement adipogénique. Au cours de l'obésité (droite), ce switch est altéré par une dysfonction mitochondriale caractérisée par une diminution du potentiel de membrane (ΔΨm), une accumulation de superoxyde, une réduction du contenu en ADN mitochondrial et des modifications épigénétiques persistantes, aboutissant à une capacité adipogénique compromise in vitro.*

ii. Signaux de la niche du TA régulant les ADSC et les progéniteurs adipocytaires

Dans le TAB, les ADSC et les APC résident majoritairement dans un compartiment périvasculaire où ils sont en contact étroit avec les cellules endothéliales, les péricytes, les adipocytes matures et diverses cellules immunitaires. L'ensemble de ces interactions régule l'équilibre entre leur auto-renouvellement, leur quiescence et leur engagement adipogénique (Kesharwani and Brown, 2024). Les capillaires du TA ne constituent pas uniquement un réseau de transport, mais forment une véritable niche adipogénique. En effet, des travaux ont montré que certaines cellules endothéliales et péricytes peuvent donner naissance à des précurseurs adipocytaires exprimant Zfp423, suggérant une continuité entre endothélium, péricytes et lignée adipocytaire (Tran et al., 2012). Dans ce contexte, les cellules endothéliales et périvasculaires émettent des signaux de type VEGF, PDGF-BB, HGF et FGF2, en plus de signaux de contact dépendants des intégrines et de la voie Notch, qui soutiennent la survie, la prolifération modérée et le maintien d'un pool de précurseurs adipocytaires compétent pour la différenciation (Liao et al., 2022) (**Figure *10***).

Les adipokines produites par les adipocytes matures constituent une seconde catégorie majeure de signaux régulant la niche des ADSC. En condition métaboliquement saine, un profil dominé par l'adiponectine, complété par des niveaux contrôlés de leptine, de NAMPT/visfatine, résistine et d'autres adipokines, favorise un environnement anti-inflammatoire et pro-régénératif, notamment par l'activation d'AMPK et de PPAR, la protection contre l'apoptose et la modulation de la balance adipogenèse/ostéogenèse des CSM (Pham et al., 2023). À l'inverse, dans l'obésité, la niche adipocytaire est marquée par une baisse d'adiponectine et une augmentation de leptine, NAMPT/visfatine et résistine, profil associé à une prolifération plus lente, une survie diminuée, une augmentation du stress oxydant et une réduction de la capacité de différenciation des CSM, y compris des ADSC (Pham et al., 2023). Cette dérégulation de la sécrétion des adipokines contribue directement à la dysfonction des ADSC dans la niche obèse, en altérant leur métabolisme, leur plasticité et leur potentiel thérapeutique (**Figure *10***).

Un troisième niveau de régulation est assuré par les cytokines pro-inflammatoires produites par les macrophages infiltrés et les autres cellules immunitaires. Au cours de l'obésité, l'augmentation des macrophages de type pro-inflammatoire dans le TA s'accompagne de taux élevés de TNF-α, IL-1β et IL-6, qui modifient l'expression de gènes de différenciation et de facteurs métaboliques dans les CSM, favorisant un état plus glycolytique, pro-inflammatoire et moins adipogénique (Contreras-Lopez et al., 2020; Pham et al., 2023). Ces cytokines peuvent activer NF-κB et STAT3 afin d'interférer avec les cascades de signalisation PPARγ/C/EBP, ce qui limite l'engagement adipocytaire tout en augmentant la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires par les CSM, entretenant ainsi un cercle vicieux au sein de la niche (Li et al., 2023) (**Figure *10***).

Enfin, la disponibilité locale en oxygène ainsi que la composition de la matrice extracellulaire constituent des signaux susceptibles de moduler le comportement des cellules stromales et des progéniteurs adipocytaires. Dans des modèles d'ADSC humaines cultivées, une faible tension en oxygène, par exemple 1,5% d'O_2, peut augmenter la prolifération et la sécrétion de facteurs pro-angiogéniques tels que le VEGF et le FGF, tout en diminuant l'adipogenèse, notamment via l'activation de HIF-1α (Choi et al., 2017). Dans ces conditions de culture, une exposition transitoire à une faible disponibilité en oxygène peut donc favoriser le maintien d'un état prolifératif et moduler la résistance à l'apoptose des cellules stromales, tout en limitant leur entrée dans le programme adipogénique. Ces observations ne permettent toutefois pas de conclure à un effet protecteur général de l'hypoxie sur les populations stromales *in vivo* (Choi et al., 2017).

Dans les modèles expérimentaux d'obésité, une diminution de la disponibilité locale en oxygène et l'activation de voies sensibles à l'hypoxie ont été associées à une fibrose du TA, à une rigidification

de la matrice et à une altération de l'architecture vasculaire, qui perturbent les signaux mécaniques et chimiques reçus par les ADSC et les progéniteurs adipocytaires (Engin, 2024; Sun, 2023) (**Figure *10***).

Chez l'Homme, l'existence, l'intensité et les conséquences fonctionnelles d'une hypoxie chronique du TA en contexte d'obésité restent discutées. Elles semblent dépendre du dépôt étudié, du degré d'adiposité, de l'état métabolique, de la perfusion locale et de la méthode utilisée pour estimer l'oxygénation tissulaire. Plusieurs études ont néanmoins rapporté une diminution de l'oxygénation du TA chez des personnes vivant avec une obésité, associée à des modifications de la vascularisation, de l'inflammation et de la sensibilité à l'insuline (So et al., 2025).

Ainsi, plutôt que de considérer l'hypoxie comme une conséquence systématique de l'obésité, il est plus prudent de considérer que l'expansion du TA peut s'accompagner, dans certains contextes, d'une inadéquation entre les besoins métaboliques du tissu et son adaptation vasculaire. Cette situation peut favoriser l'activation de voies sensibles à l'oxygène, le remodelage de la matrice extracellulaire, la fibrose et des modifications de la compétence adipogénique des populations stromales (Mirabelli et al., 2024).

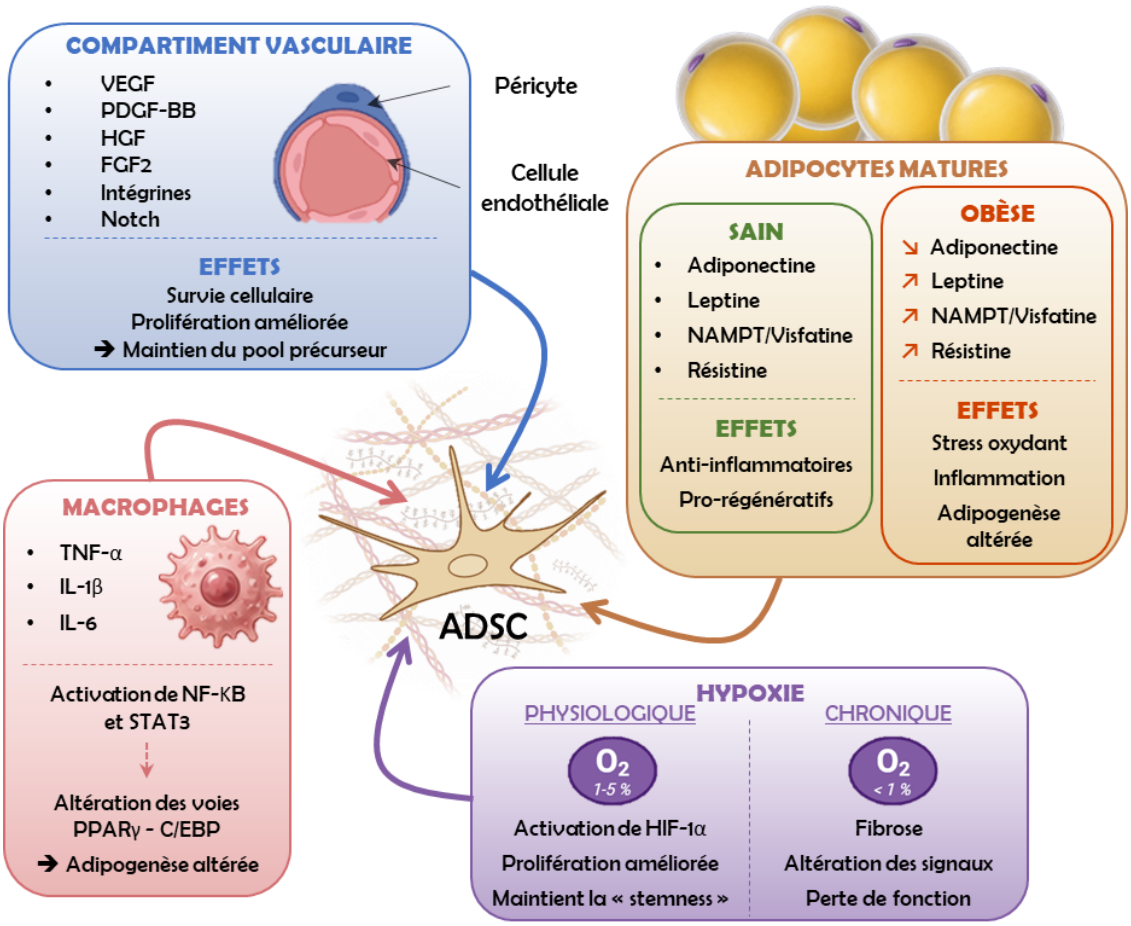


Figure 10 - Signaux de la niche périvasculaire du tissu adipeux régulant les ADSC en conditions physiologiques et au cours de l'obésité *: Les ADSC résident dans une niche périvasculaire où elles intègrent des signaux émis par*

le compartiment vasculaire, les adipocytes matures, les macrophages et l'hypoxie locale. Les péricytes et les cellules endothéliales délivrent des signaux pro-survie et pro-prolifératifs, tandis que les adipocytes matures contribuent au maintien de l'homéostasie tissulaire via la sécrétion d'adipokines. En condition physiologique, cet environnement favorise le maintien du pool précurseur et un profil anti-inflammatoire. Au cours de l'obésité, l'augmentation des cytokines pro-inflammatoires, du stress oxydant, du remodelage de la matrice extracellulaire et, selon les contextes, de signaux associés à une disponibilité réduite en oxygène, peut altérer la fonction des cellules stromales et compromettre leur potentiel adipogénique.

Ainsi, la niche du TA joue un rôle central dans la régulation de la biologie des ADSC, en intégrant des signaux vasculaires, hormonaux, immunitaires, hypoxiques et mécaniques qui déterminent leur état métabolique, leur maintien en quiescence, leur prolifération et leur potentiel adipogénique. Au cours de l'obésité, l'ensemble de ces perturbations altère de façon coordonnée le métabolisme et le devenir des ADSC, constituant un mécanisme central de la dysfonction du TA et de ses complications métaboliques systémiques.

iii. Rôle sécrétoire des ADSC dans l'homéostasie de la niche du TA

Au-delà de leur rôle de précurseurs adipocytaires, les ADSC sont des acteurs paracrines majeurs de la niche du TA, *via* une sécrétion riche en facteurs de croissance, cytokines, chimiokines et VEs (Kilroy et al., 2007). Plusieurs revues s'accordent à dire que les molécules sécrétées par les ADSC sont particulièrement enrichies en facteurs pro-angiogéniques tels que VEGF, FGF-2, HGF, PDGF et angiopoïétines, qui stimulent la prolifération, la migration et la formation de structures tubulaires par les cellules endothéliales et soutiennent ainsi la vascularisation et la survie du TA (Biniazan et al., 2024; Trzyna and Banaś-Ząbczyk, 2021).

Sur le plan immunitaire, les ADSC exercent une forte activité immunomodulatrice sur les cellules de la niche notamment les macrophages, les lymphocytes T et les cellules NK *via* la sécrétion de PGE_2, TGF-β, IL-6, IL-10 et d'autres médiateurs, ainsi que par la libération d'exosomes riches en cytokines et en molécules régulatrices. Une étude clé a montré que des exosomes dérivés d'ADSC isolées du TA épididymaire de souris obèses et maigres peuvent induire la polarisation de macrophages vers un phénotype M2 anti-inflammatoire, ce qui permet de réduire l'inflammation du TAB, d'améliorer la sensibilité à l'insuline, de limiter la prise de poids et d'atténuer la stéatose hépatique (Zhao et al., 2017). Ce travail montre également que les exosomes d'ADSC ont la capacité de transporter la forme active de STAT3, capable d'activer le promoteur d'*Arg1* dans les macrophages, et que les macrophages M2 ainsi éduqués produisent des catécholamines favorisant le brunissement du TA blanc et la dépense énergétique. Une revue récente a confirmé que les exosomes dérivés d'ADSC contiennent un ensemble de glycoprotéines (MFGE8), cytokines (PGE_2, IL-6, IGF) et ARN non-codants (miR-451a, miR-23, miR-30d-5p, let-7, lncRNA DLEU2, circRNAs) capables de reprogrammer finement la polarisation M1/M2 des macrophages (Dong et al., 2025).

Les VEs issues des ADSC s'intègrent enfin dans un réseau plus large de communication vésiculaire au sein du TA, impliquant adipocytes, macrophages et autres cellules stromales. Les vésicules extracellulaires dérivées des ADSC et du TA contribuent à maintenir un environnement local anti-inflammatoire et pro-angiogénique, alors qu'en situation d'obésité leur nombre et leur contenu se réorganisent vers un profil plus pro-inflammatoire, pro-fibrotique et pro-diabétique (Muhindo, 2026; Sandoval-Bórquez et al., 2024; Zhou et al., 2021).

Ces modifications du profil sécrétoire et vésiculaire des ADSC en contexte obèse contribuent à la perte de leurs propriétés régénératives et immunorégulatrices, et favorisent la transition d'un TA fonctionnel vers un TA dysfonctionnel, inflammatoire et insulinorésistant (Bunnell et al., 2022).

iv. Caractéristiques phénotypiques et potentiel de différenciation des ADSC

Comme mentionné précédemment, les ADSC répondent aux critères définis par l'International Society for Cell Therapy pour les CSM multipotentes, présentant une morphologie fibroblastique, une adhérence au plastique et un phénotype $CD73^+$, $CD90^+$ et $CD105^+$ associé à l'absence de marqueurs hématopoïétiques et endothéliaux tels que $CD45^-$, $CD34^-$ (en culture), $CD14^-$, $CD19^-$ et $HLA\text{-}DR^-$ (Mitchell et al., 2006). Cependant, plusieurs travaux ont montré qu'au-delà de ce profil immuno-phénotypique classique se cache une forte hétérogénéité cellulaire. Des analyses de cytométrie multiparamétrique ont permis d'identifier différentes sous-populations d'ADSC définies par des combinaisons de $CD34^+$, $CD73^+$, $CD90^+$, $CD105^+$, $CD146^+$ et $CD271^+$, qui conservent des comportements fonctionnels distincts malgré une évolution vers un phénotype commun au cours des passages en culture (Baer, 2014; Nielsen et al., 2016). Cette hétérogénéité des ADSC constitue aujourd'hui un élément central pour comprendre la plasticité des ADSC et leur variabilité de réponse aux signaux de la niche adipeuse.

Un autre niveau de complexité provient de l'origine anatomique du TA. Des travaux portant sur des ADSC humaines sous-cutanées et viscérales ont montré qu'en plus du profil des CSM, ces cellules expriment de manière différentielle certains marqueurs, notamment CD10 et CD200. En effet, les ADSC du TASC présentent une expression plus élevée de CD10 et plus faible de CD200 que les ADSC provenant du TAV (Ong et al., 2014), et cette signature phénotypique semble conservée chez plusieurs donneurs. Sur le plan fonctionnel, les cellules $CD10^{high}$ dérivées du TASC montrent une capacité adipogénique supérieure à celle des $CD10^{low}$. Inversement, les cellules $CD200^{low}$ issues du TAV se différencient mieux en adipocytes que leurs homologues $CD200^{high}$. Ces données suggèrent que CD10 et CD200 opèrent comme marqueurs prédictifs du potentiel adipogénique et reflètent des propriétés intrinsèques liées au dépôt. D'ailleurs, ces travaux démontrent de façon cohérente la capacité accrue du TASC à augmenter sa masse par hyperplasie adipocytaire (Ong et al., 2014).

Sur le plan du potentiel de différenciation, de nombreuses études montrent que les ADSC se différencient *in vitro* en adipocytes, ostéoblastes et chondrocytes. Sous induction adipogénique, elles induisent l'expression de PPARγ et de gènes adipocytaires tels que *LEPTIN* permettant la formation de gouttelettes lipidiques. En milieu ostéogénique, elles forment des nodules minéralisés, avec augmentation de marqueurs ostéoblastiques clés, tels que *RUNX2* (RUNX Family Transcription Factor 2), *ALPL* (Alkaline Phosphatase), *COL1A1* (Collagen Type I Alpha 1) et *SPP1* (Ostéopontine). Enfin, en conditions chondrogéniques, elles organisent des micromasses exprimant *SOX9* et des collagènes cartilagineux (Baer, 2014). Au-delà de ces trois lignées, des études expérimentales indiquent que les ADSC peuvent également adopter des phénotypes myogéniques, neurogéniques, endothéliaux, hépatiques ou épithéliaux sous l'effet de cocktails inducteurs spécifiques, confortant l'idée de multipotence. Une étude a démontré que des clones dérivés d'ADSC humaines sont capables de se différencier dans au moins deux lignées, ce qui démontre une multipotence réelle au niveau d'une cellule unique, et non un simple mélange de progéniteurs unipotents (Guilak et al., 2006).

Comparées aux CSM de la moelle osseuse, les ADSC partagent un profil immuno-phénotypique globalement similaire, mais avec des différences fonctionnelles marquées. Des études comparatives montrent que les CSM dérivées de la moelle osseuse présentent une ostéogénèse et une chondrogenèse plus prononcées, avec une activité ALPL et une minéralisation plus élevées aux premiers temps de différenciation, alors que les ADSC se distinguent par une adipogenèse plus marquée (Pachón-Peña et al., 2011).

Les ADSC obtenues après isolement de la FSV et culture adhérente ne constituent pas une reproduction directe des populations stromales présentes dans le TA *in vivo*. La dissociation enzymatique du tissu, la perte de l'architecture tissulaire et des interactions avec la matrice extracellulaire, puis l'adhérence au plastique constituent autant d'étapes susceptibles de modifier la composition et le phénotype de la population étudiée. En particulier, l'adhérence au plastique sélectionne une fraction limitée des cellules initialement présentes dans la FSV et enrichit progressivement la culture en cellules exprimant un profil stromal, sans pour autant aboutir à une population complètement homogène (Baer, 2014; Mitchell et al., 2006).

La composition des cultures d'ADSC dépend également du dépôt adipeux d'origine, de l'espèce, du sexe, de l'âge et du statut métabolique du donneur ou de l'animal, mais aussi du protocole de dissociation, de la densité d'ensemencement, du milieu de culture, du sérum utilisé et de la durée de culture. Les conditions de culture peuvent ainsi favoriser la sélection ou l'expansion de certaines sous-populations stromales au détriment d'autres. Elles peuvent également modifier l'expression des

marqueurs de surface, le métabolisme, le profil sécrétoire et la capacité adipogénique des cellules (Baer, 2014; Brooks et al., 2020).

Le nombre de passages constitue un paramètre important. La prolifération prolongée *in vitro* peut entraîner une dérive phénotypique progressive et, à des passages élevés ou après une expansion de longue durée, favoriser l'apparition d'un état de sénescence réplicative caractérisé notamment par une diminution du potentiel prolifératif et adipogénique. Ces effets dépendent du protocole et du modèle étudié. Ainsi, il est important d'harmoniser, autant que possible, le nombre de passages entre les conditions expérimentales (Kapetanos et al., 2021; Pokrywczynska et al., 2020).

Les protocoles expérimentaux et les conditions de conservation peuvent aussi moduler certains aspects du phénotype et du potentiel de différenciation des ADSC. Une revue systématique récente sur l'impact de la cryoconservation conclut que lorsque les protocoles de congélation et de décongélation sont optimisés, le phénotype de surface et les capacités de différenciation ostéogénique et chondrogénique sont globalement préservés, ce qui ouvre la voie à la création de « banques » de TA à visée thérapeutique (Roato et al., 2016).

Les ADSC apparaissent donc comme une population de CSM multipotentes, structurée en sous-ensembles phénotypiquement distincts, influencés par le dépôt d'origine, le donneur et les conditions de culture. Cette hétérogénéité représente une niche importante pour comprendre les différentes sous-populations d'ADSC au contexte physiopathologique étudié, notamment en ce qui concerne l'adipogenèse, le remodelage du TA et la réponse aux signaux métaboliques.

b. Mécanismes moléculaires de la différenciation adipocytaire

i. De l'ADSC au préadipocyte engagé : l'étape d'engagement adipocytaire

Au sein de la FSV, l'adipogenèse ne débute pas directement à partir d'ADSC multipotentes, mais passe par une étape intermédiaire dite d'engagement cellulaire au cours de laquelle une fraction de ces cellules perd progressivement sa plasticité pour s'orienter vers la lignée adipocytaire. Cette étape correspond à l'apparition de progéniteurs fibroblastiques, dépourvus de vacuoles lipidiques, mais déjà programmés pour devenir des adipocytes, qui assurent le renouvellement et l'expansion du TA *in vivo* (Cawthorn et al., 2012). Ce concept s'est imposé avec la mise en évidence, dans la FSV, de plusieurs populations hiérarchisées : des progéniteurs plus primitifs, hautement prolifératifs, et des progéniteurs plus engagés, exprimant des gènes de lignée adipocytaire, ce qui a conduit à distinguer clairement l'engagement adipocytaire de la différenciation adipocytaire (Hepler et al., 2017b).

- **Hiérarchie cellulaire et marqueurs de surface des progéniteurs**

Rodeheffer a proposé un premier modèle de cette hiérarchie en identifiant, dans le TAV murin adulte, une sous-population de progéniteurs adipocytaires définie par le phénotype Lin^-, $CD29^+$, $CD34^+$, $Sca\text{-}1^+$, $CD24^+$, résidant dans la FSV. La transplantation de ces cellules dans des souris lipodystrophiques A-Zip, dépourvues de TA blanc, a permis de reconstituer un dépôt adipeux morphologiquement et fonctionnellement physiologique et de corriger en partie le phénotype diabétique, ce qui a démontré leur capacité à initier *de novo* un compartiment graisseux complet (Rodeheffer et al., 2008). Au sein de cette population, deux fractions sont identifiées : une fraction $CD24^+$, très prolifération et de type "stem-like", et une fraction $CD24^-$, plus différenciée, qui exprime déjà des marqueurs tardifs de l'adipogenèse. Les expériences de lignage ultérieures montrent que les $CD24^+$ donnent naissance aux $CD24^-$ *in vivo*, ces dernières étant considérées comme des préadipocytes déterminés, conduisant au modèle séquentiel suivant : ADSC ➔ ADSC $CD24^+$ (progéniteur précoce) ➔ ADSC $CD24^-$ (préadipocyte engagé) ➔ adipocyte mature (Berry and Rodeheffer, 2013) (**Figure *11***).

Parallèlement à cette approche par cytométrie en flux, une autre étude s'est appuyée sur des modèles murins rapporteurs fluorescents pour suivre l'expression de facteurs de transcription clés de la lignée adipocytaire. En utilisant un modèle *Pparγ*-reporter, il a été montré que des cellules $PPAR\gamma^+$ résidant dans la paroi vasculaire du TA blanc se comportent comme des préadipocytes engagés : elles prolifèrent *in vivo*, colonisent progressivement le TA et contribuent à la formation de nouveaux adipocytes au cours du temps. Ces cellules $PPAR\gamma^+$ co-localisent avec des marqueurs de cellules murales périvasculaires tels que α-SMA, PDGFR-β et NG2, ce qui renforce l'idée que les progéniteurs adipocytaires engagés résident majoritairement dans les compartiments muraux du système vasculaire adipeux (Tang et al., 2008). Des approches de marquage utilisant un système Pdgfrα-Creont ensuite montré que les cellules $Pdgfr\alpha^+$ de la FSV donnent naissance aussi bien aux cellules $CD24^+$ qu'aux cellules $CD24^-$, et tracent la grande majorité des adipocytes blancs, confirmant le rôle central de ce compartiment dans l'engagement adipocytaire (Berry and Rodeheffer, 2013).

- **Contrôle transcriptionnel et épigénétique de l'engagement : rôle clé de Zfp423**

En comparant des lignées fibroblastiques non adipogéniques à des lignées préadipocytaires, Zfp423, un facteur de transcription à doigts de zinc, a été identifié comme un déterminant clé de l'engagement préadipocytaire, puisque fortement enrichi dans les cellules préadipocytaires (lignée 3T3-L1) et presque absent des fibroblastes classiques (lignée 3T3-NIH) (Gupta et al., 2010). L'invalidation de *Zfp423* dans des fibroblastes embryonnaires de souris induit un dysfonctionnement majeur de l'adipogenèse, avec une forte réduction de l'expression de *Pparγ* et un nombre limité d'adipocytes formés. À l'inverse, la surexpression de *Zfp423* dans des fibroblastes non adipogéniques

suffit à les rendre adipogéniques. Ces données conduisent à considérer Zfp423 comme un facteur essentiel à l'engagement préadipocytaire (Gupta et al., 2010).

L'utilisation de souris transgéniques exprimant un rapporteur GFP sous le contrôle du locus de Zfp423 a permis de localiser *in vivo* les préadipocytes engagés dans les tissus adipeux adultes. Dans ces modèles, l'expression de Zfp423-GFP définit, parmi les fibroblastes de la FSV, une population de cellules préadipocytaires dotées d'un fort potentiel adipogénique, alors que les fibroblastes $Zfp423^-$ restent largement réfractaires à l'induction adipogénique. Les cellules $Zfp423^+$ se localisent préférentiellement dans les parois vasculaires, en accord avec le concept de niche périvasculaire des précurseurs adipocytaires, et leur profil transcriptionnel se distingue de celui des fibroblastes non adipogéniques par l'activation d'un ensemble de gènes de lignée adipocytaire et la répression de programmes alternatifs. Ces observations ont confirmé que l'engagement préadipocytaire correspond à l'acquisition d'une signature transcriptionnelle spécifique (Zfp423, Pparγ, C/EBP) au sein de progéniteurs d'origine mésenchymateuse, avant même tout stockage lipidique notable (Gupta et al., 2012).

Des études transcriptomiques ont montré que les préadipocytes engagés se distinguent des fibroblastes voisins par un enrichissement en gènes liés au métabolisme lipidique, au transport des AG et à la signalisation insulinique, alors que des programmes associés à la prolifération, à la matrice extracellulaire ou à d'autres lignées mésenchymateuses (ostéogénique et myogénique) sont progressivement réprimés (Cawthorn et al., 2012; Gupta et al., 2012, 2010). Parallèlement, des modifications de la chromatine ont été observées au niveau des régions régulatrices de gènes clés pour l'adipogenèse (Pparγ, C/EBPα, aP2, etc…). Ces observations suggèrent que les préadipocytes possèdent déjà une organisation épigénétique favorable à la différenciation. En effet, les régions régulatrices des gènes adipocytaires sont déjà accessibles et « préparées », ce qui permet leur activation rapide lors de la différenciation terminale (Siersbæk et al., 2011) (**Figure *11***).

- **Ontogenèse, hétérogénéité et plasticité des progéniteurs**

Sur le plan temporel, l'engagement adipocytaire apparaît comme un processus long, qui commence dès le développement fœtal et se poursuit chez l'adulte. Une étude a montré que la majorité des adipocytes blancs adultes descendent d'un ensemble de progéniteurs déjà engagés, présents dans la vasculature adipeuse dès la période prénatale ou au début de la vie postnatale (Tang et al., 2008). Des travaux plus récents ont mis en évidence l'émergence de nouvelles populations de progéniteurs selon l'âge et le dépôt, certaines préférentiellement impliquées dans la formation d'adipocytes blancs classiques, d'autres pouvant être recrutées vers des phénotypes plus

thermogéniques (beige/brun) en réponse à des stimuli tels que le froid ou les agonistes β-adrénergiques (Hepler et al., 2017a).

En résumé, la phase d'engagement adipocytaire correspond à la transition au cours de laquelle des progéniteurs dérivés des ADSC acquièrent un programme transcriptionnel et épigénétique de lignée adipocytaire stable, tout en conservant encore une morphologie fibroblastique et une certaine capacité prolifération. Elle s'accompagne d'une spécialisation progressive du compartiment stromal en populations hiérarchisées ($CD24^+$ ➔ $CD24^-$, cellules $PPAR\gamma^+/Zfp423^+$ périvasculaires) et dépend étroitement de signaux extrinsèques émanant de la niche vasculaire et des conditions métaboliques. Cette étape est indispensable à la différenciation adipocytaire, et représente un niveau clé de régulation de l'expansion et du remodelage du TA en conditions physiologiques comme pathologiques (**Figure *11***).

L'ensemble de ces caractéristiques n'évolue toutefois pas de manière autonome : l'engagement préadipocytaire est fortement modulé par le microenvironnement de la niche du TA. Des signaux pro- et anti-adipogéniques issus de la niche périvasculaire déterminent quelles cellules stromales demeurent multipotentes et lesquelles s'engagent dans la lignée adipocytaire. Ces voies de signalisation seront détaillées dans la section suivante.

ii. Le microenvironnement de la niche : voies de signalisation régulatrices

La mise en place du programme adipocytaire ne résulte pas uniquement de facteurs intrinsèques, mais dépend de signaux extracellulaires issus de la niche adipocytaire. Ces signaux, qui incluent des hormones métaboliques, des facteurs de croissance et des voies morphogéniques, convergent vers les progéniteurs et les préadipocytes pour moduler l'activité de PPARγ, des facteurs C/EBP et des régulateurs épigénétiques, conditionnant ainsi l'engagement et la différenciation adipocytaire. De manière schématique, il est possible de distinguer des voies pro-adipogéniques, qui favorisent l'entrée et la progression dans la lignée adipocytaire, et des voies anti-adipogéniques, qui maintiennent les cellules stromales dans un état indifférencié ou orientent leur destin vers d'autres lignées cellulaires. Au sein de la niche périvasculaire, ces signaux sont intégrés dans un réseau d'interactions entre ADSC/progéniteurs adipocytaires, cellules endothéliales, cellules immunitaires et adipocytes matures, régulant finement la proportion de cellules qui restent multipotentes et celles qui s'engagent durablement dans la voie adipocytaire.

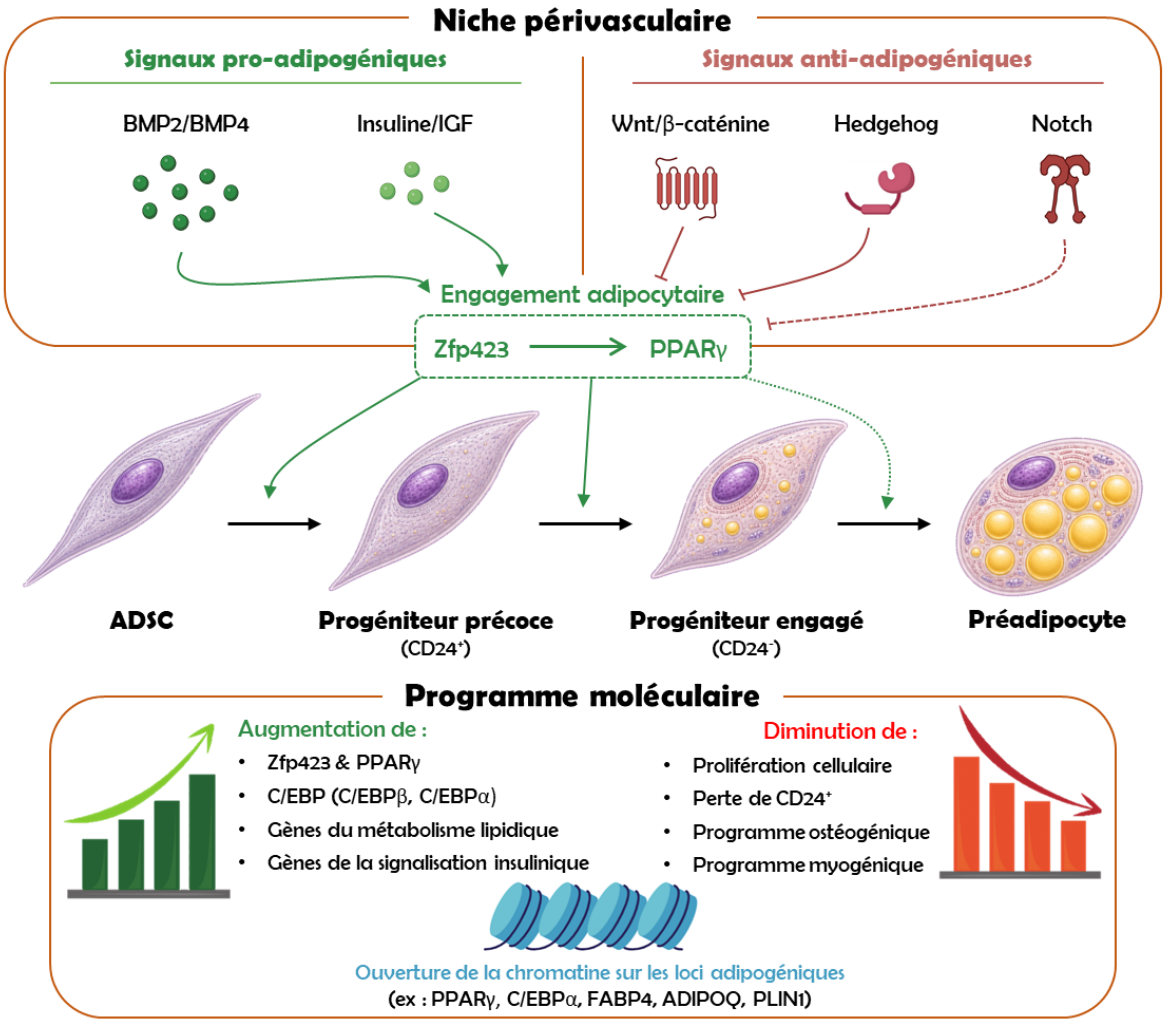


Figure 11 - Signaux de la niche périvasculaire régulant l'engagement adipocytaire des ADSC *: Au sein de la niche périvasculaire, des signaux pro-adipogéniques tels que BMP2/BMP4 et l'insuline/IGF favorisent l'engagement adipocytaire des ADSC via l'activation de Zfp423 puis de PPARγ. À l'inverse, les voies Wnt/β-caténine, Hedgehog et parfois Notch exercent un effet inhibiteur sur cette transition. Le schéma représente une progression de cellules stromales vers un état de progéniteur précoce CD24⁺, puis de progéniteur engagé CD24⁻, avant l'acquisition d'un phénotype de préadipocyte. Sur le plan moléculaire, cette étape est associée à l'activation du programme adipocytaire, à la répression des programmes ostéogénique et myogénique, ainsi qu'à une ouverture de la chromatine sur les loci adipocytaires.*

1. Les voies pro-adipogéniques

- **La voie Insuline / IGF-1**

Parmi les signaux pro-adipogéniques, les voies insuline/IGF-1 jouent un rôle central en activant principalement la cascade PI3K/AKT et, dans une moindre mesure, la voie MAPK/ERK dans les préadipocytes et les adipocytes. Des revues sur la signalisation IGF-1 montrent que l'activation de l'IGF-1R ou du récepteur de l'insuline dans les cellules préadipocytaires stimule la différenciation en adipocytes matures *via* l'activation de la voie PI3K/AKT. Cette signalisation favorise l'expression et l'activité de PPARγ, la synthèse de lipides et la sensibilité à l'insuline (Rosen and MacDougald, 2006). De plus, dans les cellules 3T3-L1, l'insuline présente dans le cocktail adipogénique est ainsi requise à la

fois pour la réentrée transitoire dans le cycle cellulaire et pour la phase tardive de différenciation, en soutenant l'expression de GLUT4 et d'autres gènes caractéristiques de la fonction adipocytaire (Tang et al., 2003) (**Figure *11***).

- **La famille des BMPs (BMP2 et BMP4)**

Les facteurs de croissance de la famille des BMP, en particulier BMP2 et BMP4, occupent également une place importante dans la régulation positive de l'adipogenèse. Des expériences sur les ADSC ont montré que BMP4 peut induire l'engagement préadipocytaire des CSM, en augmentant l'expression de *PPARγ* et d'autres marqueurs précoces de la lignée adipocytaire, tout en favorisant la formation d'adipocytes blancs au détriment d'un phénotype brun dans certains contextes (Gustafson et al., 2015a; Huang et al., 2009). La présence de BMP4 favorise une transition d'adipocytes bruns à blancs en modulant la signature transcriptionnelle des adipocytes, suggérant que les signaux BMP, *via* l'activation des protéines Smad, agissent à la fois en amont du programme adipocytaire et sur la spécialisation fonctionnelle des adipocytes différenciés (Elsen et al., 2014). D'autres signaux pro-adipogéniques, tels que les glucocorticoïdes et les élévations d'AMPc induites par les agonistes β-adrénergiques ou la forskoline, interviennent principalement dans les modèles *in vitro* en potentialisant l'induction précoce de C/EBPβ/δ puis l'activation de PPARγ (Farmer, 2006) (**Figure *11***).

2. *Les voies anti-adipogéniques*

- **La voie Wnt / β-caténine**

À l'inverse, la voie Wnt/β-caténine est considérée comme un puissant frein de l'adipogenèse, jouant un rôle central dans l'équilibre entre engagement adipocytaire et ostéoblastique. L'étude fondatrice a montré que l'activation de Wnt, notamment *via* Wnt10b, maintient les préadipocytes dans un état indifférencié en réprimant l'expression de C/EBPα et de PPARγ. À l'inverse, la neutralisation de la voie Wnt/β-caténine, par exemple *via* Axin ou le facteur de transcription TCF4, favorise la différenciation adipocytaire (Ross et al., 2000). Une revue synthétisant ces données souligne que le rôle principal de Wnt/β-caténine est de maintenir les cellules mésenchymateuses et les préadipocytes dans un état indifférencié ou prolifératif, tout en supprimant l'activation du programme adipocytaire. L'inactivation progressive de cette voie apparaît ainsi comme une condition nécessaire au passage vers les étapes terminales de l'adipogenèse (Cristancho and Lazar, 2011) (**Figure *11***).

- **La voie TGF-β / Smad**

La voie TGF-β/Smad représente un autre frein majeur de la différenciation adipocytaire. Des travaux réalisés sur les cellules 3T3-F442A ont montré que TGF-β inhibe l'adipogenèse en bloquant l'induction de *Pparγ et de Cebpa*, tandis que l'expression d'une forme tronquée du récepteur de type

II de TGF-β (TβRII) augmente au contraire la capacité des cellules à se différencier en adipocytes (Choy et al., 2000). Dans cette étude, l'activation de Smad2/3 relaie les signaux inhibiteurs de TGF-β sur la différenciation adipocytaire, notamment *via* la répression de PPARγ et de C/EBPα. Les Smad inhibiteurs, Smad6 et Smad7, classiquement décrits comme des régulateurs négatifs de la signalisation TGF-β, exercent également un effet indirect sur l'adipogenèse en perturbant l'équilibre des voies Smad et donc le potentiel de différenciation (Shi and Massagué, 2003). Plus récemment, il a été démontré que le TGF-β seul ne suffit pas à induire une perte complète du phénotype adipocytaire, mais qu'il peut coopérer avec des signaux inflammatoires ou mécaniques pour inhiber partiellement l'engagement et la différenciation adipocytaire (Maharjan et al., 2022).

- **La voie Hedgehog**

La voie Hedgehog est une voie de signalisation conservée entre les espèces, activée par les ligands de la famille Hedgehog, qui contrôlent le devenir cellulaire, la prolifération et la différenciation tissulaire *via* leurs récepteurs membranaires et l'activation des facteurs de transcription spécifiques. Il a été montré qu'une activation transgénique de la voie Hedgehog dans le TA inhibe la formation de graisse, alors que son inhibition favorise l'adipogenèse (Suh et al., 2006). Des approches de perte et de gain de fonction chez la souris ont ensuite confirmé que la signalisation Hedgehog agit en amont de PPARγ pour détourner des précurseurs mésenchymateux vers une lignée ostéoblastique, notamment *via* l'induction de facteurs anti-adipogéniques tels que GATA2 (James et al., 2010). Chez l'humain, l'activation pharmacologique de Hedgehog dans des CSM issues de la moelle osseuse ou du TA réduit l'accumulation lipidique et diminue l'expression de PPARγ2 et de C/EBPα, conduisant à un phénotype adipocytaire moins différencié. Ces observations suggèrent qu'une diminution de la signalisation Hedgehog est nécessaire, mais non suffisante, pour permettre une adipogenèse efficace (Fontaine et al., 2008) (**Figure *11***).

- **La voie Notch**

Enfin, plusieurs travaux suggèrent que la voie Notch intervient également dans l'équilibre entre adipogenèse et autres destins mésenchymateux, bien que son rôle précis dépende fortement du contexte cellulaire et du stade de différenciation. Dans des CSM humaines issues de la moelle osseuse, l'activation de Notch favorise l'ostéogenèse et inhibe l'adipogenèse, tandis que son inhibition facilite l'engagement adipocytaire (Zanotti and Canalis, 2010). Dans les préadipocytes 3T3-L1, la signalisation Notch influence la prolifération et les étapes précoces de différenciation, notamment *via* la voie ERK (Lai et al., 2013). Des travaux plus récents ont également montré que l'inhibition de Notch favorise le brunissement du TA blanc et augmente l'accumulation de marqueurs thermogéniques dans certains modèles murins (Bi et al., 2014). Globalement, la voie Notch est principalement considérée comme un

mécanisme de maintien d'un état progéniteur, limitant l'entrée dans la différenciation adipocytaire terminale, bien que certains effets contextuels au cours des phases précoces aient également été rapportés (**Figure *11***).

Ainsi, les voies Wnt, TGF-β, Hedgehog et Notch agissent globalement comme des freins au programme adipocytaire, tandis que les signaux insuline/IGF-1, BMP et certains cofacteurs hormonaux, tels que les glucocorticoïdes et l'AMPc, coopèrent avec la cascade transcriptionnelle PPARγ/C/EBP pour favoriser la différenciation adipocytaire. L'intégration de ces signaux au sein de la niche adipocytaire, en interaction avec les mécanismes épigénétiques, décrits dans la section suivante, conditionne la probabilité qu'un progéniteur dérivé des ADSC s'engage durablement dans la voie adipocytaire ou soit maintenu dans un état indifférencié, voire orienté vers d'autres destins mésenchymateux (**Figure *11***).

iii. Le contrôle épigénétique : Reprogrammation de la chromatine

Au-delà de la régulation par la niche extracellulaire, l'adipogenèse repose sur un remodelage profond de la chromatine qui conditionne l'accessibilité des gènes adipocytaires aux facteurs tels que PPARγ et C/EBPα. Les approches de génomique fonctionnelle ont montré que l'activation du programme adipocytaire s'accompagne de modifications caractéristiques des histones (acétylation, méthylation), de réorganisations de la structure chromatinienne *via* des complexes de remodelage, ainsi que de changements dans la méthylation de l'ADN et dans l'expression de nombreux ARN non codants. Ces mécanismes épigénétiques interviennent à différentes étapes du processus, depuis l'état multipotent des cellules souches mésenchymateuses jusqu'à l'établissement du phénotype adipocytaire mature, et contribuent à stabiliser les états cellulaires successifs des ADSC, des préadipocytes engagés et des adipocytes différenciés (Mikkelsen et al., 2010; Rosen and MacDougald, 2006) (**Figure *11***).

- **Accessibilité et bivalence des promoteurs**

Un exemple de ce contrôle épigénétique concerne le locus de *Pparγ*, maître régulateur de la différenciation adipocytaire. Des travaux réalisés dans des cellules souches embryonnaires, des fibroblastes embryonnaires murins et des préadipocytes ont montré que le promoteur de *Pparγ1* se présente initialement sous la forme d'un domaine bivalent, portant simultanément des marques d'histones activatrices (H3K4me3) et répressives (H3K27me3). Au cours de la différenciation adipocytaire, la marque répressive H3K27me3 est progressivement perdue tandis que H3K4me3 est maintenue, conduisant à un état transcriptionnel actif et à l'induction de *Pparγ* (Mikkelsen et al., 2010, 2007). Ces observations ont été prolongées par des études portant sur le PRC2 (complexe Polycomb répressif 2), responsable de la triméthylation de H3K27. La dynamique des marques H3K27me3 au

niveau des régions régulant l'adipogenèse contribue au contrôle de l'expression de *Pparγ et Cebpa*. Ces mécanismes illustrent l'importance des modifications d'histones pouvant verrouiller ou libérer l'accès aux gènes maîtres de l'adipogenèse (Wang et al., 2010).

- **Modifications des histones**

En plus de PRC2, de nombreuses autres enzymes modifiant les histones participent à la régulation de l'adipogenèse. Des revues récentes mettent en avant le rôle de méthyltransférases et déméthylases d'histones, telles que LSD1, PRMT5 ou PRMT6, ainsi que de coactivateurs comme CARM1, dans la modulation de l'activité transcriptionnelle de *PPARγ* et des facteurs *C/EBP*. En effet, LSD1, la déméthylase de H3K4/H3K9, a été décrite comme nécessaire à l'activation du facteur de transcription *Cebpa*. Par ailleurs, PRMT5 et PRMT6 participent à la régulation de l'adipogenèse en modulant respectivement de manière positive et négative l'expression de *Pparγ2* et de ses cibles, *via* des modifications du statut de méthylation des résidus d'arginine sur les histones au niveau de leurs promoteurs (Hwang et al., 2019; LeBlanc et al., 2012). Enfin, CARM1, coactivateur à activité méthyltransférase, favorise l'adipogenèse en coactivant *PPARγ* sur ses gènes cibles. Cette activité s'accompagne indirectement d'un enrichissement en marques d'histones associées à une chromatine permissive, notamment *via* le recrutement de coactivateurs et de complexes de remodelage de la chromatine (Yadav et al., 2008).

- **Méthylation de l'ADN**

La méthylation de l'ADN constitue un autre niveau important de contrôle épigénétique de l'adipogenèse. Des études réalisées sur les préadipocytes 3T3-L1 ont montré que son inhibition par la 5-aza-2'-déoxycytidine exerce des effets dépendants du stade de différenciation. Une inhibition précoce perturbe l'engagement adipocytaire et bloque l'adipogenèse, tandis qu'une inhibition plus tardive peut au contraire renforcer l'expression de gènes lipogéniques et le programme adipocytaire déjà engagé. Ce double effet s'explique, d'une part, par une déméthylation du promoteur de *Wnt10a* et par une augmentation de son expression, qui induit un effet anti-adipogénique en phase précoce, et, d'autre part, par une déméthylation du promoteur de *Srebp1c*, qui favorise alors l'expression de ce facteur lipogénique et l'accumulation de lipides en phase tardive (Yang et al., 2016). Ces résultats illustrent le fait que la méthylation de l'ADN ne joue pas un rôle uniforme au cours de l'adipogenèse, mais exerce des effets opposés selon le stade de différenciation.

Des analyses ciblées ont également mis en évidence des modifications de méthylation de l'ADN sur des gènes adipocytaires spécifiques. Par exemple, le promoteur du gène de la *leptine* présente un niveau de méthylation élevé dans les états préadipocytaires, et sa diminution au cours de la différenciation adipocytaire est associée à l'activation de son expression, notamment en réponse à des

signaux hormonaux tels que l'insuline (Melzner et al., 2002). De manière similaire, une diminution de la méthylation de l'ADN du promoteur de GLUT4 (SLC2A4) a été décrite au cours de la différenciation adipocytaire, en parallèle de l'augmentation de son expression, contribuant à l'acquisition de la sensibilité à l'insuline des adipocytes matures (Yokomori et al., 1999). Des travaux récents intégrant données de méthylation, expression génique et profils de miARN ont permis d'identifier un ensemble de gènes dont l'expression est régulée simultanément par des changements de méthylation et des variations de miARN, suggérant un réseau épigénétique complexe contrôlant l'adipogenèse (Zhang et al., 2022).

- **ARNs non codants**

Enfin, des ARNs non codants, en particulier des miARN et des longs ARN non codants (lncARN), contribuent à la régulation épigénétique de l'adipogenèse en modulant l'expression de facteurs clés. En effet, plusieurs miARN ont été identifiés comme des freins de la différenciation adipocytaire en ciblant directement ou indirectement PPARγ. C'est notamment le cas de miR-27a et miR-130a, dont l'expression diminue au cours de l'adipogenèse, levant progressivement la répression exercée sur PPARγ et favorisant ainsi l'activation du programme adipocytaire (Lee et al., 2011; Lin et al., 2009). Plusieurs travaux ont montré que des lncARN, tels qu'ADINR ou SRA, participent activement à la régulation de l'adipogenèse. ADINR favorise notamment l'activation transcriptionnelle de *C/EBPα* (Xiao et al., 2015), tandis que SRA agit comme coactivateur de facteurs adipogéniques et module différentes voies de signalisation, incluant la signalisation insulinique et les voies MAPK et p38/JNK, influençant ainsi la capacité des cellules à s'engager dans la voie adipocytaire (Liu et al., 2014).

Pris dans leur ensemble, ces travaux montrent que la différenciation adipocytaire ne résulte pas seulement de l'activation linéaire d'une poignée de facteurs de transcription, mais d'une véritable reprogrammation épigénétique de la cellule, dans laquelle les marques d'histones, le remodelage de la chromatine, la méthylation de l'ADN et les ARN non codants convergent pour maintenir la chromatine dans un état permissif du programme PPARγ/C/EBP et stabiliser le phénotype adipocytaire.

iv. La cascade transcriptionnelle de la différenciation adipocytaire terminale

Une fois l'engagement préadipocytaire établi, la différenciation adipocytaire repose sur l'activation séquentielle de plusieurs facteurs de transcription, au centre desquels se trouvent PPARγ et les membres de la famille C/EBP. Les études menées principalement sur les préadipocytes 3T3-L1, mais également sur des modèles primaires, ont permis de proposer un schéma temporel reproductible dans différents modèles cellulaires. Une première vague de facteurs précoces est induite immédiatement après le stimulus adipogénique, suivie d'une seconde vague de facteurs « maîtres »

qui installent de manière stable le programme adipocytaire. Dans ce cadre, la différenciation adipocytaire est envisagée comme un enchaînement coordonné de phases prolifération et post-mitotique, couplé à l'activation progressive des gènes impliqués dans la lipogenèse, le stockage des lipides et la sensibilité à l'insuline (Farmer, 2006) (**Figure *12***).

La phase d'expansion clonale mitotique et la vague transcriptionnelle précoce

Dans les modèles 3T3-L1, l'induction de la différenciation par un cocktail adipogénique (glucocorticoïdes, insuline, agents stimulant l'AMPc) déclenche une première phase de réentrée transitoire en cycle cellulaire, souvent décrite comme l'expansion clonale mitotique. Au cours de cette phase, les préadipocytes prolifèrent pendant quelques cycles supplémentaires avant de devenir post-mitotiques et d'entrer dans la différenciation terminale, étape considérée comme nécessaire pour l'activation optimale du programme adipocytaire (Tang and Lane, 1999). Sur le plan moléculaire, ce stade précoce est caractérisé par l'induction de C/EBPβ et C/EBPδ, ainsi que d'autres facteurs comme le récepteur des glucocorticoïdes (GR), STAT5 ou plusieurs facteurs de la famille KLF (KLF4, KLF5), qui préparent la mise en place du programme adipocytaire sans pour autant suffire à le déclencher pleinement (Farmer, 2006) (**Figure *12***).

Les facteurs C/EBPβ et C/EBPδ jouent un rôle central dans cette première phase (**Figure *12***), en agissant comme un intermédiaire entre le signal adipogénique initial et l'activation de *Pparγ*. Leur expression est rapidement augmentée après exposition au cocktail adipogénique, puis ils se lient à des éléments C/EBP sur les promoteurs de gènes cibles, y compris celui de *Pparγ*, facilitant ainsi son induction à un stade ultérieur de la différenciation (Cao et al., 1991; Darlington et al., 1998). En effet, l'invalidation de C/EBPβ et C/EBPδ compromet l'induction de *Pparγ* et bloque l'adipogenèse (Tanaka et al., 1997), alors que leur surexpression favorise l'entrée en différenciation des préadipocytes (Zhang et al., 2011). De plus, l'activité de C/EBPβ est elle-même régulée par des mécanismes post-traductionnels (phosphorylation, changements de conformation), créant une fenêtre temporelle transitoire pendant laquelle ce facteur devient réellement pro-adipogénique (Kim et al., 2007; Tang et al., 2005).

Les régulateurs maîtres et la boucle d'auto-activation PPARγ – C/EBPα

La phase suivante de la différenciation adipocytaire est marquée par l'activation de PPARγ et de C/EBPα, deux facteurs considérés comme les régulateurs principaux de la différenciation adipocytaire (**Figure *12***). PPARγ est exprimé sous deux isoformes principales : PPARγ1 et PPARγ2, cette dernière étant majoritairement restreinte au TA. Des expériences de surexpression ont montré que PPARγ2, à elle seule, peut convertir des fibroblastes non adipogéniques en adipocytes fonctionnels, capables d'accumuler des lipides et d'exprimer l'essentiel du programme génique adipocytaire (Tontonoz et al.,

1994). À l'inverse, des modèles de fibroblastes embryonnaires de souris dépourvus de PPARγ se révèlent incapables de subir une adipogenèse, même en présence de C/EBPα, ce qui souligne le rôle indispensable et dominant de PPARγ dans la différenciation adipocytaire (Rosen et al., 1999).

C/EBPα, de son côté, est fortement induit après PPARγ et forme avec lui une boucle d'auto-activation positive qui stabilise le programme adipocytaire (Wu et al., 1999). Dans des conditions normales, C/EBPβ/δ induisent Pparγ, puis PPARγ et C/EBPβ/δ coopèrent pour induire Cebpa, établissant une boucle où PPARγ et C/EBPα se renforcent mutuellement (Tang et al., 2004b). Des expériences où C/EBPα est exprimé dans des fibroblastes dépourvus de Pparγ ont montré que C/EBPα est incapable, à lui seul, de déclencher la différenciation adipocytaire, alors que PPARγ peut le faire en l'absence de C/EBPα. L'interprétation de ces résultats conduit à l'idée d'une voie unifiée dans laquelle PPARγ est le facteur effectif de la différenciation et C/EBPα agit principalement comme amplificateur et stabilisateur (Rosen et al., 1999). Au-delà de son rôle transcriptionnel, C/EBPα contribue également à la mise en place de la sensibilité à l'insuline des adipocytes, en régulant l'expression de gènes impliqués dans la signalisation insulinique et le métabolisme glucidique (Wu et al., 1999) (**Figure *12***).

Complexes de co-régulation : coactivateurs et corépresseurs

La cascade transcriptionnelle de la différenciation adipocytaire est régulée par de nombreux coactivateurs et corépresseurs qui modulent finement l'activité de PPARγ et des C/EBP (**Figure *12***). Des coactivateurs transcriptionnels tels que PGC-1α, CBP/p300 ou MED1 renforcent l'activation des gènes adipocytaires en favorisant l'acétylation de la chromatine et le recrutement de la machinerie transcriptionnelle (Jang et al., 2021; Puigserver et al., 1999; Uldry et al., 2006). À l'inverse, des corépresseurs tels que NCoR, SMRT ou des complexes impliquant Rb et HDAC3 limitent l'activité de PPARγ en maintenant certains promoteurs dans un état transcriptionnel réprimé. Dans les préadipocytes 3T3-L1, leur invalidation par siRNA augmente l'expression des cibles de PPARγ et accélère la différenciation adipocytaire (Hansen et al., 2004; Yu et al., 2005). De plus, des travaux récents ont mis en évidence le rôle de modificateurs épigénétiques comme PRMT6, capables de restreindre la différenciation adipocytaire en réprimant l'axe PPARγ–C/EBPα, illustrant le dialogue étroit entre contrôle transcriptionnel et modification épigénétique (Hwang et al., 2019).

Régulateurs additionnels et freins transcriptionnels

Enfin, si PPARγ et C/EBPα/C/EBPβ représentent la base de la différenciation adipocytaire, de nombreux autres facteurs contribuent à moduler finement la réponse adipogénique. Parmi eux, plusieurs membres de la famille des Krüppel-like factors (KLF4, KLF5, KLF15) participent à la régulation positive ou négative de l'adipogenèse, en influençant l'expression de Pparγ, de C/EBPα, et des gènes

lipogéniques (Birsoy et al., 2008; Mori et al., 2005; Oishi et al., 2005). Des facteurs comme EBF1 ou des composants de la voie STAT, notamment STAT5, peuvent également moduler l'efficacité de la différenciation adipocytaire (Griffin et al., 2013 ; Wakao et al., 2011). À l'inverse, des répresseurs tels que GATA2/3, la voie Wnt/β-caténine ou certains facteurs de la famille TCF/LEF s'opposent à l'activation du programme adipocytaire (Christodoulides et al., 2009; Ross et al., 2000; Tong et al., 2000). Ainsi, l'équilibre entre ces régulateurs positifs et négatifs détermine si un préadipocyte s'engagera dans une adipogenèse complète ou restera bloqué à un stade intermédiaire de différenciation (**Figure 12**).

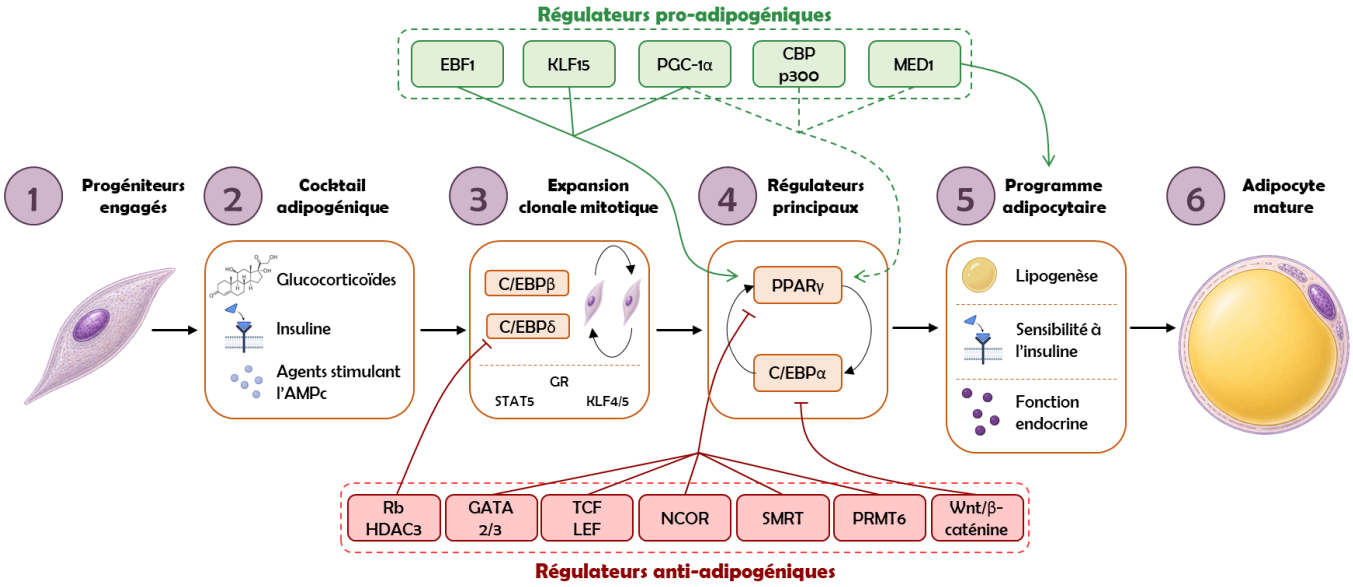


Figure 12 - Cascade transcriptionnelle de la différenciation adipocytaire *: Après un stimulus adipogénique, les progéniteurs engagés entrent dans une phase d'expansion clonale mitotique marquée par l'induction de C/EBPβ et C/EBPδ, ainsi que de facteurs précoces tels que GR, STAT5 et KLF4/5. Cette phase conduit à l'activation des régulateurs principaux de la différenciation adipocytaire, PPARγ et C/EBPα, qui entretiennent une boucle d'auto-activation stabilisant le programme adipocytaire. L'activation de ce réseau transcriptionnel induit ensuite l'expression des gènes impliqués dans la lipogenèse, la sensibilité à l'insuline et la fonction endocrine, aboutissant à la formation d'un adipocyte mature. L'ensemble de ce processus est finement modulé par des régulateurs pro-adipogéniques, tels qu'EBF1, KLF15, PGC-1α, CBP/p300 et MED1, et par des régulateurs anti-adipogéniques, incluant Rb/HDAC3, GATA2/3, TCF/LEF, NCoR, SMRT, PRMT6 et Wnt/β-caténine.*

Dans son ensemble, la différenciation adipocytaire peut être considérée comme la mise en place progressive d'un réseau transcriptionnel centré sur PPARγ et C/EBPα. Ce programme se met en place en deux étapes : une phase précoce impliquant C/EBPβ/δ et plusieurs co-régulateurs induits par le cocktail adipogénique, suivie de l'établissement d'une boucle d'auto-activation PPARγ–C/EBPα stabilisant durablement le phénotype adipocytaire. Ce réseau transcriptionnel active un ensemble étendu de gènes impliqués dans le métabolisme lipidique, la sensibilité à l'insuline et la fonction endocrine de l'adipocyte, transformant progressivement un préadipocyte engagé, encore

fibroblastique, en adipocyte mature riche en lipides et pleinement intégré dans la régulation de l'homéostasie énergétique.

3. Conséquences de l'obésité sur la régulation de l'adipogenèse

a. Modes d'expansion du tissu adipeux au cours de l'obésité : hypertrophie versus hyperplasie

i. Expansion saine (Hyperplasie adipocytaire)

L'altération de l'adipogenèse entraîne des répercussions majeures sur la façon dont le TA blanc se développe et sur son impact métabolique global. Lorsque l'adipogenèse reste préservée, l'excès énergétique peut être absorbé par la formation de nombreux adipocytes de petite taille, moins sujets à l'inflammation, à la lipolyse incontrôlée et à la résistance à l'insuline. Ce mode d'expansion, qualifié d'hyperplasique et considéré comme métaboliquement plus favorable, est notamment observé dans certains phénotypes d'obésité associés à une relative préservation de la sensibilité à l'insuline et à une prédominance du stockage sous-cutané (Virtue and Vidal-Puig, 2010). Le type d'expansion du TA et la localisation des dépôts constituent donc des déterminants majeurs du profil métabolique associé à l'obésité. Une expansion sous-cutanée relativement hyperplasique semble protéger, au moins en partie, des complications métaboliques (Vishvanath and Gupta, 2019).

ii. Expansion pathologique (hypertrophie et limite d'extensibilité)

En revanche, lorsque la capacité adipogénique du TA sous-cutané est dépassée, l'expansion repose principalement sur l'hypertrophie des adipocytes existants, conduisant à une obésité hypertrophique caractérisée par des adipocytes volumineux, résistants à l'insuline et pro-inflammatoires. Selon l'hypothèse de l'extensibilité du TA, chaque individu possède une capacité maximale d'expansion du TA, déterminée par des facteurs génétiques et environnementaux. Une fois cette limite atteinte, le TA cesse de stocker efficacement l'excès de lipides et ceux-ci sont redistribués vers des cellules non adipocytaires dans d'autres organes et tissus (Virtue and Vidal-Puig, 2010). Les adipocytes hypertrophiques présentent une altération de la signalisation insulinique, une baisse du contenu en IRS-1 et GLUT4, ainsi qu'une lipolyse basale augmentée, ce qui favorise un relargage excessif d'acides gras non estérifiés dans la circulation (Gustafson et al., 2019; Hammarstedt et al., 2018a). Cette combinaison d'hypertrophie adipocytaire, de lipolyse accrue et de réduction de la capacité de stockage conduit à une redistribution des lipides vers des sites ectopiques tels que le foie et le muscle squelettique, contribuant à la mise en place d'un contexte lipotoxique.

iii. Remodelage de la matrice extracellulaire et fibrose

L'expansion du TA s'accompagne d'un remodelage profond de la matrice extracellulaire péri-adipocytaire, qui tend à devenir excessif et rigide. En situation d'obésité, il est observé une accumulation accrue de composants de la matrice extracellulaire (collagènes I, III, VI, fibronectine, ostéopontine), une augmentation de l'expression de protéines fibrotiques (TGF-β, CCN2) et des inhibiteurs tissulaires des métalloprotéases, de même qu'une activité accrue d'enzymes de réticulation telles que la lysyl-oxydase, conduisant à une matrice extracellulaire plus dense et plus rigide. Des études chez l'Homme montrent qu'à IMC comparable, les sujets obèses insulino-résistants présentent un degré de fibrose du TAV et TASC plus important que les sujets obèses insulino-sensibles, suggérant un lien étroit entre fibrose adipocytaire, inflammation et résistance à l'insuline. Cette fibrose résulte principalement de l'hypoxie adipocytaire induite par l'hypertrophie, *via* l'activation de HIF-1α, le stress mécanique lié à la surcharge en lipides, ainsi que la production locale de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires par les adipocytes et les cellules immunitaires infiltrées.

Dans l'ensemble, les altérations de l'adipogenèse ne représentent donc pas un simple trouble de l'obésité, mais un déterminant majeur de la manière dont le TA s'étend et fonctionne. Elles conditionnent la transition d'un TA capable de stocker l'excès énergétique de façon physiologique vers un TA hypertrophique, fibrosé et inflammatoire, qui contribue directement à l'insulinorésistance et aux complications métaboliques associées à l'obésité.

b. Le microenvironnement obésogène : stress, inflammation et signaux endocriniens

i. Inflammation de bas grade et macrophages du tissu adipeux

L'obésité s'accompagne d'un état chronique d'inflammation de bas grade du TA, qui constitue un lien majeur entre l'expansion pathologique du TA, la dysfonction adipocytaire et les complications métaboliques systémiques. Dans le TA hypertrophique, l'accumulation excessive de lipides, l'hypoxie locale et la mort des adipocytes entraînent une production accrue de chimiokines et de cytokines pro-inflammatoires (MCP-1/CCL2, TNFα et IL-6), qui recrutent les macrophages, les lymphocytes B et T et les cellules NK (Li et al., 2023; Renner et al., 2018). Ces cellules infiltrées amplifient l'inflammation par la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires et la formation de structures en couronne (crown-like structures : CLS) autour des adipocytes hypertrophiques et/ou nécrotiques. La présence de structures CLS est devenue un marqueur histopathologique classique de l'inflammation du TA obèse (Geng et al., 2021; Maliniak et al., 2021). De nombreuses études montrent que cette inflammation chronique est plus marquée dans les dépôts viscéraux que dans les dépôts sous-cutanés, ce qui explique le lien étroit

entre obésité viscérale, insulinorésistance, diabète de type 2 et maladies cardiovasculaires (Ibrahim, 2010).

Dans le TA, les macrophages jouent un rôle central dans cette inflammation chronique. Chez les patients sains, la population de macrophages est relativement faible et majoritairement de phénotype anti-inflammatoire, participant au remodelage tissulaire, à l'élimination des débris et au maintien de l'homéostasie locale. En revanche, les patients atteints d'obésité ont une densité de macrophages fortement augmentée, avec une prédominance de phénotypes pro-inflammatoires, organisées en CLS autour des adipocytes morts, et produisent de grandes quantités de TNFα, IL-1β, IL-6, NO et ROS (Castoldi et al., 2016). La libération de ces composés altère directement la signalisation insulinique dans les adipocytes et favorise l'activation des voies inflammatoires telles que JNK et NF-κB (Li et al., 2025, 2023). Des travaux en microscopie tridimensionnelle ont mis en évidence une forte hétérogénéité des CLS et des micro-environnements immunitaires associés. Certains types de CLS sont particulièrement organisés en des profils métaboliques défavorables (Geng et al., 2021). Enfin, de nouveaux sous-types de macrophages associés aux lipides ($CD9^+$) ont été décrits dans le TA obèse, localisés principalement dans les CLS et impliqués dans la phagocytose de lipides et la fibrogenèse. L'ensemble de ces éléments contribue à la rupture de l'homéostasie adipocytaire et à l'inhibition de l'adipogenèse (Li et al., 2023).

ii. Stress cellulaires intrinsèques : hypoxie, réticulum endoplasmique et stress oxydant

Le TA obèse est également soumis à divers stress cellulaires, en particulier l'hypoxie, le stress du réticulum endoplasmique et le stress oxydant qui s'entretiennent mutuellement et se renforcent au cours de la réponse inflammatoire. En effet, l'hypertrophie adipocytaire et l'insuffisance d'angiogenèse entraînent une baisse du débit sanguin et de la densité capillaire, conduisant à une hypoxie relative dans le TA. Des études chez l'Homme montrent que l'expression de HIF-1α est augmentée dans le TA d'individus obèses et diminue après perte de poids (Guglielmi et al., 2015), tandis que des modèles murins d'activation constitutive d'HIF-1α dans les adipocytes favorisent le développement d'une fibrose et une inflammation plus marquée dans le TA (Halberg et al., 2009).

L'hypoxie constitue également un puissant inducteur du stress du réticulum endoplasmique. En effet, il est maintenant établi que l'hypoxie augmente l'expression des gènes *CHOP* et *GRP78/BiP*, favorise la résistance à l'insuline, ainsi que la libération de signaux pro-inflammatoires (Hosogai et al., 2007). De plus, la surcharge lipidique accumulée au cours de l'obésité et le dysfonctionnement mitochondrial accroissent la production de ROS, participant à la stabilisation de HIF-1α et à l'activation des voies inflammatoires (Chandel et al., 2000). Dans les adipocytes eux-mêmes, ces niveaux de stress

chronique activent différentes voies de signalisation inflammatoires, comme NF-κB. Ce facteur de transcription est reconnu comme un régulateur clé de l'expression des cytokines TNF-α et IL-6, des chimiokines comme MCP-1 et des molécules d'adhérence qui favorisent le recrutement d'autres cellules immunitaires dans le TA (Griffin, 2022). Chez l'Homme, des études indiquent que l'activité de NF-κB est plus élevée dans le TAV que dans le TASC, et qu'elle est encore plus augmentée chez des patients atteints de diabète de type 2 par rapport à des sujets non diabétiques (Harte et al., 2013). Le stress du réticulum renforce les réponses immunitaires en amplifiant l'expression des cytokines interférant directement avec la signalisation de l'insuline (Ajoolabady et al., 2022).

iii. Impact du microenvironnement inflammatoire sur l'adipogenèse

Cette inflammation chronique et ces stress cellulaires ont des conséquences directes sur la régulation de l'adipogenèse. En effet, le microenvironnement inflammatoire riche en TNF α, IL-1β et IL-6 inhibe l'expression de facteurs de transcription pro-adipogéniques (C/EBPα et PPARγ) dans les progéniteurs et active des voies anti-adipogéniques telles que Wnt/β-caténine et Notch, bloquant l'engagement et la différenciation adipocytaire (**Figure *13***) (Sorisky et al., 2013). Les macrophages pro-inflammatoires sécrètent plusieurs facteurs capables d'induire la sénescence des progéniteurs et de réduire leur capacité à entrer en adipogenèse, comme le montrent des modèles murins où l'élimination de cellules sénescentes restaure l'adipogenèse et améliore le profil métabolique (Xu et al., 2015). Dans ces conditions, la capacité du TA à recruter de nouveaux adipocytes fonctionnels est compromise, ce qui favorise l'hypertrophie des adipocytes restants et accentue l'hypoxie, la fibrose et l'inflammation chronique créant ainsi un cercle vicieux entre dysfonction adipocytaire et dérèglement de l'homéostasie énergétique.

iv. Environnement nutritionnel hypercalorique et dérégulation hormonale

L'obésité se développe dans un contexte d'excès calorique chronique, caractérisé par une disponibilité accrue en glucose et en lipides qui modifie la régulation de l'adipogenèse. Une hyperglycémie persistante et la surcharge lipidique alimentaire favorisent la lipogenèse *de novo* et le remplissage des adipocytes existants. Cela s'explique par l'activation de facteurs de transcription pro-lipogéniques comme SREBP1c et ChREBP (Iizuka and Horikawa, 2008). Des travaux montrent que des concentrations élevées de glucose et d'acides gras libres modifient le phénotype des préadipocytes humains vers un profil pro-inflammatoire, avec activation de NF-κB et diminution de l'expression de PPARγ et C/EBPα, réduisant leur capacité à s'engager dans la lignée adipocytaire et favorisant l'hypertrophie des adipocytes préexistants (Griffin, 2022). Par conséquent, l'environnement

nutritionnel hypercalorique agit à la fois comme stimulus de stockage et comme frein de la mise en place d'une adipogenèse efficace (**Figure *13***).

Les lipides n'exercent pas tous les mêmes effets sur l'adipogenèse. En effet, les acides gras saturés activent les récepteurs Toll-like, notamment TLR4, présents sur les adipocytes et les macrophages, déclenchant la production de cytokines pro-inflammatoires (TNFα, IL-6) qui inhibent la différenciation adipocytaire comme décrit précédemment (Sorisky et al., 2013). Cependant, les acides gras insaturés peuvent agir comme des ligands des récepteurs de la famille PPAR, favorisant la différenciation adipocytaire, l'oxydation lipidique et l'amélioration de la sensibilité à l'insuline (Varga et al., 2011). Ces observations suggèrent que la qualité des lipides ingérés influence la qualité de l'expansion du TA (**Figure *13***).

Sur le plan hormonal, l'obésité régule un ensemble de facteurs qui modulent directement ou indirectement l'adipogenèse. L'insuline occupe une place centrale dans le contrôle de l'adipogenèse. Elle fait notamment partie du cocktail adipogénique classique utilisé dans les modèles de différenciation *in vitro* où elle favorise à la fois la réentrée transitoire en cycle des préadipocytes et l'activation du programme adipogénique *via* les voies PI3K/Akt et IGF-1R/insuline. Dans le TA, l'insuline stimule l'entrée du glucose, favorisant l'accumulation lipidique et limitant la mobilisation des réserves, créant ainsi un environnement favorable à la maturation adipocytaire (Rosen and Spiegelman, 2014) (**Figure *13***).

La leptine, dont les concentrations sont élevées au cours de l'obésité, peut également exercer des effets locaux sur les progéniteurs adipocytaires. En effet, il a été montré que la stimulation *in vitro* de préadipocytes 3T3-L1 avec une forte concentration de leptine réduit l'accumulation lipidique et la formation de nouveaux adipocytes (Ambati et al., 2007). Ces résultats sont cohérents avec une autre étude qui montre que la leptine augmente la lipolyse et l'oxydation des AG dans les préadipocytes (Kim et al., 2008). À l'inverse, l'adiponectine, dont les taux circulants sont diminués au cours de l'obésité, exerce un effet pro-adipogénique. En effet, sa surexpression dans les cellules 3T3-L1 accélère leur prolifération et leur différenciation en adipocytes matures. De plus, elle augmente l'expression des gènes clés de la lipogenèse et apporte une réponse plus sensible au glucose par l'intermédiaire de GLUT-4. Ces résultats suggèrent que la diminution de l'adiponectine dans l'obésité prive le TA d'un signal autocrine favorable à l'adipogenèse et au maintien d'une expansion adaptative du TA (Fu et al., 2005) (**Figure *13***).

Les glucocorticoïdes constituent un autre déterminant majeur de la régulation adipocytaire. Comme l'insuline, ils sont classiquement utilisés dans les cocktails de différenciation *in vitro*, où ils favorisent l'induction de C/EBPβ, initiant ainsi le programme adipogénique. Chez l'Homme, l'obésité

augmente l'activité de l'enzyme 11β-HSD1 qui régénère le cortisol actif à partir de la cortisone dans le TA. Ce mécanisme accroît localement la disponibilité en glucocorticoïdes sans forcément modifier les niveaux plasmatiques. Enfin, des souris surexprimant l'enzyme 11β-HSD1 dans le TA développent une obésité viscérale marquée, une insulino-résistance et une dyslipidémie, montrant que l'excès de glucocorticoïdes locaux favorise l'expansion adipocytaire et la dysfonction métabolique (Masuzaki et al., 2001) (**Figure *13***).

Les hormones thyroïdiennes interviennent également dans la régulation de la différenciation adipocytaire. Il est décrit que la triiodothyronine (T3) contrôle l'expression de nombreux gènes impliqués dans l'adipogenèse, la lipogenèse et la thermogenèse, soit directement *via* les récepteurs nucléaires des hormones thyroïdiennes, soit indirectement par modulation de facteurs transcriptionnels tels que les PPAR. La disponibilité intracellulaire en T3 est elle-même finement régulée par les déiodinases : l'expression de la déiodinase de type 3 (D3), qui inactive les hormones thyroïdiennes, prédomine durant la phase proliférative des préadipocytes, tandis que la déiodinase de type 2 (D2), responsable de la production locale de T3 active, joue un rôle plus important au cours de la différenciation adipocytaire (Bianco and Kim, 2006 ; Obregon, 2008) (**Figure *13***).

Les stéroïdes sexuels, et en particulier les estrogènes, constituent un autre niveau majeur de régulation du TA. Des revues récentes montrent que les estrogènes participent au contrôle de l'homéostasie du TA blanc, de la fonction des progéniteurs adipocytaires et de la répartition corporelle des graisses, avec des effets dépendants du sexe et du dépôt adipeux considéré (Kuryłowicz, 2023; Steiner and Berry, 2022). L'activation du récepteur ERα exerce également des effets directs sur les progéniteurs adipocytaires blancs en inhibant leur engagement et leur différenciation, soutenant ainsi l'idée que l'environnement hormonal contribue aux différences de capacité adipogénique observées entre dépôts adipeux (Lapid et al., 2014) (**Figure *13***).

Ainsi, l'adipogenèse physiologique dépend d'un équilibre étroit entre signaux inflammatoires, nutritionnels et hormonaux, qui permet au TA de s'adapter à l'état énergétique de l'organisme. Lorsque cet équilibre est rompu en contexte d'obésité et de résistance à l'insuline, cette réponse adaptative devient inefficace ou pathologique, participant à la défaillance de l'adipogenèse, à la dysfonction du TA et aux altérations des progéniteurs détaillées dans la section suivante.

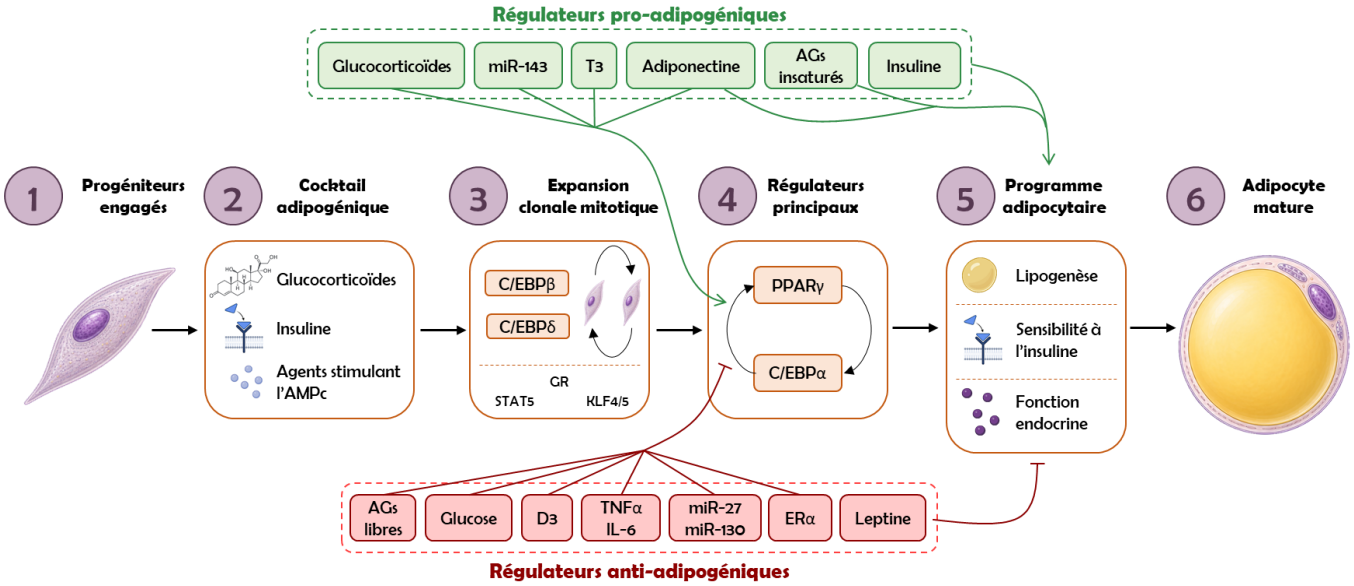


Figure 13 - Régulation hormonale et nutritionnelle de la différenciation adipocytaire *: L'ensemble de ce processus est modulé par des régulateurs pro-adipogéniques, parmi lesquels les glucocorticoïdes, miR-143, T3, l'adiponectine, les acides gras insaturés et l'insuline, qui favorisent l'activation ou le maintien du programme adipocytaire. À l'inverse, plusieurs signaux anti-adipogéniques, tels que les acides gras libres, le glucose, la vitamine D3, les cytokines inflammatoires TNFα et IL-6, miR-27/miR-130, ERα et la leptine, freinent la différenciation adipocytaire en interférant avec l'activation de PPARγ/C/EBPα ou avec les protéines effectrices du programme adipocytaire.*

c. Altérations fonctionnelles et reprogrammation des cellules progénitrices

Dans le contexte de l'obésité, les ADSC et les préadipocytes engagés subissent des altérations importantes de leurs propriétés prolifératives, métaboliques et de différenciation. Chez l' Homme, il semble que le nombre total de progéniteurs ne soit pas diminué dans le TA obèse (Gustafson et al., 2019). Cependant, ces cellules présentent un phénotype fonctionnellement altéré, caractérisé par une diminution de leur potentiel adipogénique, une dérive vers d'autres lignées cellulaires non adipocytaires et une entrée prématurée en sénescence (Foti et al., 2024; Pyrina et al., 2020). Ces altérations compromettent directement la capacité du TA à maintenir un renouvellement efficace de ses cellules adipocytaires.

i. Sénescence des progéniteurs : p16/p21/p53 et phénotype SASP

L'obésité s'accompagne d'une augmentation marquée de la sénescence cellulaire au sein de la FSV, incluant les progéniteurs adipocytaires. Les progéniteurs d'individus obèses et/ou diabétiques présentent une surexpression de marqueurs classiques de sénescence, tels que $p16^{INK4a}$, $p21^{CIP1}$, p53 et SA-β-gal, une altération de la morphologie, une réduction de la capacité de prolifération et une augmentation de la sécrétion de cytokines, chimiokines et protéases spécifiques d'un phénotype associé à la sénescence (Narasimhan et al., 2022). Des modèles murins ont montré que l'élimination génétique ou pharmacologique des cellules $p16^{high}$ ou $p21^{high}$ dans le TA améliore la tolérance au

glucose, la sensibilité à l'insuline, la thermogenèse et la capacité adipogénique, renforçant l'idée d'un rôle causal de la sénescence des progéniteurs adipocytaires dans la dysfonction adipocytaire et les complications métaboliques liées à l'obésité (Schafer et al., 2016). Ce phénotype SASP (phénotype sécrétoire associé à la sénescence) contribue à entretenir un microenvironnement pro-inflammatoire qui altère encore davantage l'adipogenèse.

ii. Épuisement des sous-populations compétentes et perte de plasticité

Ces altérations s'accompagnent de profonds remaniements métaboliques au sein des ADSC et des préadipocytes. Des analyses fonctionnelles montrent que les ADSC issues de tissus obèses présentent une biogenèse mitochondriale augmentée mais une fonction mitochondriale altérée, avec une consommation d'oxygène réduite en présence de glucose et une préférence accrue pour l'oxydation des acides gras comme substrat, ce qui pourrait refléter une adaptation à un environnement lipidique enrichi mais contribuer à un état de stress métabolique chronique (Pérez et al., 2015). De plus, les ADSC dérivées du TA obèse montrent une capacité réduite à stocker les lipides et à produire les adipokines (Pérez et al., 2013).

Enfin, l'une des principales conséquences de ces altérations est la diminution de la capacité de différenciation adipocytaire des progéniteurs. Chez l'Homme, l'obésité hypertrophique est associée à une réduction du nombre de préadipocytes capables de se différencier en adipocytes matures dans le TA, ainsi qu'à une baisse de l'expression de gènes adipogéniques clés (PPARγ et C/EBPα), corrélée à la résistance à l'insuline et à la présence d'adipocytes de grande taille (Gustafson et al., 2009). Par ailleurs, une sous-population de progéniteurs dans le TA a été identifiée avec comme phénotype : $DPP4^{+}$ (dipeptidyl peptidase-4) ou $CD9^{low}$ dont la proportion diminue dans l'obésité et l'insulinorésistance, suggérant un épuisement sélectif des sous-populations les plus compétentes pour l'adipogenèse (Merrick et al., 2019). Enfin, des travaux soulignent le rôle de signaux comme BMP4 et de leurs antagonistes endogènes (GREM1, GREM2) dans l'engagement adipocytaire des progéniteurs. Dans l'obésité hypertrophique, une augmentation des antagonistes BMP dans le TA réduit la capacité d'engagement des progéniteurs vers la lignée adipocytaire, favorisant la poursuite d'une expansion hypertrophique (Gustafson et al., 2015b).

iii. Mémoire métabolique et reprogrammation épigénétique des ADSC

Au-delà de ces altérations fonctionnelles, l'environnement obésogène impose une reprogrammation épigénétique et transcriptionnelle durable aux progéniteurs adipocytaires. Des études ont montré une importante modification du profil global de méthylation de l'ADN au niveau de promoteurs clés de l'adipogenèse, du métabolisme lipidique et de l'inflammation dans les précurseurs adipocytaires humains issus de TA obèses (Ejarque et al., 2019; Londoño Gentile et al., 2013). Ces

altérations sont associées à des modifications de la morphologie et de la dynamique mitochondriale dans les adipocytes, suggérant que la reprogrammation épigénétique des ADSC humaines conditionne la dysfonction mitochondriale et métabolique du TA obèse (Ejarque et al., 2019).

Des modifications post-traductionnelles des histones au niveau des enhancers adipogéniques jouent également un rôle clé. En effet, des complexes comme H3K4 méthyltransférases (MLL3/MLL4) et les coactivateurs CBP/p300 marquent et activent les enhancers des gènes adipogéniques au cours de la différenciation. Par ailleurs, des analyses de chromatine ont révélé que l'IMC est associé à une reconfiguration globale des marques H3 dans le TA, qui affecte l'accessibilité de certains enhancers et le recrutement de PPARγ, altérant le potentiel adipogénique des ADSC (Castellano-Castillo et al., 2019). L'expression de certaines histones désacétylases (HDAC) est modifiée au cours de l'obésité et varie selon le dépôt adipeux ainsi que le contexte physiopathologique. Ainsi, l'expression de HDAC4 est positivement corrélée à l'obésité viscérale, tandis que celles de HDAC2, HDAC5 et HDAC6 ne présentent pas cette association. À l'inverse, il est suggéré que HDAC2 est impliquée dans la régulation de la réponse inflammatoire et de la production de cytokines pro-inflammatoires, alors que ce mécanisme ne semble pas régulé par HDAC4, HDAC5 et HDAC6 (Shanaki et al., 2022).

Enfin, un nombre croissant de travaux s'intéresse au rôle des ARN non codants dans la régulation de l'adipogenèse au cours de l'obésité. Plusieurs microARN ont été identifiés comme des régulateurs positifs ou négatifs de la différenciation adipocytaire en modulant l'expression de C/EBPα et de PPARγ. En effet, il a été montré que miR-27 et miR-130 sont des régulateurs négatifs de la différenciation adipocytaire (Pant et al., 2021), dont l'expression est diminuée lors de l'obésité chez l'Homme (Lee et al., 2011). À l'inverse, miR-143 régule positivement la différenciation adipocytaire (Esau et al., 2004) et une autre étude a montré que son expression était augmentée dans le TAV de patients obèses et chez des souris nourries avec un régime riche en graisses (Takanabe et al., 2008). Les lncRNA jouent également un rôle clé qui est de plus en plus documenté. En effet, de nombreux lncRNA promeuvent l'adipogenèse comme SRA, NEAT1, HOTAIR, lnc-RAP-1 ou ADINR en facilitant l'activation de PPARγ ou en remodulant localement la chromatine, tandis que d'autres lncRNA comme ADNCR, H19 ou u90926 inhibent l'adipogenèse en recrutant des complexes de répression. Ces lncRNA sont spécifiques du TA blanc, mais ne sont pas répartis équitablement entre le TAV ou le TASC, et sont régulés par des signaux nutritionnels et hormonaux (Sufianov et al., 2023).

Prises dans leur ensemble, ces données montrent que l'obésité ne se limite pas à un simple remplissage progressif du TA par des adipocytes hypertrophiques, mais s'accompagne d'une altération profonde et multifactorielle du compartiment progéniteur adipocytaire. La sénescence, l'épuisement des sous-populations compétentes, la reprogrammation métabolique et épigénétique, ainsi que la

diminution de la capacité de différenciation compromettent le rôle des ADSC dans le renouvellement et l'expansion adaptative du TA. Cette combinaison contribue de façon déterminante à la perte de l'expansion « saine » du TA et à la transition vers un phénotype pathologique associant hypertrophie, fibrose, inflammation et complications métaboliques systémiques, dont les conséquences lipotoxiques et cardiométaboliques sont développées dans la section suivante.

d. Conséquences sur le risque cardiométabolique

i. Stockage ectopique des lipides et lipotoxicité

Cette incapacité du TA à prendre en charge l'excès de lipides conduit à une lipotoxicité caractérisée par un stockage ectopique de lipides. Les organes non adipeux qui sont principalement touchés sont le foie, le muscle squelettique, le pancréas, le myocarde et les tissus vasculaires. Dans ces tissus, l'apport lipidique dépasse la capacité d'oxydation mitochondriale, ce qui entraîne une accumulation de triglycérides, de diacylglycérols et de céramides dans le compartiment intracellulaire. Ceci active les différentes isoformes de la PKC et d'autres kinases qui phosphorylent les substrats du récepteur de l'insuline sur des résidus inhibiteurs, ce qui empêche la voie de signalisation IRS-1/PI3K/Akt (Snel et al., 2012).

Au niveau hépatique, cette lipotoxicité se traduit par une stéatose, une augmentation de la production de glucose par néoglucogenèse, une résistance à l'insuline et une hyperproduction de VLDL (Fabbrini et al., 2010; Snel et al., 2012). Dans le muscle squelettique, cela se traduit par une diminution de la captation de glucose et une altération de l'oxydation lipidique (Simoneau and Kelley, 1997). Enfin, les dépôts lipidiques ectopiques accumulés dans le pancréas induisent une toxicité directe sur les cellules β et une altération de la sécrétion d'insuline (Poitout and Robertson, 2008). Ainsi, la lipotoxicité et le stockage ectopique des lipides constituent la conséquence directe d'une adipogenèse insuffisante sur de nombreux tissus et organes périphériques.

ii. Mise en place de l'insulinorésistance systémique

L'ensemble de ces altérations contribue de manière déterminante au développement de l'insulinorésistance systémique. De nombreuses revues indiquent que l'hypertrophie adipocytaire, indépendamment de l'IMC, est étroitement corrélée à une résistance à l'insuline et à une tolérance altérée au glucose. À l'inverse, une expansion hyperplasique des adipocytes est plutôt associée à un profil métabolique plus favorable. L'insulinorésistance résulte alors d'un ensemble de mécanismes convergents : diminution de la sensibilité à l'insuline dans le TA (perte de l'effet anti-lipolytique), augmentation des flux d'AG libres vers le foie, le muscle et le pancréas, lipotoxicité et inflammation chronique de bas grade entretenue par le TA dysfonctionnel. Ensemble, ce contexte favorise la mise en place du syndrome métabolique par l'association d'une obésité chronique, d'une

insulinorésistance, d'une dyslipidémie (hypertriglycéridémie, baisse de HDL-cholestérol) et d'une hypertension artérielle (Virtue and Vidal-Puig, 2010).

iii. Complications cardiométaboliques

Enfin, la combinaison d'une adipogenèse altérée, d'une lipotoxicité et d'une insulinorésistance systémique se traduit par une augmentation significative du risque de complications cardiométaboliques. Les dépôts de graisses ectopiques dans les tissus périphériques sont désormais reconnus comme des marqueurs et des acteurs à part entière du risque cardiométabolique, plus prédictifs que le simple calcul de l'IMC. Ils contribuent au développement et à la progression du diabète de type 2, de la maladie coronarienne, de l'insuffisance cardiaque, de l'hypertension et de la maladie rénale chronique, *via* la libération locale d'adipokines et de médiateurs pro-inflammatoires (Allende-Vigo, 2010). Dans ce contexte, l'altération de l'adipogenèse et la perte de capacité saine du TA ne constituent pas seulement le développement de l'obésité, mais un déterminant central de la transition vers le syndrome métabolique et ses complications cardiométaboliques majeures.

Partie B : Le système endocannabinoïde

1. Généralités

a. Découverte et définition

Les études paléobotaniques suggèrent que les premières traces d'utilisation du cannabis remontent à environ 12 000 ans dans les régions d'Asie centrale et orientale, où la plante aurait initialement été exploitée pour ses fibres textiles et ses graines, avant que ses propriétés psychoactives et médicinales ne soient progressivement reconnues. D'abord cultivé dans des contextes agricoles et rituels, *Cannabis sativa* est ensuite utilisé à des fins thérapeutiques dès l'Antiquité, notamment en Chine et dans la région indo-iranienne. Les premiers usages médicinaux documentés du cannabis remontent à la Chine ancienne, où la plante figurait parmi les remèdes employés pour traiter diverses affections, en particulier la douleur et certains troubles neurologiques. Le *Shen Nung Pen-ts'ao Ching*, ouvrage fondateur de la pharmacopée chinoise compilé aux alentours du Ier–IIe siècle après J.-C., mentionne notamment les propriétés médicinales du cannabis. Par la suite, plusieurs auteurs de l'Antiquité grecque et romaine décrivent également son utilisation pour soulager la douleur et traiter diverses inflammations (Karki and Rangaswamy, 2023; Pain, 2015).

Après une période de ralentissement au début du XXe siècle liée aux évolutions réglementaires et à la prohibition, le cannabis réapparaît comme objet d'étude pharmacologique à partir des années 1960. C'est dans ce contexte que les chercheurs israéliens Raphael Mechoulam et Yechiel Gaoni isolent et caractérisent en 1964 le Δ^9-tétrahydrocannabinol (Δ^9-THC), catégorisant ce composé comme le principal constituant psychoactif de la plante (Gaoni and Mechoulam, 1964). L'isolement, puis la synthèse de différents cannabinoïdes naturels, notamment le Δ^9-THC, le cannabidiol et le cannabinol ont permis de mieux caractériser leurs effets pharmacologiques. En effet, ces travaux montrent que les cannabinoïdes exercent des effets stéréosélectifs, suggérant l'existence de cibles moléculaires spécifiques plutôt qu'un simple mécanisme d'action non spécifique impliquant les membranes cellulaires (Mechoulam et al., 1980).

À la fin des années 1980, la recherche de ces cibles a conduit à l'identification de sites de liaison de haute affinité pour les cannabinoïdes dans le cerveau, puis au clonage du premier récepteur cannabinoïde, le récepteur cannabinoïde de type 1 (CB1R), au début des années 1990 (Matsuda and Young, 1990). Le récepteur cannabinoïde de type 2 (CB2R) est ensuite identifié en 1993, complétant ainsi la caractérisation des principaux récepteurs cannabinoïdes (Munro et al., 1993). Ces récepteurs, appartenant à la famille des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR), présentent une distribution tissulaire distincte : Le CB1R est principalement exprimé dans le système nerveux central tout en étant

aussi distribué dans divers tissus périphériques. À l'inverse, le CB2R s'exprime essentiellement au sein des cellules du système immunitaire, tout en étant également présent dans certains tissus périphériques (Muralidhar Reddy et al., 2019).

L'identification de ces récepteurs spécifiques a naturellement conduit à la recherche de l'existence de ligands endogènes, aboutissant à la découverte de N-arachidonoyléthanolamine (anandamide ou AEA) en 1992 (Devane et al., 1992), puis du 2-arachidonoylglycérol (2-AG) en 1995 (Mechoulam et al., 1995), considérés aujourd'hui comme les deux principaux ECs activant ces récepteurs.

Parallèlement, plusieurs enzymes impliquées dans la biosynthèse et la dégradation de ces ligands lipidiques ont été identifiées, notamment la N-acyl-phosphatidyléthanolamine-phospholipase D (NAPE-PLD) (Okamoto et al., 2004), impliquée dans la synthèse de l'anandamide, ainsi que les diacylglycérol lipases α et β (DAGLα/β), responsables de la production du 2-AG (Bisogno et al., 2003). Leur inactivation repose principalement sur deux enzymes hydrolytiques : la fatty acid amide hydrolase (FAAH), qui dégrade préférentiellement l'anandamide (Cravatt et al., 1996), et la monoacylglycérol lipase (MAGL), principale enzyme de dégradation du 2-AG (Dinh et al., 2002).

Cette succession de découvertes a progressivement conduit à une définition du système endocannabinoïde (SEC), comprenant non seulement les CB1R et CB2R, mais également leurs ligands endogènes ainsi que l'ensemble des enzymes impliquées dans leur synthèse, leur transport et leur dégradation (Piomelli, 2003).

Aujourd'hui, le SEC est défini comme un système de signalisation lipidique largement distribué dans l'organisme, organisé autour de récepteurs couplés aux protéines Gi/o, de ligands dérivés d'acides gras polyinsaturés synthétisés « à la demande » à partir des phospholipides membranaires, ainsi que d'enzymes assurant leur synthèse et leur dégradation, régulant ainsi finement leur tonus local. Historiquement décrit comme une voie de neuromodulation rétrograde majeure dans le système nerveux central, où les ECs libérés par les neurones post-synaptiques modulent la libération de neurotransmetteurs en agissant sur des CB1R présynaptiques, le SEC est désormais reconnu comme un système de signalisation plus global, présent dans de nombreux tissus périphériques, notamment le TA, le foie, le muscle squelettique, le pancréas endocrine, le tractus gastro-intestinal et le rein. Cette large distribution tissulaire, associée à ses nombreuses fonctions physiologiques, explique l'intérêt porté au SEC dans le contrôle de l'homéostasie énergétique ainsi que dans la physiopathologie des maladies métaboliques (Lu and Mackie, 2016).

b. Composants du SEC

Au-delà de sa définition classique, centrée sur les CB1R et CB2R, leurs ligands endogènes et les enzymes qui contrôlent leur métabolisme, le SEC est aujourd'hui envisagé comme un réseau lipidique beaucoup plus vaste (Di Marzo, 2018). En effet, les deux principaux ECs, l'AEA et le 2-AG, appartiennent respectivement aux familles des N-acyléthanolamines (NAEs) et des 2-monoacylglycérols (2-MAGs), deux grandes classes de médiateurs lipidiques dérivés d'acides gras. À côté de l'AEA et du 2-AG, il existe de nombreuses molécules apparentées, parfois qualifiées « d'endocannabinoid-like mediators », incluant des NAEs telles que la palmitoyléthanolamine (PEA) et l'oléoyléthanolamine (OEA), des 2-MAGs synthétisés à partir d'autres acides gras que l'acide arachidonique, mais aussi des N-acyl-dopamines, N-acyl-taurines, N-acyl-sérotonines, N-acyl-acides aminés et des amides d'acides gras primaires. Certaines de ces molécules ne présentent pas d'affinité significative pour les CB1R et CB2R, mais agissent sur des cibles distinctes, telles que les récepteurs nucléaires PPARα dans le cas de l'OEA et de la PEA, ou d'autres voies de signalisation lipidique (Iannotti and Di Marzo, 2025; Tsuboi et al., 2018). Par ailleurs, les principaux ECs diffèrent par leur affinité et leur efficacité d'activation vis-à-vis des récepteurs cannabinoïdes. L'AEA possède une affinité relativement plus élevée pour CB1R que pour CB2R et se comporte généralement comme un agoniste partiel. À l'inverse, le 2-AG, beaucoup plus abondant dans les tissus, est capable d'activer pleinement les récepteurs CB1R et CB2R. Il est généralement présent à des concentrations tissulaires 100 à 1000 fois supérieures à celles de l'AEA selon les organes et les méthodes de mesure, ce qui en fait le principal ligand physiologique de ces deux récepteurs (Reggio, 2010) (**Figure *14***).

Cette diversité fonctionnelle a conduit à l'extension du concept de SEC vers celui d'endocannabinoïdome, désignant un réseau plus large de médiateurs lipidiques associés à leurs cibles moléculaires et aux enzymes impliquées dans leur métabolisme (Di Marzo, 2018). Ainsi, la signalisation endocannabinoïde ne repose pas uniquement sur les CB1R et CB2R. Outre ces deux récepteurs couplés aux protéines Gi/o, plusieurs cibles dites non-CB1R/non-CB2R peuvent être activées par l'AEA, le 2-AG ou par d'autres médiateurs de l'endocannabinoïdome. Parmi elles figurent le canal ionique transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1), activé par l'AEA, des récepteurs nucléaires de type PPARα et PPARγ, recrutés par certaines NAEs et 2-MAGs, ainsi que plusieurs récepteurs orphelins couplés aux protéines G, dont GPR55, GPR119, GPR18 et des récepteurs apparentés (GPR3, GPR6, GPR12) proposés comme cibles pour certaines molécules de la famille. Ces récepteurs ne sont pas exprimés de la même façon selon les tissus, ce qui entraîne des réponses cellulaires différentes aux mêmes ligands (Iannotti and Di Marzo, 2025) (**Figure *14***).

Enfin, la synthèse, la transformation et la dégradation des ECs et composés associés reposent sur un ensemble d'enzymes qui constituent le troisième volet majeur du système. La production d'AEA et

des autres NAEs dépend majoritairement de l'enzyme NAPE-PLD tandis que les 2-MAGs riches en acide arachidonique, comme le 2-AG, sont principalement générés à partir de diacylglycérols par les DAGLα/β. Leur dégradation implique principalement la FAAH pour les NAEs et la MAGL pour les 2-MAGs, avec la contribution d'autres hydrolases telles qu'ABHD6 (ABHD6 : α/β-hydrolase domain-containing protein 6), ABHD12 (α/β-hydrolase domain-containing protein 12) ou NAAA (N-acylethanolamine acid amidase) selon le tissu et le compartiment cellulaire (Iannotti and Di Marzo, 2025) (**Figure 14**). Ces voies enzymatiques peuvent elles-mêmes être complétées par des voies d'oxydation impliquant la cyclo-oxygénase-2, des lipoxygénases ou des cytochromes P450, qui transforment les ECs et composés apparentés en une grande variété de métabolites oxygénés, biologiquement actifs, donnant naissance au concept « d'oxy-endocannabinoïdome » (Simard et al., 2022).

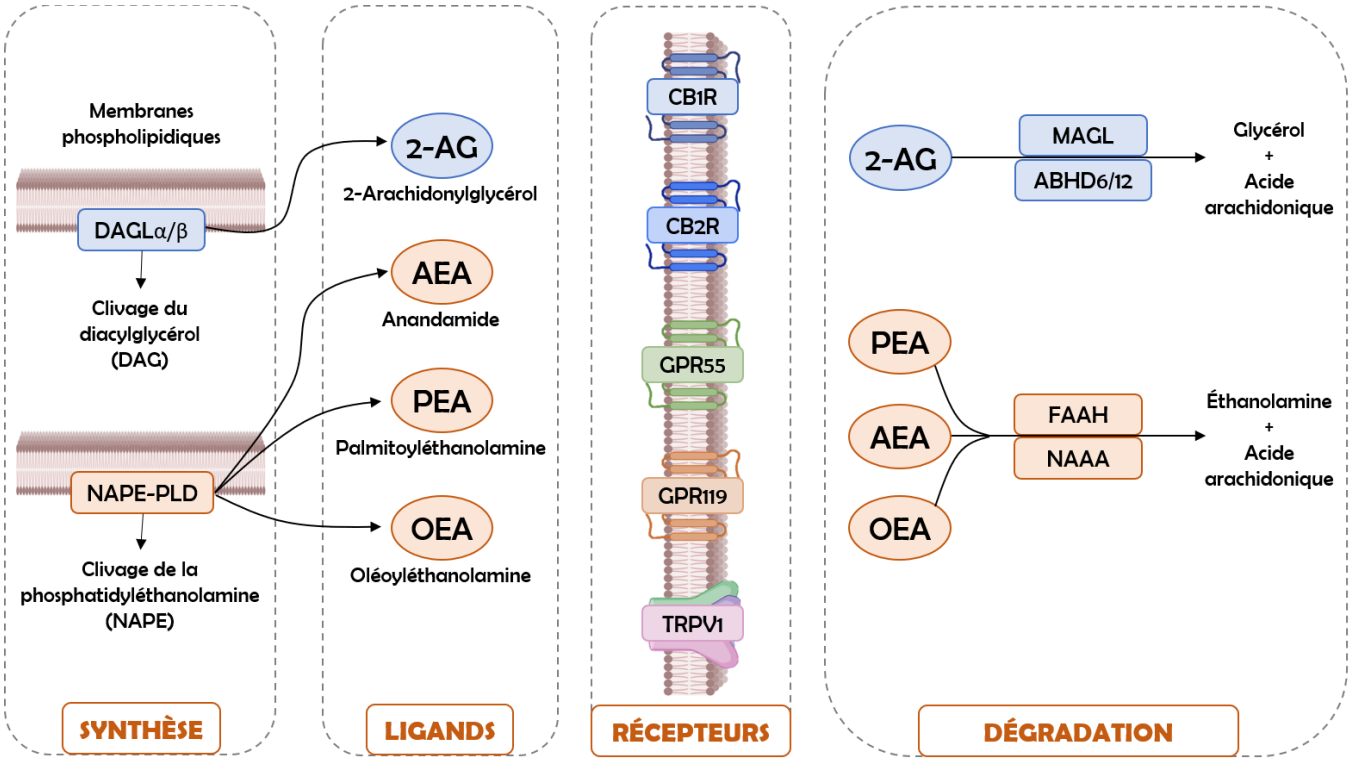


Figure 14 - Représentation simplifiée du système endocannabinoïde élargi *: Le schéma présente les principales étapes de synthèse, les ligands, les récepteurs et les voies de dégradation du système endocannabinoïde élargi. Le 2-AG est produit à partir des phospholipides membranaires via les DAGLα/β, tandis que l'AEA, la PEA et l'OEA sont générées via NAPE-PLD. Ces médiateurs agissent sur différents récepteurs, notamment CB1R, CB2R, GPR55, GPR119 et TRPV1. Leur dégradation repose principalement sur MAGL, ABHD6/12, FAAH et NAAA, conduisant à la formation de glycérol, d'éthanolamine et d'acides gras (Adapté de (Cani et al., 2014)).*

2. Métabolisme des endocannabinoïdes

a. Métabolisme du 2-AG et des 2-MAGs

i. Synthèse du 2-AG

Sur le plan structurel, le 2-AG est un monoacylglycérol dans lequel un résidu d'acide arachidonique est estérifié en position sn-2 du squelette glycérol. Sa biosynthèse repose principalement sur la transformation séquentielle de phospholipides membranaires contenant un résidu d'acide arachidonique en diacylglycérol, puis en 2-AG sous l'action des diacylglycérol lipases (DAGLα et DAGLβ). Plusieurs voies alternatives, impliquant d'autres phospholipides et différentes combinaisons de phospholipases et de phosphatases, ont toutefois été décrites (Iannotti and Di Marzo, 2025).

Dans la voie principale, le substrat initial est un phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP_2) portant un acide gras saturé ou mono-insaturé en position sn-1 et un résidu d'acide arachidonique en position sn-2. Dans de nombreuses cellules, cette voie est activée en aval de récepteurs couplés aux protéines Gq/11, qui stimulent les phospholipases C-β (PLC-β), ou de certains récepteurs tyrosine kinase, qui activent les PLC-γ (Berstein et al., 1992). La première étape est alors catalysée par une PLC-β, qui hydrolyse la liaison phosphodiester entre le glycérol et le groupement inositol phosphaté. Cette réaction libère d'une part l'inositol-1,4,5-triphosphate (IP3) et d'autre part un DAG. Sur le plan chimique, un glycérophospholipide est ainsi converti en un DAG neutre, qui conserve l'acide arachidonique estérifié en position sn-2. La seconde étape est assurée par les diacylglycérol lipases DAGLα et DAGLβ. Ces hydrolases sérine reconnaissent les DAG contenant de l'acide arachidonique et clivent de manière préférentielle la liaison ester en position sn-1 du glycérol, libérant un acide gras libre et générant un 2-monoacylglycérol dans lequel l'acide arachidonique reste estérifié en position sn-2, soit le 2-AG. Cette voie est considérée comme la principale source de 2-AG à partir des phospholipides membranaires (Murataeva et al., 2014) (**Figure *15***).

D'autres voies alternatives peuvent également contribuer à la production de 2-AG à partir de phospholipides riches en acide arachidonique. Dans un premier ensemble de voies, des phospholipides tels que la phosphatidylcholine ou le phosphatidate peuvent être convertis en DAG contenant de l'acide arachidonique, soit *via* l'action de certaines phospholipases C, soit par déphosphorylation du phosphatidate par des phosphatidate phosphatases. Ces DAG sont ensuite hydrolysés par les DAGLα/β, conduisant à la formation de 2-AG selon le mécanisme classique de clivage en position sn-1 (Ueda et al., 2013). Dans un second ensemble de voies, des phospholipases A1 ou A2 peuvent générer des lysophospholipides enrichis en acide arachidonique, qui peuvent ensuite être convertis en DAG par des activités phospholipasiques ou phosphatases, avant d'être transformés en 2-AG par les DAGL

Ces voies sont généralement considérées comme complémentaires et dépendantes du contexte cellulaire (Ueda et al., 2013) (**Figure *15***).

Enfin, des voies plus récemment décrites, regroupées sous le terme « AlterAGs », désignent un ensemble de voies candidates susceptibles de conduire à la formation de 2-AG, indépendamment d'une étape intermédiaire impliquant le DAG. Dans ces modèles, certaines enzymes telles que GDE3, ainsi que des phosphodiestérases ou des phospholipases comme ENPP6/7 ou certaines phosphatases de lipides phosphorylés (LPP1-3), peuvent hydrolyser la tête polaire de 2-arachidonoyl-lysophospholipides tout en conservant la liaison ester en position sn-2, conduisant directement à la formation de 2-AG. Ces voies émergentes restent toutefois encore mal caractérisées, et leur importance quantitative *in vivo* demeure largement inconnue (Briand-Mésange et al., 2024) (**Figure *15***).

ii. Dégradation du 2-AG

Le 2-AG est un médiateur lipidique de courte durée de vie, dont la concentration tissulaire est étroitement contrôlée par des voies de dégradation rapides. Son catabolisme repose principalement sur des hydrolases à sérine, auxquelles s'ajoutent des voies oxydatives générant plusieurs médiateurs lipidiques bioactifs. Sur le plan enzymatique, trois hydrolases sérine jouent un rôle central dans l'hydrolyse du 2-AG : la MAGL, l'ABHD6 et l'ABHD12, qui présentent des profils d'expression et des localisations subcellulaires distincts (Savinainen et al., 2012) (**Figure *15***).

L'enzyme prédominante de l'hydrolyse du 2-AG est la MAGL, qui clive la liaison ester entre le squelette glycérol et l'acide arachidonique, libérant de l'acide arachidonique libre et du glycérol. Dans le cerveau, elle assure environ 80 à 85% de l'hydrolyse du 2-AG et demeure la principale enzyme responsable de sa clairance dans la plupart des tissus. Les deux autres hydrolases sérine de la famille des α/β-hydrolases, ABHD6 et ABHD12, participent également à l'hydrolyse du 2-AG, mais de façon plus minoritaire et semblent contrôler des pools plus spécifiques de monoacylglycérols selon le type cellulaire (Blankman et al., 2007; Savinainen et al., 2012) (**Figure *15***). Au-delà de leur contribution quantitative, ces hydrolases n'agissent pas sur un même pool de 2-AG. Dans le cerveau, MAGL est majoritairement localisée dans les compartiments présynaptiques, ABHD6 est enrichie au niveau postsynaptique et ABHD12 est majoritairement exprimée par les cellules microgliales, ce qui permet une régulation spatiale fine de la signalisation endocannabinoïde (Savinainen et al., 2012).

En parallèle de ces voies hydrolytiques, le 2-AG peut être métabolisé par des voies oxydatives, en particulier par des enzymes impliquées dans le métabolisme des eicosanoïdes. En tant que dérivé de l'acide arachidonique, il constitue un substrat pour la cyclo-oxygénase-2 (COX-2), plusieurs lipoxygénases (LOX) et certains cytochromes P450, qui génèrent à partir de lui divers métabolites

oxygénés, tels que des prostaglandine-glycérol esters (PG-Gs) et d'autres dérivés apparentés (Kozak et al., 2002; Rouzer and Marnett, 2011) (**Figure 15**).

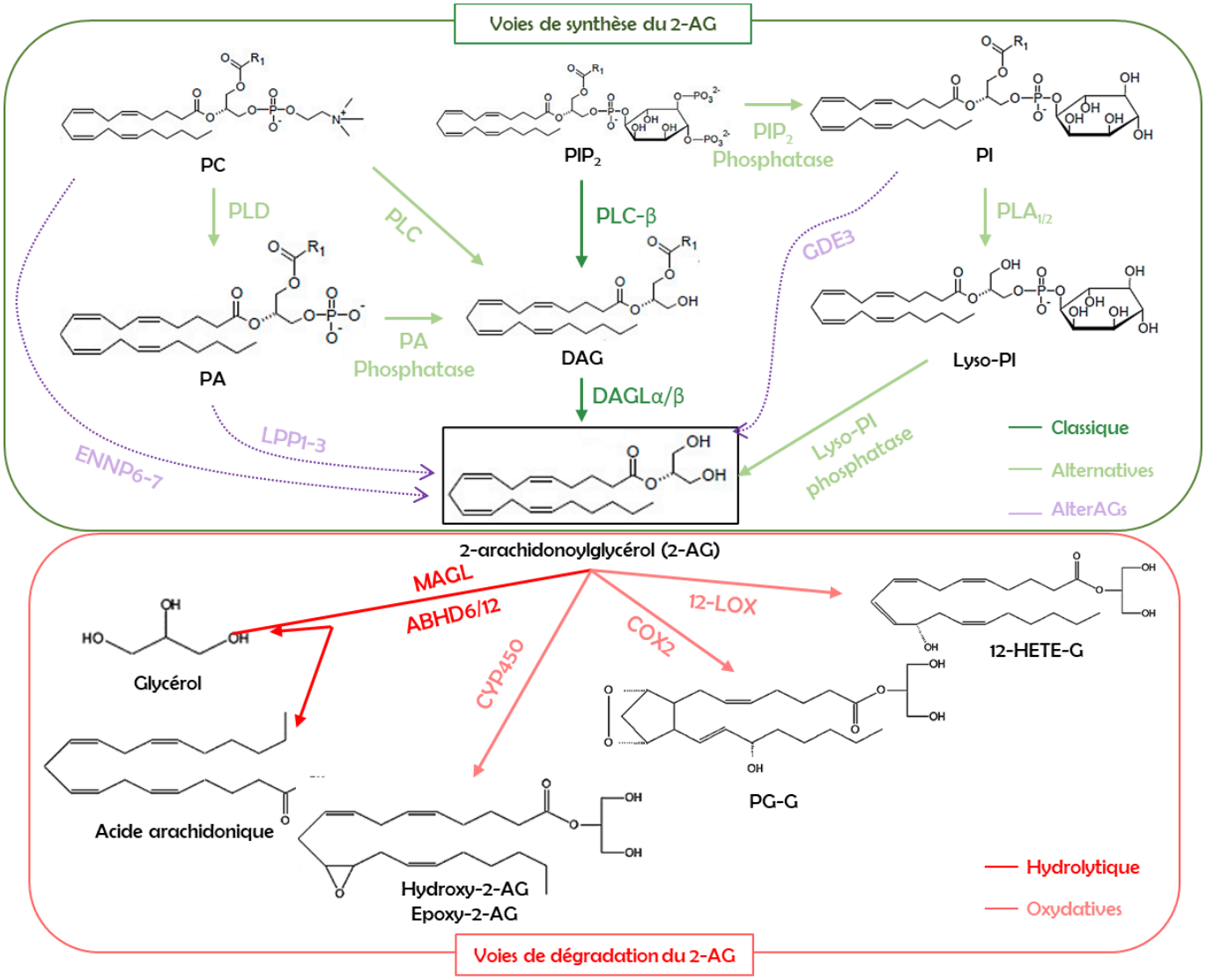


Figure 15 - Principales voies de synthèse et de dégradation du 2-arachidonoylglycérol (2-AG) *: La partie supérieure représente les voies de synthèse du 2-AG à partir de phospholipides membranaires riches en acide arachidonique : voie classique (en vert foncé) impliquant l'hydrolyse du PIP_2 par la phospholipase Cβ (PLC-β) en diacylglycérol (DAG), puis la conversion du DAG en 2-AG par les diacylglycérol lipases α/β (DAGLα/β), et voies alternatives (en vert clair) DAG-dépendantes à partir de la phosphatidylcholine (PC) et du phosphatidate (PA), via des phospholipases C et des phosphatidate phosphatases, ainsi que de lysophospholipides générés par les $PLA_{1/2}$, qui convergent ensuite vers le DAG puis vers le 2-AG par les DAGL. Les voies AlterAG (en violet) illustrent la production de 2-AG indépendante de l'intermédiaire DAG, à partir de 2-arachidonoyl-lysophospholipides dont la tête polaire est clivée par des enzymes telles que GDE3, ENPP6/7 ou LPP1-3. La partie inférieure décrit les principales voies de dégradation du 2-AG : hydrolyse majoritaire (en rouge foncé) par la monoacylglycérol lipase (MAGL) et, de façon minoritaire, par ABHD6 et ABHD12, conduisant à la formation de glycérol et d'acide arachidonique. La présence des voies d'oxydation (en rose) par la cyclo-oxygénase-2 (COX-2), les lipoxygénases (LOX) et certains cytochromes P450, générant des prostaglandine-glycérol esters (PG-G) et d'autres métabolites oxygénés dérivés du 2-AG.*

iii. Métabolisme des 2-MAGs

Si le 2-AG constitue le principal représentant des 2-MAGs, cette famille comprend également plusieurs autres espèces lipidiques générées à partir d'acides gras de longue chaîne, notamment le 2-oléoylglycérol (2-OG), le 2-palmitoylglycérol (2-PG) et le 2-linoléoylglycérol (2-LG), qui participent également à la signalisation lipidique de l'endocannabinoïdome (Iannotti and Di Marzo, 2025). Sur le plan biochimique, leur synthèse et leur dégradation reposent sur des voies largement similaires à celles décrites pour le 2-AG. Contrairement au 2-AG, la plupart des 2-MAGs non arachidonoylés présentent une faible affinité pour CB1R et CB2R. Leur activité biologique dépend principalement d'autres cibles moléculaires, illustrant la diversification fonctionnelle des monoacylglycérols au sein de l'endocannabinoïdome. Ainsi, le 2-OG agit comme agoniste du récepteur GPR119 et stimule la sécrétion intestinale de GLP-1, contribuant à la régulation de l'homéostasie glucidique et énergétique (Hansen et al., 2011). Des travaux récents suggèrent également un rôle du 2-PG, particulièrement abondant dans le lait maternel, dans le développement cérébral précoce en favorisant la synthèse de GABA par les astrocytes, soulignant la diversité fonctionnelle des 2-MAGs (Tsuboi et al., 2023).

b. Métabolisme des NAEs

i. Synthèse des NAEs

L'AEA appartient à la famille des NAEs qui comprend également le PEA et l'OEA. Les NAEs sont produites à partir de phospholipides membranaires, selon un ensemble de voies de biosynthèse communes qui convergent toutes vers des intermédiaires de type N-acyl-phosphatidyléthanolamines (NAPEs), mais qui diffèrent par la manière dont ces NAPEs sont ensuite transformées en NAEs libres.

Dans la voie principale, la première étape consiste en la formation de NAPE par transfert d'un AG, le plus souvent depuis la position sn-1 d'un phospholipide donneur, vers le groupement amine de la phosphatidyléthanolamine, sous l'action d'une N-acyltransférase Ca^{2+}-dépendante (NAT). Cette réaction conduit à une famille de NAPEs portant différents acides gras en position N-acyle, dont le N-arachidonoyl-PE, précurseur direct de l'AEA. La seconde étape est catalysée par la NAPE-phospholipase D, enzyme de la famille des métallo-β-lactamases qui hydrolyse la liaison phosphodiester de la NAPE pour libérer la N-acyléthanolamine correspondante et un acide phosphatidique. Dans ce cadre, l'AEA est produite en même temps que des quantités généralement plus importantes de NAEs saturées ou mono-insaturées comme le PEA et l'OEA, ce qui reflète la faible proportion relative d'acide arachidonique par rapport aux acides gras saturés/mono-insaturés dans les NAPEs (Okamoto et al., 2004) (**Figure *16***).

Des travaux sur des lignées cellulaires et des modèles murins dépourvus de NAPE-PLD ont montré que l'AEA peut encore être produite en l'absence de cette enzyme, suggérant l'existence de voies de

biosynthèse NAPE-PLD-indépendantes. L'une de ces voies alternatives implique un double processus de dés-acylation catalysé par l'α/β-hydrolase 4 (ABHD4) qui convertit d'abord la NAPE en lyso-NAPE puis en glycéro-phospho-NAE (GP-NAE). Dans cette voie, le précurseur immédiat de l'AEA est le glycéro-phospho-N-arachidonoylethanolamine (GP-NAE), qui est ensuite hydrolysé par la phosphodiestérase GDE1, pour libérer l'AEA libre (Simon and Cravatt, 2006) (**Figure *16***).

Une autre voie NAPE-PLD-indépendante fait intervenir une phospholipase C (NAPE-PLC) spécifique des NAPEs, qui clive directement la NAPE pour générer un intermédiaire de type phosphoanandamide (pAEA). Concrètement, la NAPE est hydrolysée par une NAPE-PLC en pAEA et diacylglycérol. Ensuite, la pAEA est déphosphorylée par des phosphatases cellulaires, telles que la protéine tyrosine phosphatase, non receptor type 22 (PTPN22) ou l'inositol-5-phosphatase (SHIP1) pour produire l'AEA. Ainsi, dans des macrophages stimulés par le lipopolysaccharide (LPS), la synthèse de l'AEA repose principalement sur la voie impliquant la NAPE-PLC suivie d'une phosphatase, tandis que la contribution de la NAPE-PLD apparaît secondaire dans ce contexte inflammatoire (Liu et al., 2006) (**Figure *16***).

Ces différentes voies de production, dont l'importance relative dépend du tissu et du contexte cellulaire, garantissent une production flexible d'AEA et des autres NAEs à partir du même pool de NAPEs, tout en offrant plusieurs points de régulation enzymatique potentiels.

ii. Dégradation des NAEs

La dégradation des NAEs repose principalement sur des voies hydrolytiques qui clivent la liaison amide pour générer l'AG libre correspondant et l'éthanolamine, auxquelles s'ajoutent des voies oxydatives conduisant à des métabolites dérivés de type eicosanoïdes. Sur le plan enzymatique, deux amidases jouent un rôle central dans l'hydrolyse des NAEs : la FAAH, enzyme neutre/alcaline largement distribuée, et la NAAA, enzyme lysosomale à pH acide plus spécifiquement exprimée dans certains tissus et cellules immunes (Ueda et al., 2013).

FAAH est généralement considérée comme l'enzyme prédominante du catabolisme des NAEs. Il s'agit d'une hydrolase sérine membranaire principalement localisée à la membrane du réticulum endoplasmique, où elle hydrolyse les NAEs après leur transport intracellulaire. Elle clive la liaison amide des NAEs en produisant un acide gras libre, par exemple l'acide arachidonique pour l'AEA, et de l'éthanolamine. Elle présente une forte activité vis-à-vis de l'AEA, mais hydrolyse également l'OEA, le PEA et d'autres amides d'acides gras, avec des efficacités catalytiques variables. Les études génétiques et pharmacologiques montrent que l'inactivation de FAAH entraîne une forte augmentation des concentrations tissulaires de NAEs, notamment de l'AEA, ainsi qu'une diminution marquée de son hydrolyse dans le système nerveux central. Ces observations confirment le rôle majeur de FAAH dans

le contrôle du tonus basal des NAEs, bien que des voies de dégradation mineures indépendantes de cette enzyme puissent persister (Cravatt et al., 2001) (**Figure *16***).

En parallèle, la NAAA constitue une amidase acide localisée majoritairement dans les compartiments endo-lysosomaux, dont le profil catalytique est préférentiellement adapté à l'hydrolyse de NAEs saturées, dont le PEA. Cette enzyme n'est pas apparentée structurellement à FAAH et présente un optimum d'activité autour de pH 4,5–5, en accord avec sa localisation lysosomale. Des études réalisées sur des macrophages et d'autres cellules du système immunitaire ont montré que FAAH et NAAA contribuent de manière complémentaire à la dégradation des NAEs, avec une spécialisation fonctionnelle de NAAA dans la clairance de PEA, notamment dans certains tissus périphériques tels que le côlon en contexte inflammatoire (Alhouayek et al., 2015; Sun et al., 2005). Ainsi, FAAH apparaît comme l'hydrolase principale des NAEs dans de nombreux compartiments alors que NAAA assure une dégradation complémentaire, plus spécifique de certaines NAEs et de pools intracellulaires distincts, en particulier dans les cellules du système immunitaire (Sun et al., 2005) (**Figure *16***).

Outre ces voies hydrolytiques, les NAEs, et en particulier l'AEA, peuvent également être métabolisées dans des voies oxydatives par des enzymes impliquées dans le métabolisme des eicosanoïdes, conduisant à la formation de dérivés oxygénés. La COX-2 peut oxyder l'AEA en un intermédiaire de type PGH_2-ethanolamide (PGH_2-EA), qui est ensuite converti par les mêmes synthases terminales que celles impliquées pour l'acide arachidonique en différentes prostaglandine-éthanolamides, telles que PGD_2-EA, PGE_2-EA ou $PGF_2\alpha$-EA. Parallèlement, l'AEA peut être prise en charge par plusieurs lipoxygénases (LOX), conduisant à la formation d'hydroxy-éicosatétraénoyl-éthanolamides (HETE-EA). Les isoformes 5-, 12- et 15-LOX génèrent préférentiellement des 5-, 12- et 15-HETE-EA, respectivement, qui conservent la chaîne arachidonate avec un groupement hydroxyle position-spécifique et un groupement éthanolamide en ω-terminus. Enfin, certains cytochromes P450 peuvent époxygéner l'AEA pour produire des époxyeicosatriénoyl-éthanolamides (EET-EA), par exemple le 5,6-EET-EA, ajoutant une autre famille de métabolites dérivés de l'AEA aux propriétés biologiques encore en cours de caractérisation (**Figure *16***).

Cependant, même si ces transformations ne représentent qu'une faible fraction de la clairance totale des NAEs par rapport aux voies hydrolytiques FAAH/NAAA, elles établissent un lien fonctionnel entre la signalisation endocannabinoïde/NAEs et la voie des eicosanoïdes. Ce lien revêt une importance particulière puisque les ECs dérivés de l'acide arachidonique et les eicosanoïdes proviennent d'un même réservoir membranaire d'acide arachidonique estérifié dans les

phospholipides, dont la mobilisation oriente le métabolisme vers différentes familles de médiateurs lipidiques. Ainsi, il existe une compétition pour la disponibilité de ce substrat, orientant le métabolisme lipidique soit vers la production de médiateurs de signalisation locaux (ECs), soit vers celle de médiateurs inflammatoires (eicosanoïdes). Cette répartition du flux métabolique contribue à la régulation de l'inflammation et de l'homéostasie tissulaire (Rouzer and Marnett, 2011).

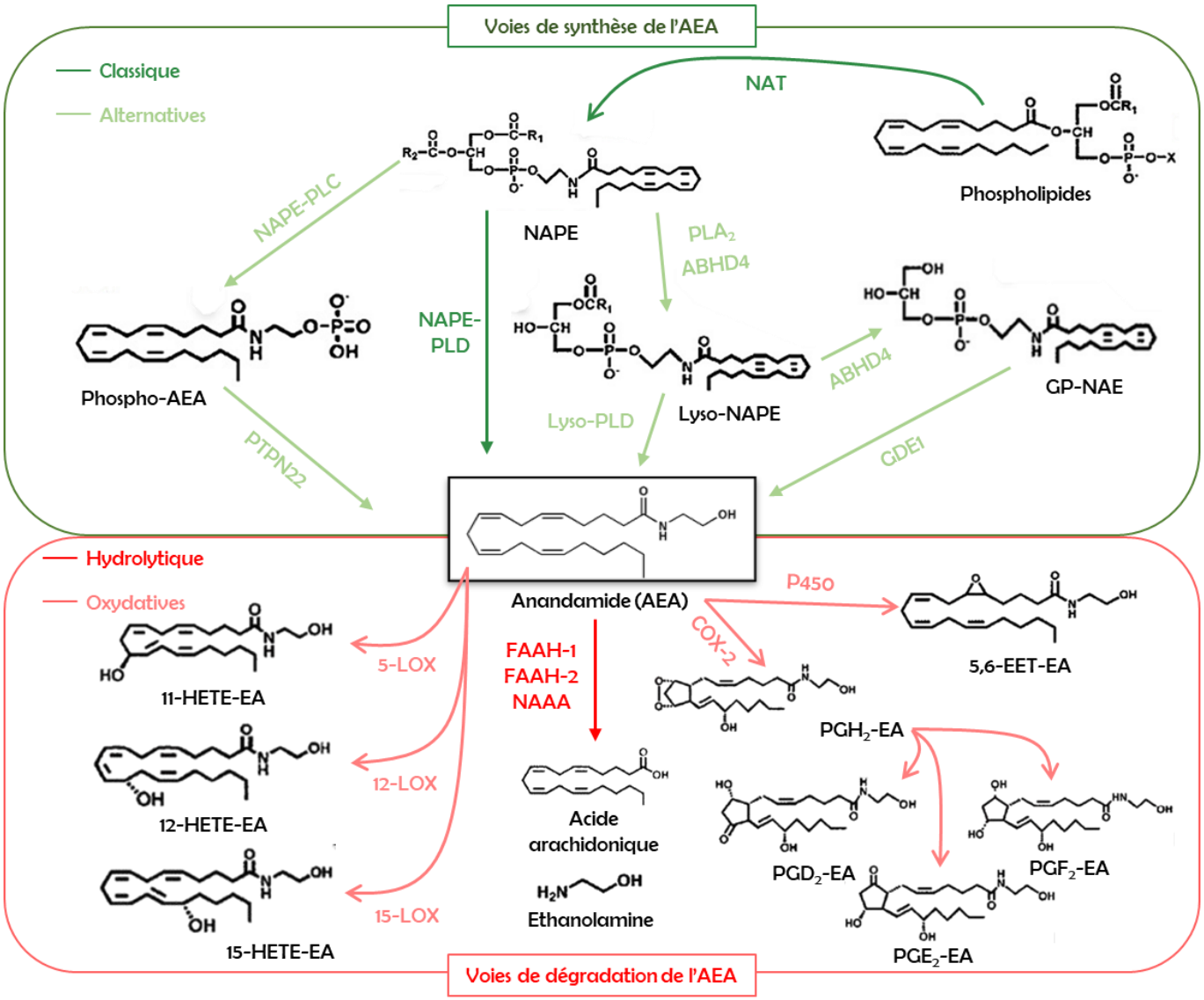


Figure 16 - Principales voies de synthèse et de dégradation de l'anandamide (AEA) *: La partie supérieure schématise la biosynthèse de l'AEA à partir de phospholipides riches en acide arachidonique. En vert foncé, la voie classique via une N-acyltransférase (NAT) formant des N-acyl-phosphatidyléthanolamines (NAPE), ensuite hydrolysées par la NAPE-PLD en AEA. En vert clair, les voies NAPE-PLD-indépendantes impliquant soit une NAPE-PLC suivie de la déphosphorylation de la phospho-AEA (PTPN22), soit la désacylation séquentielle des NAPE par PLA₂/ABHD4 en GP-NAE, puis l'hydrolyse de ces intermédiaires par GDE1 pour libérer l'AEA. La partie inférieure montre les principales voies de dégradation : En rouge foncé, l'hydrolyse de l'AEA par FAAH-1/2 et NAAA en acide arachidonique et éthanolamine. En rose, le métabolisme oxydatif par la COX-2 (formation de PGH_2-EA puis PGD_2-EA, PGE_2-EA, PGF_2-EA), les lipoxygénases 5-, 12- et 15-LOX (5-, 12- et 15-HETE-EA) et certains cytochromes P450 (tels que 5,6-EET-EA).*

c. Les récepteurs aux cannabinoïdes

i. Le récepteur cannabinoïde de type 1

Le CB1R est un récepteur couplé aux protéines G, à sept domaines transmembranaires, appartenant à la famille des récepteurs de type rhodopsine (Classe A). Sa structure a d'abord été résolue par cristallographie aux rayons X, ce qui a permis d'identifier les caractéristiques du site orthostérique et les principales conformations inactive et active du récepteur. Plus récemment, des structures obtenues par cryo-microscopie électronique ont apporté des informations complémentaires sur l'état actif de CB1R en complexe avec la protéine Gi, ainsi que sur ses interactions avec différents ligands et protéines effectrices, améliorant ainsi la compréhension des mécanismes d'activation et de signalisation biaisée du récepteur (Huang et al., 2020; Krishna Kumar et al., 2019; Shao et al., 2016).

Il se couple préférentiellement aux protéines Gi/o, *via* ses boucles intracellulaires, et constitue la principale cible des ECs : 2-AG et AEA, ainsi que de nombreux phytocannabinoïdes et agonistes synthétiques. Comme d'autres GPCR lipidiques, il fixe ses ligands au sein d'un site hydrophobe formé par le faisceau transmembranaire, ce qui permet la transmission du signal par un changement de conformation des boucles intracellulaires et l'activation des protéines G associées (Matsuda and Young, 1990).

Concernant la distribution tissulaire, CB1R est fortement exprimé dans le système nerveux central, où il est l'un des GPCR les plus abondants, principalement localisé sur les terminaisons présynaptiques des synapses GABAergiques et glutamatergiques (Herkenham et al., 1990). Cependant, de nombreuses études ont également mis en évidence une expression significative de CB1R dans les tissus métaboliques périphériques, notamment le TA blanc et brun, le foie, le muscle squelettique, le pancréas, le rein et le tractus gastro-intestinal, où il contribue à la régulation de l'homéostasie énergétique (Lu and Mackie, 2016).

Concernant la signalisation CB1R-dépendante, le récepteur inhibe l'adénylate cyclase *via* Gi/o et module plusieurs voies en aval, notamment les voies MAPK, PI3K/Akt, mTOR et les canaux ioniques voltage-dépendants, avec l'existence d'une signalisation biaisée selon les ligands. La signalisation biaisée se définit comme la capacité de différents ligands d'un même récepteur à stabiliser des conformations distinctes, conduisant au recrutement préférentiel de certaines voies de signalisation, comme les protéines Gi/o ou les β-arrestines (Howlett et al., 2010; Leo and Abood, 2021).

ii. Signalisation du récepteur CB1

Les CB1R possèdent une importante plasticité fonctionnelle, reposant sur leur aptitude à recruter différents effecteurs intracellulaires. Cette propriété découle principalement de leur couplage aux protéines G hétérotrimériques et aux β-arrestines, qui initient des mécanismes de transduction du signal distincts. Ces mécanismes conduisent ensuite à l'activation de voies intracellulaires majeures, telles que les voies MAPK, PI3K/Akt, ou encore la régulation de l'adénylate cyclase et des canaux ioniques.

1. Activation par l'intermédiaire des protéines G

Les CB1R agissent principalement par l'intermédiaire de protéines G hétérodimériques, en particulier de la famille $G_{i/o}$. Les structures cristallographiques révèlent que la fixation d'un agoniste sur CB1R engendre un changement de conformation qui déclenche l'activation de la protéine G associée (Krishna Kumar et al., 2019). La protéine G active se dissocie alors en deux entités fonctionnelles : la sous-unité $G_{\alpha i/o}$ liée au GTP et le dimère $G_{\beta\gamma}$. La sous-unité $G_{\alpha i/o}$ inhibe l'adénylate cyclase, ce qui réduit la production d'AMPc et l'activité de la protéine kinase A, tandis que le dimère $G_{\beta\gamma}$ module directement des canaux ioniques (canaux calciques de type N et P/Q, canaux potassiques de type Kir) et peut activer certaines cascades de kinases (par exemple PI3K, MAPK). Ces effets sont à l'origine de la modulation de la libération de neurotransmetteurs et de l'excitabilité neuronale dans le système nerveux central (Mahoney and Sunahara, 2016).

Bien que le couplage canonique soit $G_{i/o}$, le CB1R peut, selon le type cellulaire, l'environnement physiologique ou la nature du ligand, se coupler à d'autres classes de protéines G, notamment G_s (entraînant une augmentation d'AMPc) ou $G_{q/11}$ (activant la phospholipase C). Cette plasticité de couplage est à l'origine de la complexité de la signalisation de CB1R et contribue à la notion de signalisation biaisée (Busquets-Garcia et al., 2018).

Ainsi, la signalisation dépendante des protéines G constitue la voie classique des effets cellulaires de CB1R. Elle conditionne l'activation ou l'inhibition de multiples voies en aval, telles que les voies MAPK, PI3K/Akt, la régulation de l'adénylate cyclase et des canaux ioniques. Cette diversité permet à CB1R de moduler finement des fonctions physiologiques variées comme la neurotransmission, la sécrétion hormonale, la prolifération cellulaire, la réponse au stress, etc… (Howlett and Shim, 2013) (**Figure *17***).

a. Voie MAPK (Mitogen-activated protein kinases)

L'activation de CB1R module plusieurs cascades de MAP kinases, notamment les voies ERK1/2, JNK et p38, qui jouent un rôle important dans le contrôle de la survie, de la prolifération et de la différenciation cellulaire. L'activation de cette voie métabolique provient du couplage $G_{i/o}$ et de la

libération des sous-unités $G_{\beta\gamma}$, qui sont capables d'activer des GTPases de type Ras, puis la cascade de signalisation : Ras-MEK-ERK. Cela aboutit à la phosphorylation des kinases ERK1/2, pouvant migrer dans le noyau et moduler l'expression de nombreux gènes (Derkinderen et al., 2001) (**Figure *17***).

Plus récemment, il a été montré que les β-arrestines peuvent également organiser et soutenir l'activation des cascades MAPK, notamment ERK1/2, en agissant comme plateformes de signalisation indépendantes des protéines G (Leo and Abood, 2021).

b. Voie de l'adénylate cyclase

La régulation de l'adénylate cyclase, enzyme responsable de la synthèse d'AMPc, est également une voie majeure de signalisation de CB1R. En effet, son couplage aux protéines $G_{i/o}$ inhibe l'activité de l'adénylate cyclase, entraînant une diminution des niveaux intracellulaires de l'AMPc ainsi qu'une réduction de l'activité de la PKA (Childers and Deadwyler, 1996; Felder et al., 1993). Cette modulation de la voie AMPc/PKA influence de nombreux processus cellulaires. Elle participe notamment à la modulation de l'excitabilité neuronale et de la libération de neurotransmetteurs (Chevaleyre et al., 2006), à la modulation génique régulée par la phosphorylation dépendante de la PKA (Mayr and Montminy, 2001) et à la régulation du métabolisme énergétique dans de nombreux tissus périphériques (Rohbeck et al., 2021). Toutefois, selon le type cellulaire et le ligand considéré, CB1R peut aussi se coupler à des protéines Gs et augmenter les niveaux d'AMPc, illustrant ainsi la plasticité de cette voie de signalisation (Eldeeb et al., 2016) (**Figure *17***).

c. Voie PI3K/Akt

La voie PI3K/Akt occupe une place centrale dans la signalisation en aval de CB1R, conférant au SEC un rôle majeur dans la survie cellulaire, la croissance et le métabolisme énergétique. L'activation de CB1R entraîne le recrutement et l'activation d'une PI3K, conduisant à la production de PIP3 et au recrutement et à l'activation de la protéine Akt par phosphorylation. Une fois activé, Akt inhibe l'apoptose par l'intermédiaire de la caspase 9, la promotion de la croissance cellulaire par l'inhibition de TSC2 et l'activation de mTORC1, ainsi que la régulation du métabolisme glucidique et lipidique *via* la modulation de GSK3, FoxO1 et SREBP-1c (Js and W, 2016) (**Figure *17***).

Sur le plan métabolique, la signalisation CB1R–PI3K/Akt partage de nombreux points communs avec la voie activée par l'insuline : l'activation d'Akt par CB1R stimule le captage du glucose en favorisant la translocation de GLUT4 à la membrane plasmique, active la glycolyse *via* la 6-phosphofructo-2-kinase, stimule la synthèse de glycogène en inhibant GSK3 et favorise la lipogenèse *via* l'activation de SREBP-1c. Par conséquent, une altération de la voie PI3K/Akt joue un rôle central dans le mécanisme de résistance à l'insuline (Tan-Chen et al., 2020).

d. Voie des canaux ioniques

L'une des fonctions les plus caractéristiques de CB1R dans le système nerveux central est la modulation des canaux ioniques qui participe à la libération de neurotransmetteurs et à l'excitabilité neuronale. Lorsque le récepteur est couplé à $G_{i/o}$, il peut réguler les canaux de type N et P/Q, dont l'inhibition présynaptique entraîne une réduction du flux de Ca^{2+}. En effet, les ECs comme le 2-AG et l'AEA ou des agonistes synthétiques comme le WIN55,212-2 inhibent de façon dose-dépendante les courants calciques d'environ 50% dans les neurones sympathiques (Guo and Ikeda, 2004). De plus, l'activation de CB1R stimule certains canaux potassiques, ce qui favorise la sortie de K^+, l'hyperpolarisation membranaire et une diminution de l'excitabilité neuronale (Tadijan et al., 2022). Ces effets ioniques contribuent aux actions neuro-modulatrices des ECs sur les CB1R (**Figure 17**).

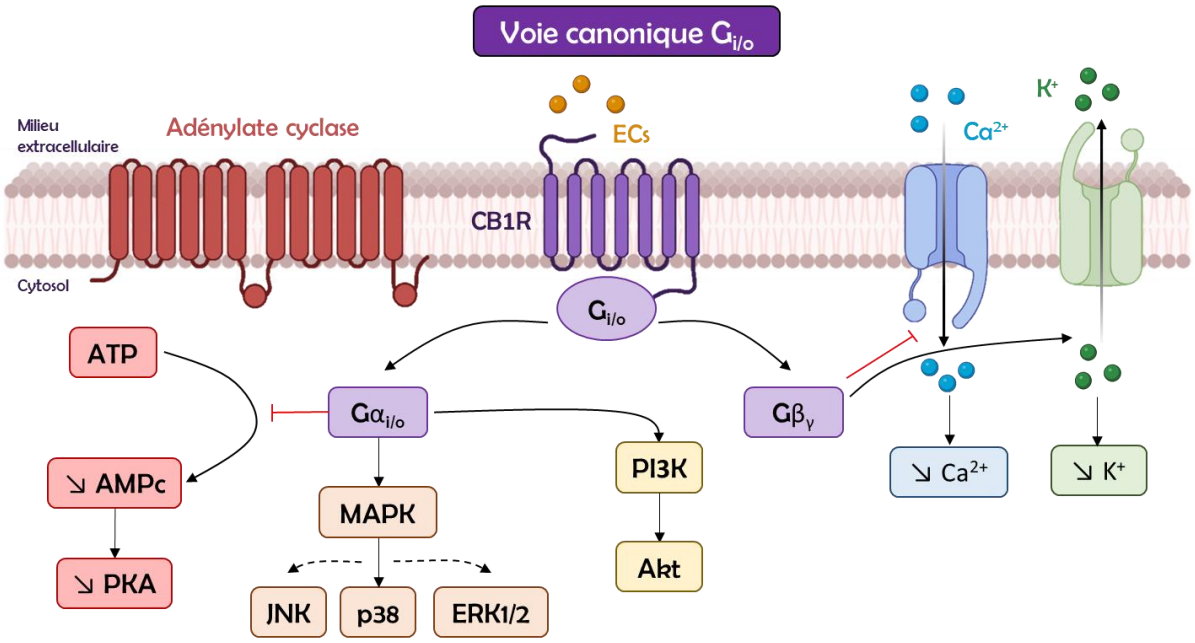


Figure 17 - Principales voies de signalisation activées par le CB1R *: La fixation d'un endocannabinoïde sur CB1R active principalement une protéine Gi/o, entraînant la dissociation des sous-unités Gαi/o et Gβγ. La sous-unité Gαi/o inhibe l'adénylate cyclase, ce qui diminue les niveaux d'AMPc et l'activité de PKA. De plus, elle participe à l'activation des voies MAPK et PI3K/Akt, tandis que Gβγ contribue à la modulation des canaux ioniques. Cette signalisation s'accompagne notamment d'une diminution de l'entrée de Ca^{2+} et d'une augmentation de la sortie de K^+.*

Enfin, CB1R peut former des homo- et des hétérodimères avec d'autres GPCR, notamment CB2R, ce qui modifie ses propriétés pharmacologiques, sa localisation membranaire et son couplage aux voies de signalisation en aval. Ces interactions récepteur-récepteur participent à la complexité fonctionnelle du système endocannabinoïde et peuvent contribuer à des réponses cellulaires distinctes selon le contexte tissulaire et le répertoire d'expression des partenaires (Pertwee et al., 2010).

2. Activation par l'intermédiaire des β-arrestines

En complément de la signalisation dépendante des protéines G, le CB1R peut recruter les β-arrestines, qui assurent à la fois la désensibilisation du récepteur, son trafic intracellulaire et l'activation de voies de signalisation indépendantes des protéines G.

En effet, la fixation d'un ligand sur CB1R entraîne la phosphorylation de résidus sérine et thréonine localisés principalement dans sa région C-terminale par des kinases spécifiques de type G protein-coupled receptor kinases (GRKs), créant des sites de liaison pour les β-arrestine1 et β-arrestine2. Le profil de phosphorylation de cette région C-terminale, ou *phosphorylation barcode*, influence la nature du recrutement des β-arrestines et oriente les réponses cellulaires vers la désensibilisation, l'internalisation ou certaines voies de signalisation spécifiques. La liaison d'une de ces β-arrestines réduit ou empêche l'interaction entre le GPCR et la protéine G, marquant la première étape de désensibilisation de CB1R. Les β-arrestines favorisent également l'internalisation de CB1R en permettant le recrutement de la machinerie d'endocytose dépendante de la clathrine, ce qui conduit à l'internalisation du récepteur dans les endosomes, puis à son recyclage ou à sa dégradation lysosomale selon la nature du ligand et la durée de stimulation. Les β-arrestines sont également reconnues comme des centres de signalisation capables de recruter et de réguler de nombreuses protéines intracellulaires (MAPK/ERK, Akt, JNK, Src, …), générant une seconde vague de signalisation indépendante des protéines G (Leo and Abood, 2021) (**Figure *18***).

La mutation des résidus phosphorylables de la région C-terminale de CB1R a montré que la signalisation β-arrestine implique des cascades distinctes de celles classiquement activées par les protéines $G_{i/o.}$ Cette signalisation contribue notamment à la modulation de l'expression de gènes impliqués dans les processus de survie et d'apoptose cellulaires. Dans ce modèle, le recrutement des β-arrestines et le trafic intracellulaire de CB1R influencent l'amplitude et la nature de la signalisation dépendante des β-arrestines, soulignant le lien étroit entre le devenir intracellulaire du récepteur et ses réponses cellulaires (Delgado-Peraza et al., 2016) (**Figure *18***).

Des études réalisées chez la souris suggèrent que les β-arrestines 1 et 2 exercent des fonctions distinctes dans la régulation de CB1R. La β-arrestine 1 semble contribuer à certains effets comportementaux induits par les cannabinoïdes ainsi qu'à la modulation de la sensibilité du récepteur, tandis que la β-arrestine 2 joue un rôle majeur dans la désensibilisation, l'apparition de la tolérance et la diminution de l'expression de CB1R après une exposition chronique au Δ^9-THC (Nguyen et al., 2012) (**Figure *18***).

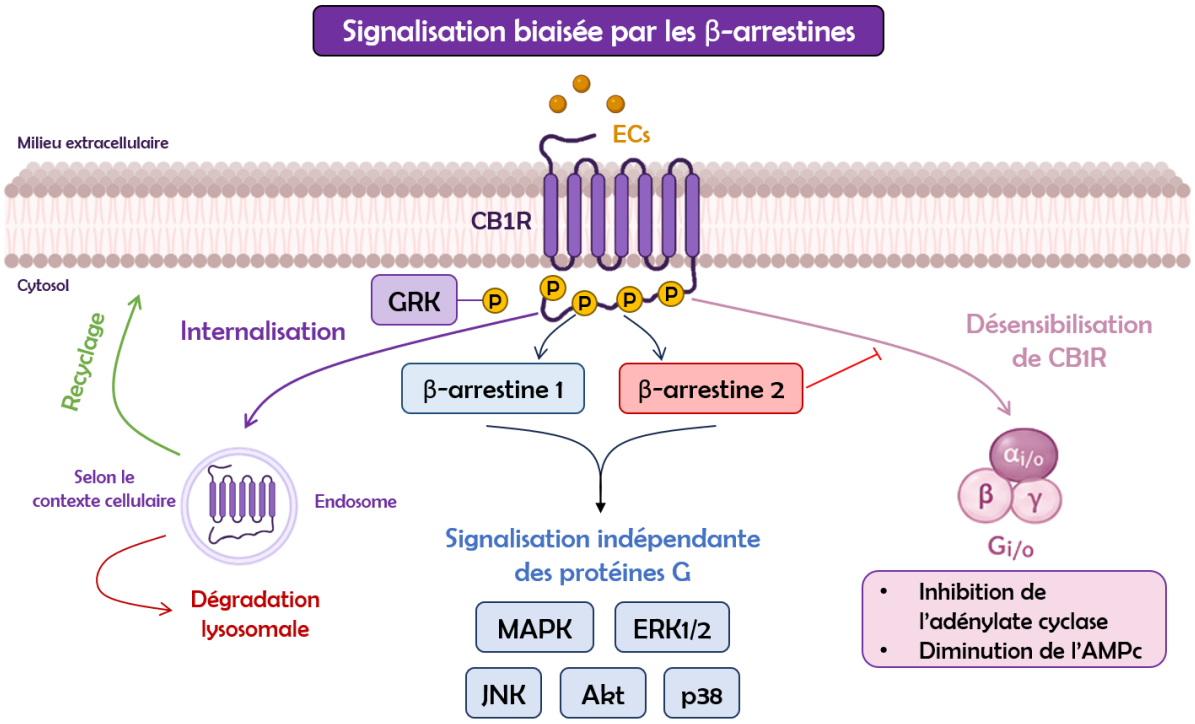


Figure 18 - Signalisation biaisée du CB1R par les β-arrestines *: La fixation d'un ligand sur CB1R induit la phosphorylation de sa région C-terminale par les GRKs, permettant le recrutement des β-arrestines 1 et 2. Celles-ci participent à la désensibilisation du récepteur par découplage de Gi/o, à son internalisation via la machinerie dépendante de la clathrine, puis à son tri vers le recyclage ou la dégradation lysosomale selon le contexte cellulaire. Les β-arrestines servent également de plateformes de signalisation indépendantes des protéines G en recrutant plusieurs effecteurs intracellulaires, notamment les voies MAPK/ERK, JNK, p38, Src et Akt.*

iii. Le récepteur cannabinoïde de type 2

Le CB2R est, comme CB1R, un récepteur couplé aux protéines G de classe A à sept domaines transmembranaires, partageant environ 44 % d'homologie de séquence avec CB1R et se couplant majoritairement aux protéines $G_{i/o}$. Initialement décrit comme un récepteur périphérique ou immunitaire, CB2R a été identifié en premier lieu dans les lignées de cellules B humaines et dans divers compartiments du système immunitaire. En effet, il est exprimé par de nombreuses sous-populations de cellules hématopoïétiques, notamment les lymphocytes, les macrophages, les monocytes, les neutrophiles, les cellules dendritiques et certaines cellules stromales. Comme CB1R, CB2R est activé par les principaux ECs : 2-AG et AEA, ainsi que par plusieurs phytocannabinoïdes et dérivés synthétiques (Huang et al., 2020; Malfitano et al., 2014).

Sur le plan de la signalisation intracellulaire, l'activation de CB2R entraîne principalement une inhibition de l'adénylate cyclase *via* les protéines $G_{i/o}$, conduisant à une diminution des concentrations intracellulaires d'AMPc et de l'activité de la PKA. Elle module également plusieurs voies de signalisation intracellulaire, notamment les cascades MAPK (ERK1/2, p38 et JNK) et PI3K/Akt, impliquées dans la survie, la prolifération, la migration et la différenciation des cellules immunitaires. Contrairement à CB1R, CB2R participe peu à la modulation directe de la transmission synaptique neuronale. Son

expression est principalement observée dans les cellules du système immunitaire et les tissus périphériques, tandis que dans le système nerveux central, elle demeure faible en conditions physiologiques mais peut être fortement augmentée dans des contextes de neuro-inflammation ou de lésion tissulaire. Cette distribution explique l'absence d'effets psychotropes comparables à ceux induits par l'activation de CB1R et contribue à faire de ce récepteur une cible thérapeutique particulièrement attractive pour la modulation de l'inflammation, de la douleur et de certaines pathologies immunitaires. Par ailleurs, l'activation de CB2R ne se limite pas au couplage à $G_{i/o}$, mais implique également le recrutement de β-arrestines, l'activation de kinases telles que Src et des cascades MAPK, ainsi que la modulation indirecte de voies de signalisation inflammatoires, notamment NF-κB, et de petites GTPases (Cabral and Griffin-Thomas, 2009; Malfitano et al., 2014).

Métaboliquement, l'expression de CB2R a été mise en évidence dans plusieurs tissus impliqués dans l'homéostasie énergétique, notamment le TA et le foie. Dans le TA de modèles murins obèses (souris ob/ob ou soumises à un régime riche en graisses), l'expression de *Cnr2* est augmentée au sein de la FSV, principalement dans les macrophages infiltrant le tissu, parallèlement à l'élévation de marqueurs inflammatoires tels qu'*Emr1*, *Tnf* et *Ccl2*. Certaines études consacrées au rôle métabolique de CB2R ont abouti à des résultats parfois contradictoires. En effet, il a été montré que l'activation pharmacologique de CB2R par l'agoniste sélectif JWH-133 pouvait aggraver l'inflammation et certaines altérations métaboliques du TA et du foie au cours de l'obésité, tandis que l'invalidation génétique ou le blocage pharmacologique de CB2R limitait l'infiltration macrophagique et l'expression de cytokines pro-inflammatoires (Deveaux et al., 2009). Cependant, d'autres travaux ont rapporté des effets anti-inflammatoires ou métaboliquement favorables de l'activation de CB2R, notamment *via* la modulation de la polarisation macrophagique dans le TA. En limitant l'accumulation de macrophages pro-inflammatoires de type M1 et en favorisant un profil plus anti-inflammatoire, l'activation de CB2R peut contribuer à réduire l'inflammation du TA, à améliorer la sensibilité à l'insuline et, dans certains modèles, à limiter les altérations du remodelage adipeux associées à l'obésité (Wu et al., 2020).

Ces observations suggèrent que les conséquences fonctionnelles de l'activation de CB2R dépendent fortement du contexte cellulaire et physiopathologique. Dans leur ensemble, ces travaux suggèrent que CB2R constitue un modulateur important de la réponse immuno-inflammatoire dans les tissus métaboliques. Toutefois, ses effets physiologiques et physiopathologiques semblent dépendre fortement du type cellulaire concerné, du contexte inflammatoire, du stade de la maladie et des modèles expérimentaux utilisés.

iv. Récepteurs non canoniques du système endocannabinoïde

Outre CB1R et CB2R, plusieurs ECs et composés apparentés de l'endocannabinoïdome peuvent interagir avec des cibles moléculaires non canoniques, incluant des canaux ioniques, des récepteurs nucléaires et certains GPCR non cannabinoïdes.

3. Les canaux ioniques TRP (Transient Receptor Potential)

Le canal TRPV1, initialement identifié comme le récepteur de la capsaïcine, est aujourd'hui reconnu comme une cible importante de l'AEA, qui est parfois qualifiée "d'endovanilloïde". L'AEA se comporte comme un agoniste partiel de TRPV1, avec une efficacité qui dépend fortement du contexte (état de phosphorylation, pH, température), ce qui lui permet de moduler la nociception, l'inflammation et certaines réponses cardiovasculaires par des mécanismes distincts de ceux médiés par CB1R. Cette plasticité est renforcée par des régulations réciproques entre les deux récepteurs : l'activation de CB1R tend globalement à activer des voies inhibitrices de type $G_{i/o}$, alors que TRPV1 est associé à des voies calciques excitatrices, et leur stimulation peut conduire à des phénomènes de désensibilisation croisée ou de modulation mutuelle selon le niveau d'expression, l'état de phosphorylation et le contexte tissulaire. D'autres canaux TRP, tels que TRPA1 ou TRPV4, peuvent également être modulés par des dérivés d'ECs, mais leur rôle spécifique en tant que "récepteurs aux cannabinoïdes" reste moins bien établi que celui de TRPV1 (Ross, 2003; Starowicz et al., 2007).

4. Les récepteurs nucléaires PPAR : PPARα et PPARγ

Les récepteurs nucléaires PPAR constituent un lien direct entre les ECs et la régulation transcriptionnelle de gènes impliqués dans le métabolisme et l'inflammation. PPARα constitue un régulateur majeur du métabolisme lipidique et un senseur de la disponibilité en acides gras dans plusieurs tissus, notamment le foie, le muscle squelettique et l'intestin. Parmi les médiateurs de l'endocannabinoïdome, l'OEA et le PEA sont aujourd'hui reconnues comme des ligands endogènes de ce récepteur nucléaire. L'activation de PPARα par l'OEA induit l'expression de gènes impliqués dans le transport, la lipolyse et l'oxydation des acides gras, favorisant leur utilisation énergétique. Dans l'intestin, l'OEA participe également au contrôle de la prise alimentaire et de la satiété. Ces mécanismes se traduisent par des effets bénéfiques sur le métabolisme lipidique et le développement de l'obésité, tandis que les données disponibles chez l'Homme suggèrent également un rôle dans la régulation de l'homéostasie énergétique (Fu et al., 2003; Rodríguez de Fonseca et al., 2001; Tutunchi et al., 2020). De son côté, le PEA exerce principalement des effets analgésiques et anti-inflammatoires *via* l'activation du récepteur nucléaire PPARα. En accord avec ce mécanisme, l'inhibition de NAAA, principale enzyme lysosomale impliquée dans son hydrolyse, augmente les concentrations tissulaires de PEA et engendre des effets anti-inflammatoires comparables, principalement attribués à

l'activation de PPARα plutôt qu'à une stimulation directe de CB1R ou CB2R (Lo Verme et al., 2005; Solorzano et al., 2009).

Au-delà de ces interactions directes, le métabolisme des ECs majeurs joue un rôle clé dans l'activation des PPARs. L'hydrolyse de l'AEA par la FAAH et du 2-AG par la MAGL libère de l'acide arachidonique, dont la métabolisation en divers eicosanoïdes oxydés fournit des ligands endogènes puissants pour ces récepteurs nucléaires, créant ainsi une passerelle métabolique entre la dégradation des ECs et le contrôle transcriptionnel (O'Sullivan, 2016).

PPARγ, fortement exprimé dans le TA et les macrophages, peut ainsi être activé à la fois par l'AEA, le 2-AG (dans certaines conditions), mais aussi de manière indirecte par ces dérivés oxydés de l'acide arachidonique issus de leur dégradation. Son activation contribue à la différenciation adipocytaire, à l'amélioration de la sensibilité à l'insuline et à la modulation des réponses inflammatoires. Les interactions fonctionnelles entre CB1R, PPARγ et plusieurs NAEs/2-MAGs suggèrent ainsi un couplage entre des mécanismes de signalisation rapide dépendants des GPCRs et une reprogrammation transcriptionnelle plus durable, particulièrement dans les situations d'excès nutritionnel chronique (O'Sullivan and Kendall, 2010; Rakotoarivelo et al., 2021).

5. Les récepteurs orphelins couplés aux protéines G : GPR55, GPR119 et GPR18

Plusieurs GPCR initialement orphelins sont aujourd'hui considérés comme des composantes élargies de l'endocannabinoïdome. En effet, ces récepteurs peuvent répondre à des ECs ou des ligands lipidiques proches.

GPR119 est probablement l'un des récepteurs de l'endocannabinoïdome les plus étroitement associés à la régulation du métabolisme énergétique. Exprimé principalement dans les cellules entéroendocrines ainsi que dans les cellules β pancréatiques, il est activé par plusieurs médiateurs lipidiques, notamment l'OEA et le 2-OG. Les concentrations intestinales d'OEA et de 2-OG augmentent après l'ingestion d'un repas riche en lipides, suggérant que ces médiateurs participent à la signalisation post-prandiale. L'activation de GPR119 stimule la production d'AMPc et favorise la sécrétion d'incrétines, notamment le GLP-1 et le GIP, ainsi que la sécrétion d'insuline de manière glucose-dépendante, contribuant ainsi au contrôle de l'homéostasie glucidique après le repas (Zhao et al., 2021).

GPR55 semble être activé par certains ligands lipidiques comme le 2-arachidonoyl-lysophosphatidylinositol même si la nature exacte de ses ligands endogènes demeure débattue (Oka et al., 2007). Ce récepteur est exprimé dans plusieurs tissus métaboliques incluant l'hypothalamus, le foie, le muscle squelettique, le pancréas et le TA (Liu et al., 2015). Des études chez la souris invalidée

pour *Gpr55* montrent une augmentation de l'adiposité et de la résistance à l'insuline, sans que la prise alimentaire soit modifiée. Ces altérations métaboliques ont été associées à des modifications de l'activité physique et du métabolisme énergétique global (Meadows et al., 2016). D'autres travaux suggèrent un rôle de GPR55 dans le stockage lipidique des adipocytes, la motricité intestinale et la sécrétion d'insuline, positionnant ce récepteur comme un modulateur plus global de l'homéostasie énergétique (Simcocks et al., 2014).

GPR18, proposé comme récepteur de la N-arachidonylglycine, semble plutôt impliqué dans la migration cellulaire, certaines réponses immunes et la nociception. Son lien direct avec la régulation du métabolisme énergétique est moins solidement établi que pour GPR119 ou GPR55, mais il s'inscrit dans un ensemble plus large de GPCR sensibles à des dérivés de l'AEA et participant à la modulation de l'inflammation et de la douleur (Kohno et al., 2006).

3. Régulation de l'homéostasie énergétique par le système endocannabinoïde

Le SEC intervient dans le contrôle de l'homéostasie énergétique, en modulant la prise alimentaire, la dépense énergétique et le métabolisme glucido-lipidique. Historiquement, l'étude du SEC s'est focalisée sur le rôle central des CB1R dans la stimulation de l'appétit et la prise de poids, mais il est maintenant connu que ces récepteurs sont également exprimés dans de nombreux tissus métaboliques périphériques (foie, pancréas, muscle, rein et TA). Dans ces organes, le SEC contribue à la régulation de la lipogenèse, de la lipolyse, de la sensibilité à l'insuline et de la néoglucogenèse. Dans le contexte de l'obésité et du syndrome métabolique, une hyperactivation du SEC contribue au développement d'un phénotype de stockage énergétique caractérisé par une augmentation de l'accumulation lipidique, une diminution de la dépense énergétique et une altération de la sensibilité à l'insuline (Dörnyei et al., 2023).

a. Rôle central du système endocannabinoïde dans le contrôle de la prise alimentaire et de l'homéostasie énergétique

i. Modulation rétrograde et intégration des signaux homéostasiques hypothalamiques

Le CB1R est un des récepteurs aux protéines G les plus abondants dans le système nerveux central et se retrouve dans les régions clés de la régulation de la prise alimentaire et du contrôle du poids corporel, comme l'hypothalamus et plusieurs structures du système mésolimbique (circuit de récompense). Dans ces régions, CB1R est principalement localisé sur les terminaisons présynaptiques GABAergiques et glutamatergiques, où il module de manière rétrograde la libération de

neurotransmetteurs et ajuste l'équilibre entre signaux orexigènes et anorexigènes (D'Addario et al., 2014).

Dans l'hypothalamus, il est connu que l'activité du SEC est finement régulée par l'état nutritionnel. Ainsi, après un jeûne de courte durée, les concentrations d'ECs majeurs augmentent de manière transitoire, tandis qu'elles diminuent après la réalimentation. Ces variations sont inversement corrélées aux niveaux circulants de leptine (Di Marzo et al., 2001). En effet, l'administration de la leptine réduit les taux d'ECs hypothalamiques, alors que les rongeurs obèses dépourvus de leptine (ob/ob) ou de son récepteur (db/db) présentent des niveaux d'ECs significativement élevés suggérant que la leptine réprime le tonus endocannabinoïde (Di Marzo et al., 2001). De plus, l'injection d'agonistes CB1R dans l'hypothalamus augmente la prise alimentaire (Jamshidi and Taylor, 2001). À l'inverse, l'injection d'un agoniste inverse de CB1R s'oppose aux effets orexigènes induits par les cannabinoïdes, bien que son administration seule n'affecte pas nécessairement la prise alimentaire basale (Verty et al., 2005). Enfin, une étude menée chez des souris invalidées pour CB1R a mis en évidence une hypophagie relative et une résistance au développement de l'obésité induite par un régime riche en graisses, soulignant le rôle orexigène du SEC central (Ravinet Trillou et al., 2004).

Le SEC hypothalamique interagit avec les principaux circuits neuropeptidiques régulant l'appétit. En effet, les ECs modulent l'activité des neurones NPY/AgRP (pro-orexigène) et POMC/α-MSH (pro-anorexigène) du noyau arqué (Cota et al., 2003). Ils amplifient l'action de facteurs orexigènes, tels que la ghréline et l'orexine, tout en renforçant un effet inhibiteur sur certains systèmes anorexigènes comme les voies de la corticotropine et les voies mélanocortinergiques. Comme dit précédemment, la leptine diminue le taux d'ECs dans l'hypothalamus (Di Marzo et al., 2001), tandis que la ghréline est impliquée dans le recrutement du SEC central comme relais de ses effets orexigènes, notamment *via* l'activation de CB1R et la production locale d'ECs dans les circuits hypothalamiques chez les modèles animaux (Edwards et al., 2025; Kola et al., 2005) (**Figure *19***).

ii. Régulation du contrôle hédonique et du circuit de la récompense

Au-delà de son rôle dans le contrôle homéostasique de la prise alimentaire, le SEC participe également au plaisir alimentaire, *via* son action dans les circuits de la récompense (Valverde, 2005). Dans le système mésolimbique, l'action des CB1R sur les afférences GABAergiques et glutamatergiques favorise la libération de dopamine, ce qui renforce les comportements motivant les récompenses alimentaires (Tanda and Goldberg, 2003). Chez le rongeur, la stimulation pharmacologique du SEC augmente la consommation de nourriture attrayante (Kirkham, 2005), tandis que son blocage réduit les comportements de recherche de récompense alimentaire (Arnone et al., 1997). Ces données suggèrent l'idée que le SEC ne se contente pas de réguler le besoin énergétique, mais également la

composante addictive de l'alimentation attrayante, contribuant à la surconsommation d'aliments riches en sucres et en lipides (**Figure *19***).

iii. Intégration sensorielle : Olfaction et goût

En plus des circuits hypothalamiques et mésolimbiques, le SEC module des étapes très précoces de la prise alimentaire en influençant la détection orosensorielle, en particulier au niveau de l'olfaction et du goût. Chez la souris, il a été montré que l'état de jeûne augmente les niveaux d'ECs et l'activité de CB1R dans le bulbe olfactif, ce qui accroît la sensibilité aux odeurs alimentaires (Soria-Gómez et al., 2014). En effet, l'activation de CB1R renforce la détection d'odeurs et la prise alimentaire, tandis que son blocage pharmacologique ou son invalidation génétique abolit cette facilitation et réduit l'hyperphagie induite par le jeûne (Soria-Gómez et al., 2014). Ces travaux indiquent que le SEC augmente la probabilité d'initier un comportement alimentaire lorsque des signaux odorants de nourriture sont déjà présents.

Au niveau gustatif, plusieurs études montrent que CB1R participe à la détection des nutriments alimentaires. Chez le rongeur, il a été montré que l'administration de 2-AG ou d'AEA augmente les réponses comportementales à la nourriture sucrée par l'intermédiaire de CB1R, exprimé dans les cellules gustatives des papilles linguales (Yoshida et al., 2010). Plus précisément, CB1R est exprimé dans les cellules gustatives sensibles au goût sucré et son activation par les ECs augmente sélectivement la réponse aux stimuli sucrés, favorisant ainsi la préférence et la consommation d'aliments riches en glucides (Yoshida et al., 2010). Ces données suggèrent que le SEC intervient directement dans la perception orosensorielle des glucides, en modulant la valeur hédonique du goût sucré avant même l'intégration des signaux métaboliques post-ingestifs. Concernant les nutriments lipidiques, il a été montré que l'absence de CB1R altère la détection oro-sensorielle des AGs alimentaires, soutenant directement le lien entre ce récepteur et la perception gustative des lipides (Brissard et al., 2018). Par ailleurs, des expériences d'alimentation fictive (ingestion avec drainage gastrique empêchant l'arrivée des nutriments dans l'intestin) ont mis en évidence qu'une simple stimulation oro-sensorielle par des aliments riches en graisses suffit à augmenter les niveaux d'ECs dans le jéjunum. Ce mécanisme renforce la préférence pour les lipides et la poursuite de leur ingestion par activation de CB1R intestinal (DiPatrizio et al., 2013). Dans un environnement obésogène, cette capacité du SEC à augmenter l'appétence sensorielle des aliments gras et sucrés peut ainsi contribuer à la surconsommation d'aliments hautement palatables indépendamment des besoins énergétiques immédiats (**Figure *19***).

iv. Contrôle central du métabolisme périphérique *via* le système autonome

Enfin, plusieurs travaux ont mis en évidence que la signalisation du SEC régule le métabolisme périphérique *via* des voies autonomes et neuroendocrines. Dans un modèle murin, l'activation sélective de CB1R dans le cerveau par les agonistes WIN55,212-2 ou ACEA altère l'action de l'insuline au niveau du foie et du TA en favorisant la production hépatique de glucose, diminuant la suppression de la lipolyse adipocytaire et induisant une insulinorésistance systémique (O'Hare et al., 2011). En revanche, l'utilisation d'un antagoniste central de CB1R inverse ces altérations dans un contexte de suralimentation riche en graisses (O'Hare et al., 2011) (**Figure 19**).

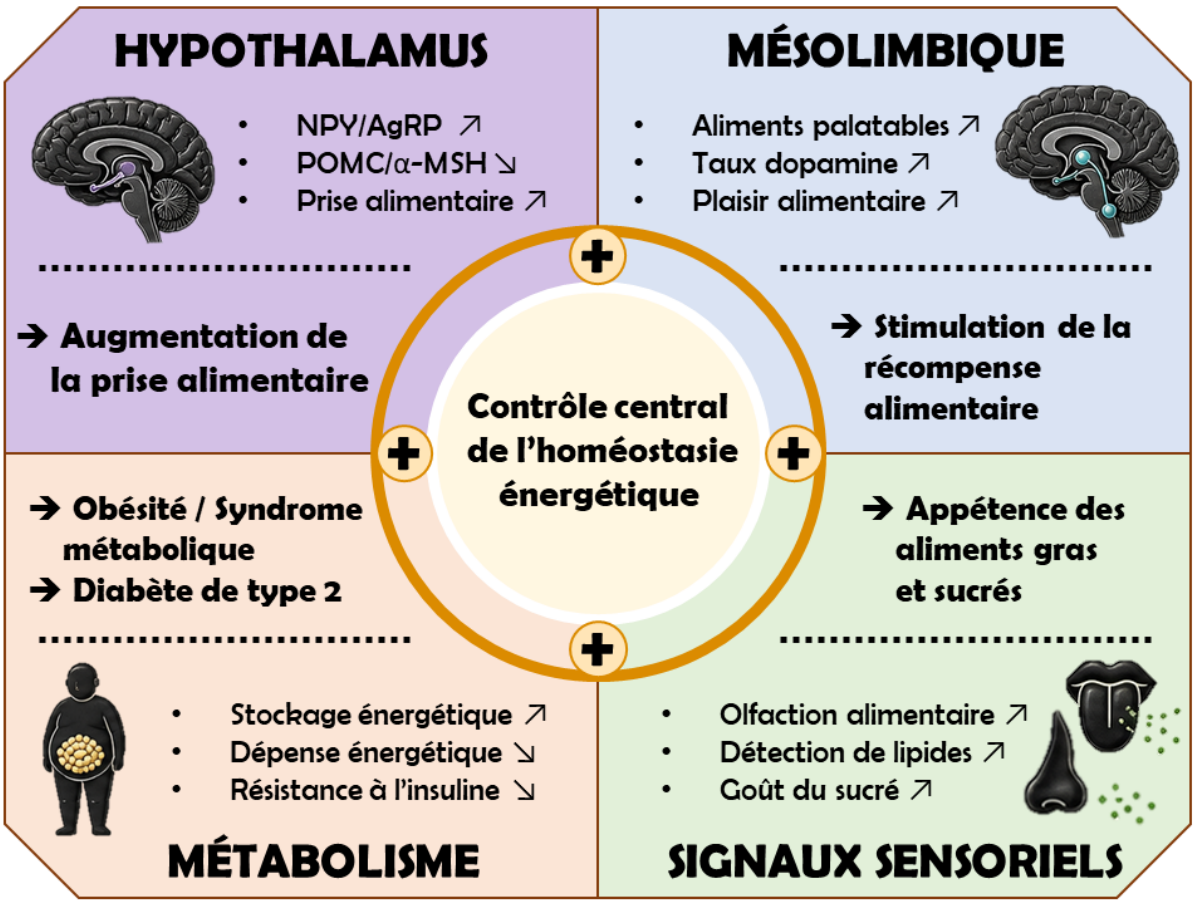


Figure 19 - Rôle central du système endocannabinoïde dans le contrôle de l'homéostasie énergétique *: Le SEC central module la prise alimentaire et l'homéostasie énergétique en agissant sur plusieurs niveaux complémentaires. Dans l'hypothalamus, il favorise les signaux orexigènes (NPY/AgRP) et freine les signaux anorexigènes (POMC/α-MSH), ce qui stimule la prise alimentaire. Dans le système mésolimbique, il renforce la valeur hédonique des aliments, augmente la signalisation dopaminergique et favorise la recherche d'aliments palatables. Le SEC agit aussi sur les signaux sensoriels, en augmentant l'olfaction alimentaire ainsi que la détection gustative du sucré et des lipides, ce qui accroît l'appétence pour les aliments riches en sucres et en graisses. Enfin, via des relais neuroendocrines et autonomes, il contribue à un phénotype métabolique orienté vers le stockage énergétique, associé à une diminution de la dépense énergétique et à une altération de la sensibilité à l'insuline.*

L'ensemble de ces observations, associées aux rôles du SEC dans l'homéostasie, le plaisir et les dimensions oro-sensorielles de la prise alimentaire, a fortement soutenu le développement d'antagonistes pharmacologiques de CB1R ciblant à la fois les compartiments centraux et périphériques.

b. Ciblage thérapeutique du système endocannabinoïde dans le contrôle de l'homéostasie énergétique

i. Les composés de première génération : focus sur le rimonabant

1. *Origine, concept et validation préclinique*

Les premières approches pharmacologiques visant à exploiter le SEC dans l'homéostasie énergétique se sont concentrées sur le développement d'antagonistes / agonistes inverses pouvant cibler simultanément les CB1R centraux et périphériques. La molécule la plus emblématique est le rimonabant (SR141716), commercialisé sous le nom d'Acomplia en 2006. Il s'agit du premier bloqueur sélectif de CB1R, rapidement identifié comme un agoniste inverse, c'est-à-dire capable de réduire l'activité constitutive du récepteur (Rinaldi-Carmona et al., 1994). En préclinique, le rimonabant diminue la prise alimentaire, la prise de poids et améliore plusieurs paramètres métaboliques comme l'intolérance au glucose, les dyslipidémies et dérégulations hormonales au cours de l'obésité (Nogueiras et al., 2008). Cependant, de nombreux bienfaits du rimonabant ne s'expliquent pas uniquement par la perte de poids, mais se traduisent par des actions périphériques (Scheen and Paquot, 2009).

2. *Efficacité métabolique clinique : le programme RIO*

Sur la base de ces résultats, un vaste programme de phase III (RIO – Rimonabant In Obesity) a évalué l'efficacité et la tolérance du rimonabant chez les patients en surpoids ou obèses, avec ou sans comorbidités métaboliques. Dans les études RIO-Europe, RIO-North America, RIO-Lipids et RIO-Diabetes, un traitement à 20 mg/j pendant un an a entraîné une perte de poids d'environ 4 à 5 kg par rapport au placebo (Scheen and Paquot, 2009). De plus, le rimonabant augmentait significativement la proportion de patients présentant une perte de poids supérieure à 5% ou à 10% du poids corporel initial (Van Gaal et al., 2005). Cette perte de poids était globalement maintenue à deux ans chez les patients poursuivant le traitement. Parallèlement, le rimonabant réduit le tour de taille, augmente le HDL-cholestérol, diminue les triglycérides et abaisse la glycémie à jeun ainsi que l'hémoglobine glyquée (HbA1c) chez les patients diabétiques de type 2, avec une réduction moyenne de 0,5 à 0,7 % d'HbA1c (Scheen and Paquot, 2009). Il est admis que la moitié des bénéfices métaboliques observés ne peut être attribuée à la seule perte de poids, soutenant l'existence d'effets directs du blocage de CB1R sur les tissus métaboliques périphériques (Scheen and Paquot, 2009).

3. Effets indésirables psychiatriques et retrait du marché

Cependant, dès les essais cliniques, l'utilisation du rimonabant a été associée à une augmentation significative d'effets indésirables psychiatriques, principalement des symptômes dépressifs, anxieux, des troubles du sommeil et, chez certains patients, des idées suicidaires (Moreira and Crippa, 2009). Les analyses des données du programme RIO ont mis en évidence un risque accru de dépression et d'anxiété par rapport au placebo, en particulier chez les sujets présentant des antécédents psychiatriques, conduisant l'Agence européenne du médicament à conclure en 2008 que le rapport bénéfice/risque du rimonabant n'était plus favorable et à recommander le retrait de son autorisation de mise sur le marché. Ces observations cliniques sont en accord avec des données précliniques montrant chez le rongeur qu'un antagonisme chronique de CB1R par le rimonabant induit des comportements de type anxio-dépressif (augmentation de l'immobilité dans le test de nage forcée, une baisse de motivation, altérations de la neurogenèse hippocampique et de la transmission sérotoninergique), ce qui renforce l'hypothèse d'un lien causal entre blocage central de CB1R et troubles de l'humeur (Beyer et al., 2010).

4. Réévaluation et échec global de la première génération

Néanmoins, des travaux récents ont remis en question l'interprétation initiale des risques psychiatriques associés au rimonabant. Une réanalyse des données soumises à la Food and Drug Administration, confrontée aux résultats d'essais cliniques publiés ultérieurement, suggère que l'incidence des événements psychiatriques aurait pu être surestimée. Cette étude conclut que le profil de sécurité psychiatrique du rimonabant pourrait avoir été moins défavorable qu'initialement estimé et, dans certaines analyses comparatives, apparaître plus favorable que celui de certains analogues incrétino-mimétiques lorsqu'ils sont comparés à un placebo (Cohen et al., 2024).

D'autres antagonistes/agonistes inverses de première génération, structurellement apparentés au rimonabant, comme le taranabant, l'otenabant, l'ibipinabant ou le surinabant, ont également été développés et ont montré en phase II et III des effets favorables sur le poids et certains paramètres métaboliques. Cependant, leur développement a été interrompu en raison de leurs effets psychiatriques liés à leur capacité à traverser la BHE et à bloquer CB1R dans les circuits centraux de la récompense et de la régulation de l'humeur (Cinar et al., 2020; Nguyen et al., 2019) (**Tableau 3**).

Tableau 3 - Récapitulatif du développement clinique des antagonistes de première génération : *Les essais indiqués en violet et marqués d'un astérisque correspondent à des études interrompues en raison d'effets secondaires centraux similaires à ceux observés avec le rimonabant (Adapté de (Cinar et al., 2020)).*

Dénomination commune *Nom chimique* (société)	Indications cliniques Essais cliniques en monothérapie	Rapports d'études cliniques
Rimonabant ***SR141716A*** **(Sanofi)**	**Dyslipidémie, Obésité** *Ph-3* (*NCT00386061*) -RIO-Europe *Ph-3* (*NCT00029835*) -RIO-LIPIDS *Ph-3* (*NCT00029861*) -RIO-North America *Ph-3* (*NCT00325546*) -RIO-ASIA *Ph-3* (*NCT00481923*) -REBA *Ph-3* (*NCT00481975*) -CRAVING *Ph-3* (*NCT00434096*) –VENUS* **Dyslipidémie, Obésité, Diabète de type 2** *Ph-3* (*NCT00299325*) -VICTORIA *Ph-3* (*NCT00239967*) -ADAGIO-Lipids *Ph-3* (*NCT00257257*) -SERENADE **Diabète de type 2 et prédiabète** * *Ph-3* (*NCT00325650*) -RAPSODI * **Complications diabétiques, dyslipidémie, obésité, maladie rénale, diabète de type 2*** *Ph-3* (*NCT00458081*) - RIALTO * **Maladie coronarienne, dyslipidémie, obésité** *Ph-3* (*NCT00124332*) -STRADIVARIUS *Ph-3* (*NCT00263042*) -CRESCENDO * **Fibrose hépatique, NAFLD sans diabète** * *Ph-3* (*NCT00576667*) -STRONG * **Fibrose hépatique, NAFLD avec diabète*** *Ph-3* (*NCT00577148*) -STRONG-2* **Dépendance à l'alcool** *Ph-2* (*NCT00075205*) **Sevrage tabagique** *Ph-3* (*NCT00459173, NCT00464165, NCT00358228*) -STRATUS **Syndrome de Prader-Willi** * *Ph-3* (*NCT00603109*) *	(Van Gaal et al., 2005) (Després et al., 2005) (Pi-Sunyer et al., 2006) (Pataky et al., 2013) (Triay et al., 2012) (Després et al., 2009) (Rosenstock et al., 2008) (Nissen et al., 2008) (Topol et al., 2010) (George et al., 2010) (Robinson et al., 2018)
Taranabant ***MK-0364,*** ***L-000899055*** **(Merck)**	**Obésité** *Ph-2* (*NCT00109148*) et (*NCT00131430*) **Sevrage tabagique** *Ph-2* (*NCT00109135*)	(Addy et al., 2008) (Morrison et al., 2010)
Otenabant ***CP-945598,*** ***CE-156706*** **(Pfizer)**	**Fibrose hépatique, NAFLD** * *Ph-2* (*EudraCT2008-004088-21*) **Obésité*** *Ph-3* (*NCT00396448*), (*NCT00375401*), (*NCT00483171*) * **Obésité et diabète de type 2*** *Ph-3* (*NCT00391196*) *	 (Aronne et al., 2011)
Ibipinabant ***BMS-646256*** ***SLV-319*** **(Solvay)**	**Obésité*** *Ph-2* (*NCT00388609*) * **Obésité, diabète de type 2** * *Ph-3* (*NCT00541567*) *	
Surinabant ***SR14778*** **(Sanofi)**	**Obésité** *Ph-2* (*NCT00239174*) **Sevrage tabagique** *Ph-2* (*NCT00432575*)	

L'ensemble de ces évènements a conduit à l'abandon des antagonistes CB1R de première génération pouvant agir directement sur le système nerveux central, malgré une preuve de concept solide sur le plan de l'efficacité métabolique. Cela a motivé la communauté scientifique au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques visant à bloquer spécifiquement les CB1R

périphériques, tout en minimisant l'impact sur le système nerveux central afin de répondre aux nombreux désordres métaboliques associés à CB1R dans ces tissus.

c. Validation des récepteurs CB1R périphériques comme cible thérapeutique de choix dans le syndrome métabolique

Au-delà de son rôle central, le SEC intervient directement dans la régulation de l'homéostasie énergétique au niveau de plusieurs organes périphériques clés, comme le foie, le pancréas, le muscle squelettique et le rein. Dans ces tissus, l'activation chronique de CB1R par une augmentation du tonus endocannabinoïde contribue au développement d'un phénotype typique du syndrome métabolique associé à de nombreux problèmes, tels que la stéatose hépatique, les dyslipidémies, l'altération de la sécrétion d'insuline, la résistance à l'insuline et la néphropathie diabétique. À l'inverse, le blocage pharmacologique ou l'invalidation génétique de CB1R dans les tissus périphériques améliorent la plupart de ces perturbations, ce qui en fait une cible majeure pour la prise en charge des troubles métaboliques (Dörnyei et al., 2023; Shrestha et al., 2018).

i. Le foie

Au cours de l'obésité et du syndrome métabolique, le foie constitue un site central de l'action métabolique de CB1R. En effet, dans des modèles murins d'obésité induite par un régime riche en graisses, l'invalidation de CB1R protège contre la prise de masse grasse, la stéatose hépatique, l'hyperglycémie, la dyslipidémie et la résistance à l'insuline et à la leptine. Cependant, lorsque l'invalidation de CB1R est spécifique des hépatocytes, le régime riche en graisse induit une prise de masse grasse similaire à celle des souris témoins, mais ces souris présentent une stéatose, une dyslipidémie, et une résistance à l'insuline et à la leptine beaucoup moins marquées. Cela montre que l'activation des CB1R hépatiques est requise pour le développement du phénotype métabolique associé au régime gras, indépendamment de la prise de poids (Osei-Hyiaman et al., 2008) (**Figure *20***).

Sur le plan mécanistique, l'activation de CB1R dans les hépatocytes augmente l'expression du facteur de transcription CREBH (cAMP-responsive element-binding protein H), ce qui induit l'expression de la phosphatidate phosphatase Lipin-1, accroît la production de DAG et active la PKC, entraînant une inhibition de la voie du récepteur à l'insuline et donc une résistance à l'insuline hépatique (Chanda et al., 2012). De plus, il a été montré que l'activation de CB1R favorise l'expression de gènes clés de la lipogenèse, tels que *SREBP-1c*, *FAS* et *ACC* (Osei-Hyiaman et al., 2005) et de plusieurs facteurs impliqués dans la néoglucogenèse, tels que PEPCK et G6Pase, contribuant ainsi à la formation de lipides et de glucose observée dans le foie dans le syndrome métabolique (Chanda et al., 2011).

Par ailleurs, dans un modèle murin de syndrome métabolique induit par une exposition chronique aux glucocorticoïdes, des travaux ont démontré que ces hormones recrutent spécifiquement le SEC

périphérique pour promouvoir la dysrégulation métabolique. En effet, l'administration prolongée de corticostérone entraine une augmentation des niveaux circulants et hépatiques d'AEA et de PEA, ainsi qu'une activation de CB1R et de la NAPE-PLD, associée au développement d'une stéatose, d'une insulinorésistance et d'une dyslipidémie. En revanche, la délétion totale de CB1R dans l'organisme prévient l'ensemble des effets médiés par ces glucocorticoïdes (Bowles et al., 2015). Dans ce contexte, le blocage sélectif de CB1R périphérique apparaît comme une stratégie thérapeutique prometteuse pour corriger la stéatose et l'insulinorésistance hépatique (**Figure *20***).

ii. Le pancréas

Dans le pancréas, il est désormais admis que le SEC est présent au sein des îlots de Langerhans, comprenant les récepteurs, leurs ligands endogènes et leurs enzymes de synthèse et de dégradation (Bermúdez-Silva et al., 2008). Les cellules β expriment l'ensemble des composants qui permettent la production d'ECs à la demande en réponse à des concentrations élevées de glucose (Bermúdez-Silva et al., 2008). Ces ECs peuvent agir *via* des mécanismes autocrines et paracrines pour moduler la sécrétion d'insuline et inhiber la prolifération et la survie des cellules β-pancréatiques (Berger et al., 2015). Ainsi, l'administration d'ECs dans les îlots pancréatiques inhibe la libération d'insuline en réduisant l'AMPc intracellulaire et en altérant la signalisation calcique (Juan-Picó et al., 2006; Nakata and Yada, 2008). À l'inverse, le blocage pharmacologique de CB1R sur un modèle de souris db/db réduit la glycémie et augmente la prolifération, la résistance à l'insuline et la masse totale des cellules β-pancréatiques (Kim et al., 2011).

Le SEC pancréatique interfère également avec l'axe incrétine-insuline. En effet, des travaux *in vitro* ont montré que des agonistes de CB1R diminuent l'AMPc intracellulaire et la sécrétion d'insuline induites par l'activation du récepteur du GLP-1 dans les lignées β-pancréatiques murines et dans des îlots humains. Cependant, le blocage pharmacologique de CB1R par un agoniste inverse restaure la sécrétion d'insuline induite par le GLP-1 (González-Mariscal et al., 2016b). Dans un modèle murin invalidé pour CB1R, les souris présentent des concentrations postprandiales de GLP-1 plus élevées et une augmentation de la sécrétion d'insuline en réponse à l'administration exogène de GLP-1 (González-Mariscal et al., 2016b). Ces résultats suggèrent que les ECs agissent comme des modulateurs négatifs de la signalisation incrétine-dépendante (**Figure *20***).

Enfin, le SEC pancréatique intervient dans l'inflammation et la perte progressive des cellules β-pancréatiques dans les modèles de diabète de type 2. En effet, dans un modèle de rat Zucker Diabetic Fatty, la perte des cellules β-pancréatiques est associée à une infiltration importante des îlots par des macrophages exprimant fortement CB1R et le complexe inflammasome NLRP3 (Jourdan et al., 2013). La suppression globale de CB1R protège ces animaux de la perte des cellules β-pancréatiques, de

l'hyperglycémie et d'autres complications métaboliques (Jourdan et al., 2017). De manière cohérente, des études montrent que CB1R exprimé sur les macrophages pancréatiques résidents contribue à l'activation de NLRP3 et à la sécrétion d'IL-1β, favorisant une inflammation chronique délétère pour la survie des cellules β-pancréatiques (Jourdan et al., 2013). À l'inverse, CB2R semble exercer des effets anti-inflammatoires et pro-autophagiques selon le contexte cellulaire et son activation est étudiée comme une stratégie potentielle pour lutter contre le diabète de type 1 (Q.-R. Liu et al., 2022).

Dans leur ensemble, ces travaux montrent qu'une hyperactivation chronique du SEC pancréatique favorise la dysfonction des cellules β, altère la sécrétion d'insuline et entretient l'inflammation insulaire au cours de l'obésité et du diabète de type 2. À l'inverse, le blocage sélectif de CB1R, en particulier au niveau périphérique, apparaît comme une stratégie prometteuse pour préserver la masse β-pancréatique, restaurer la sécrétion d'insuline et améliorer le contrôle glycémique (**Figure *20***).

iii. Le muscle squelettique

Chez les rongeurs et l'Homme, le muscle squelettique exprime l'ensemble des composants du SEC, que ce soit les récepteurs et les enzymes de synthèse et de dégradation des principaux ECs (Crespillo et al., 2011; Eckardt et al., 2009). Le CB1R est détecté au niveau de la membrane plasmique et des mitochondries, à des niveaux comparables à ceux observés dans le cerveau de rat, suggérant un rôle direct dans la régulation du métabolisme oxydatif musculaire (Arrabal et al., 2015). Dans des modèles murins comme chez l'Homme, l'obésité ne s'accompagne pas nécessairement d'une surexpression de CB1R dans le muscle squelettique, elle se caractérise en revanche par une élévation locale des concentrations en AEA et en 2-AG (Heyman et al., 2012). L'activation chronique de CB1R musculaire contribue à promouvoir la formation de graisse, réduire l'activité locomotrice spontanée, la sensibilité au glucose et empêcher la capture du glucose. Ces effets sont réduits lors d'un traitement avec un agoniste inverse chez la souris (Liu et al., 2005). Chez l'Homme, il a été montré que la concentration musculaire en AEA est inversement corrélée à la dépense énergétique de repos et à la dépense énergétique sur 24 h, suggérant qu'un tonus endocannabinoïde élevé contribue à une baisse du métabolisme de repos et de l'oxydation des AG. Ainsi, au cours de l'obésité, l'hyperactivation du SEC dans le muscle squelettique apparaît comme un facteur supplémentaire de la diminution de la dépense énergétique et de la dérive vers l'insulinorésistance périphérique.

Sur le plan mécanistique, l'activation de CB1R dans les myotubes et les fibres musculaires interfère avec la signalisation de l'insuline et le métabolisme des substrats. En effet, une étude a démontré que l'exposition de myotubes squelettiques humains à l'AEA ou à des milieux conditionnés d'adipocytes réduit de 40 à 60% la phosphorylation d'Akt induite par l'insuline et diminue la captation du glucose. Cet effet est entièrement restauré par un prétraitement des milieux avec des antagonistes

ou agonistes inverses de CB1R (Eckardt et al., 2009). Ces altérations sont expliquées par l'augmentation de la phosphorylation d'IRS-1 et de l'activation de kinases de stress telles que JNK, ce qui fournit un lien moléculaire entre stimulation de CB1R et insensibilisation de la voie IRS-1/PI3K/Akt. Une étude réalisée sur des cellules musculaires L6 a montré que la modulation pharmacologique du SEC influence la captation du glucose en agissant sur la voie de signalisation PI3K/Akt. Cette régulation s'accompagne de modifications de l'activité de plusieurs protéines impliquées dans cette voie, notamment PDK1, PKCζ et Akt, sans toutefois affecter l'expression des transporteurs de glucose GLUT1 et GLUT4 (Esposito et al., 2008).

De plus, les études *in vivo* confirment que l'hyperactivation de CB1R musculaire participe à l'insulinorésistance et aux altérations de la composition corporelle observées dans l'obésité et le vieillissement. Dans des modèles murins obèses ou âgés, une augmentation de l'expression de CB1R dans le muscle squelettique coïncide avec une diminution de la sensibilité à l'insuline musculaire. Le traitement par un antagoniste de CB1R améliore la tolérance au glucose et restaure la réponse insulinique au niveau du muscle et du foie chez les animaux âgés, mais pas chez les jeunes adultes (Lipina et al., 2016). La délétion spécifique de CB1R dans le muscle montre que ces souris sont protégées du développement d'une insulinorésistance induite par le régime riche en graisses et par l'âge, avec une amélioration de la signalisation de l'insuline, une augmentation de la consommation d'oxygène et de la dépense énergétique, ainsi qu'une meilleure endurance à l'exercice (González-Mariscal et al., 2019) (**Figure *20***).

Enfin, des travaux récents suggèrent que le SEC musculaire exerce aussi des effets sur la plasticité et la régénération musculaire : l'antagonisme de CB1R pourrait favoriser le métabolisme mitochondrial, la croissance des cellules satellites et l'anabolisme musculaire, tandis que l'activation de CB2R semble soutenir la régénération *via* une polarisation anti-inflammatoire des macrophages et l'induction de facteurs myogéniques (Dalle et al., 2022) (**Figure *20***).

Pour conclure, le rôle délétère de CB1R musculaire suractivé, interférant avec la signalisation de l'insuline, réduisant l'oxydation des substrats et contribuant à la baisse de la dépense énergétique, fait du blocage sélectif de CB1R musculaire une approche attractive pour améliorer la sensibilité à l'insuline musculaire et la capacité oxydative (Rohbeck et al., 2021) (**Figure *20***).

iv. Le rein

Au niveau rénal, le SEC est exprimé dans l'ensemble des compartiments structuraux, incluant l'endothélium des artères rénales, les podocytes, les cellules mésangiales et les cellules épithéliales tubulaires (Hryciw and McAinch, 2016). Dans le rein sain, l'activation de CB1R sur les récepteurs

cannabinoïdes peut moduler le flux sanguin rénal et le transport tubulaire de sodium suggérant une implication du SEC dans la régulation rénale.

Dans les modèles de néphropathie diabétique, l'expression de CB1R est fortement augmentée dans les glomérules, au niveau des podocytes et des cellules tubulaires proximales, deux types cellulaires spécialisés du rein, alors que la signalisation protectrice *via* CB2R est diminuée (Chua et al., 2019). L'exposition des podocytes à un environnement hyperglycémique augmente l'expression de CB1R et s'accompagne d'une diminution de l'expression de protéines essentielles de la barrière de filtration glomérulaire, notamment nephrin et podocin (Jourdan et al., 2014). L'hyperglycémie active également des voies de stress cellulaire telles que p38 MAPK, favorisant l'altération de l'intégrité podocytaire et le développement d'une protéinurie (Arceri et al., 2023). Par ailleurs, la signalisation CB1R contribue aux réponses pro-inflammatoires et pro-fibrotiques observées dans la néphropathie diabétique (Arceri et al., 2023).

L'hyperactivation de CB1R est également observée dans d'autres formes de maladies rénales chroniques métaboliques ou non métaboliques (néphropathie liée à l'obésité, néphropathie à IgA, néphrite interstitielle, néphropathie chronique du greffon) où l'augmentation de l'expression de CB1R dans les tubules proximaux, le parenchyme interstitiel et les glomérules s'accompagne d'une majoration de l'inflammation et de la fibrose. À l'inverse, CB2R semble exercer des effets protecteurs dans la néphropathie diabétique et d'autres atteintes rénales, son activation étant associée à une réduction de l'albuminurie, de l'infiltrat inflammatoire et de la fibrose, tandis que sa sous-expression lors de l'hyperglycémie et le stress mécanique contribue à lever ce frein protecteur (Arceri et al., 2023; Barutta et al., 2018; Pressly et al., 2019).

Sur le plan thérapeutique, ces observations ont conduit au développement de stratégies visant à cibler sélectivement CB1R périphérique dans les atteintes rénales métaboliques. Dans des modèles d'obésité induite par un régime riche en graisses, un agoniste inverse de CB1R restreint à la périphérie (JD5037) améliore l'albuminurie, les lésions glomérulaires et les marqueurs d'inflammation et de fibrose rénale, sans effets comportementaux centraux significatifs (Jourdan et al., 2014). Des analyses de biopsies humaines confirment par ailleurs une surexpression concomitante de CB1R et d'iNOS. Ceci a contribué au développement de l'utilisation d'un double inhibiteur iNOS/CB1R (MRI-1867) qui atténue de manière marquée la néphropathie chronique induite par l'obésité, en diminuant l'infiltration inflammatoire, le stress oxydant, la fibrose tubulo-interstitielle et les lésions glomérulaires, effets en partie indépendants de l'amélioration des paramètres métaboliques systémiques (Udi et al., 2020) (**Figure *20***).

Ainsi, dans le rein, une hyperactivité chronique du SEC *via* CB1R contribue au couplage entre obésité/diabète et néphropathie, tandis que le blocage sélectif de CB1R, éventuellement combiné à l'activation de CB2R, apparaît comme une piste thérapeutique prometteuse pour limiter la progression des atteintes rénales d'origine métabolique (Arceri et al., 2023) (**Figure *20***).

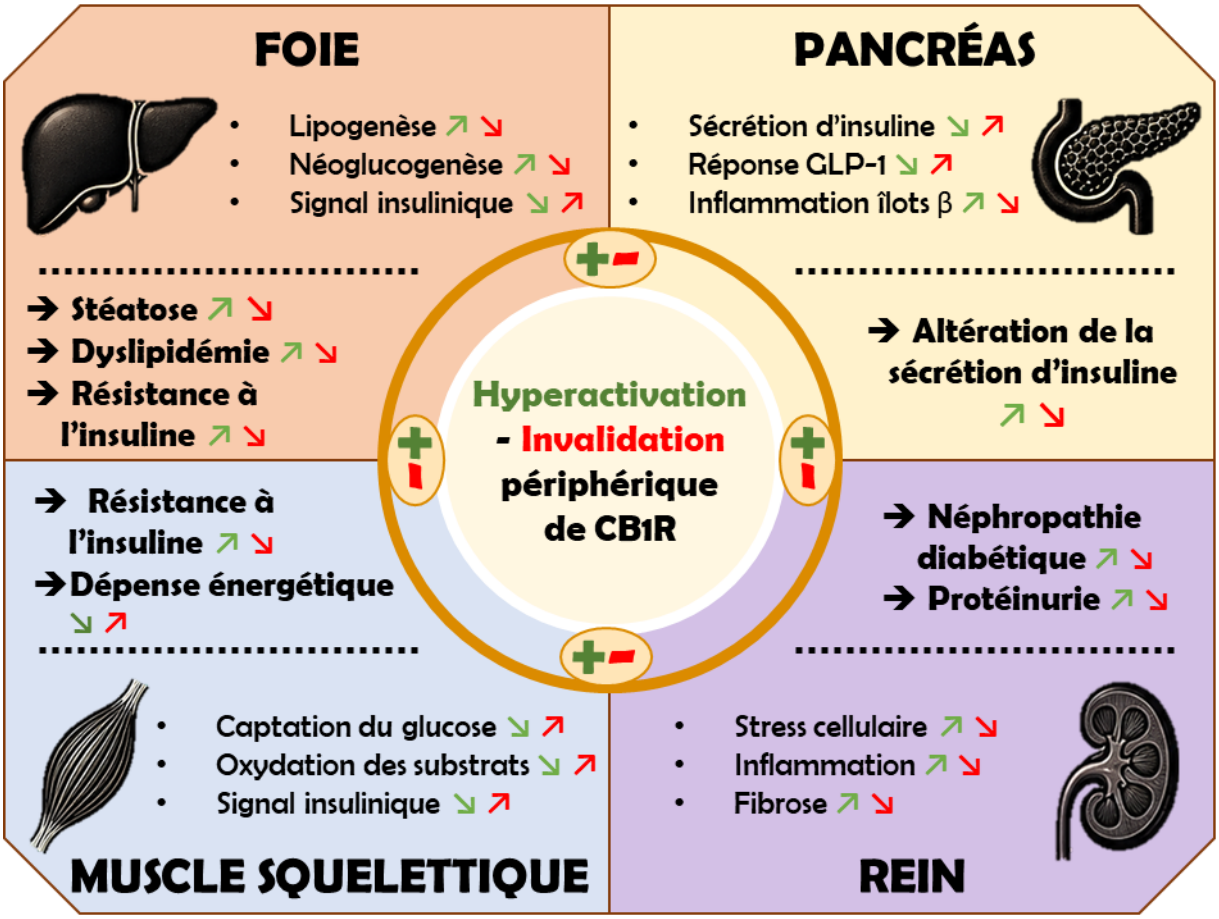


Figure 20 - Effets opposés de l'hyperactivation et de l'invalidation périphériques de CB1R dans les principaux organes métaboliques *: Le schéma illustre les effets métaboliques opposés associés à l'hyperactivation périphérique de CB1R et à son invalidation ou blocage périphérique dans le foie, le pancréas, le muscle squelettique et le rein. Les flèches vertes représentent les altérations induites par une hyperactivation de CB1R : augmentation de la lipogenèse et de la néoglucogenèse hépatiques, diminution de la signalisation insulinique, altération de la sécrétion d'insuline, réduction de la captation du glucose et de l'oxydation des substrats musculaires, ainsi qu'augmentation du stress cellulaire, de l'inflammation et de la fibrose rénale. Les flèches rouges indiquent les effets opposés rapportés après invalidation génétique ou blocage périphérique de CB1R, incluant une amélioration du métabolisme hépatique, de la fonction β-cellulaire, de la sensibilité à l'insuline et de la fonction rénale. Les effets représentés dépendent du tissu, du modèle expérimental et de la modalité de modulation de CB1R (Adapté de (Piazza et al., 2017)).*

4. Système endocannabinoïde et tissu adipeux

L'expression fonctionnelle du SEC est retrouvée dans les différents types de TA : brun, beige ainsi que dans les dépôts de TA blancs viscéraux et sous-cutanés. Le SEC y régule des processus essentiels tels que l'adipogenèse, la lipogenèse, la lipolyse et la thermogenèse. Ainsi, le TA constitue à la fois une source et un organe cible majeur du SEC, le plaçant au cœur de la régulation de l'équilibre énergétique

et de l'inflammation métabolique. Dans ce contexte, la dérégulation du tonus endocannabinoïde observée au cours de l'obésité et du diabète de type 2 contribue à remodeler fortement l'architecture et les fonctions du TA (Jung et al., 2022).

a. Expression et organisation du système endocannabinoïde du TA

Le SEC est exprimé dans l'ensemble des différents dépôts de TA blanc. Les dépôts sous-cutanés et viscéraux se distinguent par leur profil métabolique, mais aussi par la régulation locale du SEC, ce qui contribue à la différence de risque cardiométabolique associée à ces deux dépôts. Le SEC est également présent dans le TA brun, où son activation tend à limiter la thermogenèse, tandis que son inhibition favorise le brunissement des adipocytes blancs (Matias et al., 2016).

La présence d'un SEC fonctionnel dans le TA humain a été démontrée par plusieurs approches complémentaires. En effet, le TA contient des quantités mesurables de 2-AG et d'AEA dans le tissu, exprime les ARNm de *CB1R, CB2R, NAPE-PLD, DAGL, FAAH* et *MAGL*, et présente des activités enzymatiques mesurables pour la synthèse et la dégradation de 2-AG et d'AEA (Spoto et al., 2006). Des expériences de liaison ont confirmé la présence de sites CB1R fonctionnels, complétés par des données de localisation confirmant que CB1R est principalement retrouvé au niveau membranaire (Spoto et al., 2006). Ces résultats ont établi que le TA humain n'est pas seulement une cible, mais aussi un site de production et de métabolisme des ECs.

Au niveau cellulaire, les CB1R et CB2R sont exprimés à la fois par les adipocytes matures et leurs précurseurs (Roche et al., 2006). En effet, il a été montré par immunohistochimie que les deux récepteurs étaient exprimés au niveau de la membrane plasmique chez les adipocytes matures et les préadipocytes des mêmes dépôts chez l'Homme, que ce soit pour le TAV et le TASC (Roche et al., 2006). Le caractère fonctionnel de ces récepteurs a également été démontré par leur capacité à moduler les concentrations intracellulaires d'AMPc après stimulation par les ECs (Roche et al., 2006). De plus, des travaux plus récents confirment la présence de CB1R dans les adipocytes blancs de souris, avec une localisation non seulement à la membrane plasmique, mais aussi au niveau des mitochondries, où il peut moduler directement le métabolisme oxydatif (Pagano Zottola et al., 2022). Les études comparant différents dépôts de TA montrent par ailleurs que la composition et la régulation du SEC varient selon la localisation anatomique. Chez des sujets maigres, l'expression de CB1R est plus élevée dans le TASC que dans le TAV alors que chez les sujets obèses, ce gradient disparaît et les niveaux de CB1R deviennent similaires entre les deux dépôts, en partie parce que CB1R diminue dans le TASC sans changer significativement dans le TAV (Bennetzen et al., 2010; Sarzani et al., 2009). À l'inverse, d'autres travaux rapportent une surexpression relative de CB1R dans le TAV de sujets obèses ou diabétiques de type 2 par rapport à des témoins maigres, et soulignent surtout que c'est la combinaison d'une masse

viscérale accrue et d'un tonus EC local élevé qui caractérise la dérégulation du SEC dans le TAV de sujets obèses (Lee et al., 2009; Sarzani et al., 2009; Sidibeh et al., 2017). Malgré ces résultats parfois divergents, l'ensemble des données désigne le TAV comme étant un site majeur de dérégulation du SEC en cas d'obésité.

La FSV exprime elle aussi de manière significative les composants du SEC. En effet, des études d'immunofluorescence chez l'Homme montrent que CB1R est exprimé à la surface des macrophages infiltrant le TA, suggérant un rôle direct du SEC dans le dialogue immuno-métabolique local (Lee et al., 2009). En revanche, CB2R est principalement exprimé par les cellules immunitaires, notamment les macrophages mais également d'autres leucocytes présents dans la FSV (Galiègue et al., 1995), où son activation est généralement reliée à des effets anti-inflammatoires et à la modulation de la polarisation macrophagique (Turcotte et al., 2016). Bien que cela n'ait pas encore été démontré directement dans le TA, il semble que les cellules endothéliales tapissant les vaisseaux sanguins expriment des CB1R fonctionnels, potentiellement impliqués dans la croissance et la prolifération de ces cellules (Liu et al., 2000). Les ADSC semblent également exprimer CB1R, dont l'activation participerait au contrôle de leur prolifération et de leur différenciation adipocytaire, comme cela sera détaillé dans la section 5.iv (Ruhl et al., 2020). Même si elles ne sont pas présentes dans la FSV, les CSM provenant de la moelle osseuse, semblables aux ADSC, sont plus caractérisées et expriment également CB1R jouant également un rôle dans l'adipogenèse (Idris et al., 2009; Wang et al., 2017).

Les enzymes de synthèse et de dégradation des ECs sont exprimées dans les adipocytes matures (Matias et al., 2006) et dans les préadipocytes (Gasperi et al., 2007) du TA blanc. Cette organisation enzymatique permet aux adipocytes de produire et d'inactiver rapidement les ECs, de façon autocrine et paracrine, en réponse à des signaux hormonaux, nutritionnels ou inflammatoires. Chez l'Homme, l'obésité et le diabète de type 2 s'accompagnent d'une altération du métabolisme des ECs dans le TA (Matias et al., 2006), notamment par une diminution de l'expression de plusieurs enzymes de dégradation (Blüher et al., 2006).

Prises ensemble, ces données indiquent que le SEC est finement organisé dans le TA, en termes de distribution de CB1R/CB2R et des enzymes de synthèse/dégradation, et que cette organisation est profondément remodelée au cours de l'obésité et du diabète, en particulier dans les dépôts viscéraux, avec une tendance à l'augmentation de CB1R et à l'élévation du tonus endocannabinoïde local. Ce contexte est favorable aux effets lipogéniques et inflammatoires du SEC dans le TA, qui seront détaillés dans les sections suivantes consacrées à l'inflammation/remodelage, à la production d'ECs dans le TA et aux fonctions adipocytaires.

b. Le tissu adipeux blanc : Producteur majeur d'endocannabinoïdes

Au-delà de son rôle de stockage énergétique et d'organe endocrine, le TA blanc est aujourd'hui reconnu comme un site majeur de production d'ECs locaux et potentiellement circulants.

Les premières indications d'un lien entre obésité et hyperactivité du SEC viennent d'études cliniques montrant une augmentation des taux circulants d'ECs chez les sujets en surpoids ou obèses. Chez la femme, Engeli et al. ont mis en évidence que les concentrations plasmatiques de 2-AG et d'AEA étaient plus élevées chez les patientes obèses, et que ces augmentations diminuaient après une perte de poids d'environ 5 % du poids corporel. Les auteurs montrent également que l'expression de CB1R est diminuée au cours de l'obésité chez ces patientes, mais restaurée par la perte de poids. Ces observations suggèrent que la dérégulation du SEC périphérique est, au moins en partie, réversible lors de la perte de poids au cours de l'obésité (Engeli et al., 2005). Une autre étude, s'intéressant aux hommes et aux femmes, a également montré que l'obésité augmentait les taux de 2-AG circulants, et que ces taux étaient corrélés positivement avec le poids corporel, la masse grasse viscérale, les concentrations d'insuline à jeun, mais en corrélation négative avec le débit de perfusion de glucose mesurant la résistance à l'insuline (Blüher et al., 2006).

Dans ce contexte, plusieurs études ont essayé de déterminer dans quelle mesure le TA contribue à cette élévation des ECs circulants. Il a été montré que les taux plasmatiques de 2-AG augmentent parallèlement à la masse du TAV, tandis que l'expression de FAAH dans ce compartiment est inversement corrélée à la masse du TAV et aux taux circulants de 2-AG, suggérant qu'une diminution de la capacité de dégradation des ECs dans le TAV contribue à l'augmentation des ECs plasmatiques. Il est connu que de nombreux organes périphériques contiennent des ECs à des concentrations suffisantes pour activer localement CB1R, mais il est moins bien démontré que l'expansion anarchique contribue à augmenter la source d'ECs circulants dans l'obésité (Hillard, 2018).

Au niveau cellulaire, une étude fondatrice menée par Gonthier et Matias et leurs collaborateurs a montré que des adipocytes blancs sous-cutanés humains en culture primaire produisent du 2-AG, de l'AEA, de l'OEA et du PEA à des concentrations comprises entre 0,04 et 0,53 pM/mg de lipides, avec le PEA constituant le composé le plus abondant (Gonthier et al., 2007). La production de ces médiateurs est modulée par la leptine, réduisant spécifiquement les niveaux de PEA sans affecter l'AEA et le 2-AG, tandis que l'adiponectine et un agoniste de PPARγ, le ciglitazone, n'ont pas d'effet significatif sur ces composés (Gonthier et al., 2007). Ces résultats ont identifié pour la première fois les adipocytes blancs humains comme une source d'ECs dont la production peut être modulée par la signalisation endocrine du TA, notamment par la leptine.

D'autres travaux ont confirmé et étendu ces observations. En effet, au sein de l'équipe, il a été montré que dans des explants de TA blanc de rat et de souris, les concentrations d'AEA et de 2-AG atteignent 5 à 150 ng/g tissu et ces travaux ont montré que ces explants libèrent des ECs dans le milieu de culture (Buch et al., 2021). De plus, chez des souris obèses nourries par un régime riche en graisses, les concentrations tissulaires et les taux de sécrétion d'AEA et de 2-AG par les explants de TAV sont significativement augmentés par rapport aux souris maigres (Buch et al., 2021).

Pris ensemble, ces résultats montrent que le TA blanc ne constitue pas uniquement une cible périphérique du SEC, mais également un compartiment producteur actif d' ECs. La mise en évidence de la production et de la libération d'AEA et de 2-AG par le TA blanc soulève désormais plusieurs questions concernant les mécanismes impliqués dans leur sécrétion, leur transport et leur distribution au sein du microenvironnement tissulaire ainsi que vers la circulation.

c. Mécanismes de sécrétion des ECs produits par le TA

En raison de leur nature fortement lipophile, les ECs peuvent traverser la bicouche lipidique par un mécanisme de « flip-flop » passif, sans nécessiter de transporteur transmembranaire classique. Néanmoins, des études ont montré que l'entrée et la sortie d'AEA présentent une cinétique rapide, saturable, sensible à la température et inhibée par des antagonistes pharmacologiques, ce qui a conduit à proposer l'existence d'un transporteur membranaire d'endocannabinoïde (Chicca et al., 2012; Maccarrone and Finazzi-Agró, 2003). Des travaux sur des monocouches et bicouches lipidiques ont montré que le cholestérol augmente le passage d'AEA à travers la membrane et que la déplétion en cholestérol réduit l'activité d'un transporteur d'AEA, suggérant que la composition en cholestérol de la membrane module de façon critique la diffusion et/ou le transport des ECs (Pasquale et al., 2009). Toutefois, malgré plus de deux décennies de recherches, aucun gène ni protéine transmembranaire unique n'a été identifié comme transporteur spécifique des ECs.

Une fois libérés dans l'espace extracellulaire, le 2-AG et l'AEA, peu solubles dans les milieux aqueux, sont pris en charge dans la circulation par des protéines de liaison plasmatiques, notamment l'albumine et les lipoprotéines. À l'intérieur des cellules, leur transport est assuré par des protéines de la famille des FABPs, en particulier FABP5, qui lient l'AEA et le 2-AG dans leur poche hydrophobe et facilitent leur transfert vers FAAH ou vers d'autres cibles intracellulaires. Des données structurales ont montré que ces ligands interagissent avec FABP5 *via* des interactions majoritairement hydrophobes, avec une liaison clé impliquant Tyr131 (Sanson et al., 2014). De plus, il a été montré que FABP5 contrôle le signal rétrograde endocannabinoïde en facilitant le transfert d'AEA depuis le site de synthèse vers FAAH et en modulant ainsi la durée et l'intensité du signal sur CB1R (Haj-Dahmane et al., 2018). Même si ces travaux portent essentiellement sur des neurones, les adipocytes expriment plusieurs isoformes

de FABPs (FABP4/aP2, FABP5, etc.), fortement impliquées dans le trafic des AG et la signalisation nucléaire. Ainsi, il est très probable qu'elles participent également au transport intracellulaire des ECs et à leur délivrance vers FAAH/MAGL dans le TA.

Au-delà des ECs liés aux protéines, le TA sécrète également des VEs de plusieurs tailles : exosomes (30–150 nm), microvésicules (100–1000 nm) et corps apoptotiques (> 1000 nm), qui véhiculent un large éventail de molécules : protéines, ARN (miARN, lncARN), lipides, et contribuent de façon majeure à la communication intra- et inter-organes. Les analyses lipidomiques des VEs dérivées du TA montrent qu'elles sont enrichies en dérivés d'AG susceptibles de constituer des précurseurs d'ECs et en enzymes impliquées dans le métabolisme lipidique (Le Lay and Scherer, 2025). Bien que la quantification directe d'AEA et de 2-AG dans les VEs dérivées spécifiquement du TA soit encore limitée, plusieurs travaux sur d'autres types cellulaires démontrent clairement que les VEs peuvent véhiculer des ECs fonctionnels. Par exemple, des études récentes ont montré que des VEs produites par microglies et macrophages contiennent du 2-AG et de l'AEA, détectés à la fois dans les VEs *in vitro* et dans les VEs circulantes humaines, et que ces ECs vésiculaires favorisent la différenciation des progéniteurs oligodendrocytaires *via* CB1R/CB2R (Lombardi et al., 2024; Straub et al., 2025). Ces résultats fournissent une preuve de concept que des ECs peuvent être incorporés dans le cargo lipidique des VEs et transférés sous une forme protégée à des cellules cibles distantes, où ils activent la signalisation endocannabinoïde. Dans cette perspective, des travaux actuellement menés au sein du laboratoire visent à quantifier la production des ECs par les VEs produites par le TA.

En résumé, les ECs produits par les adipocytes et les cellules de la FSV sont libérés principalement par diffusion passive à travers la membrane plasmique et, dans une moindre mesure, sous forme associée à des protéines liant les lipides ou à des VEs, qui peuvent favoriser leur stabilité et leur transport. Ces différents modes de libération permettent aux ECs d'agir localement, par des mécanismes autocrines sur les cellules productrices ou paracrines sur les cellules voisines du TA. Lorsque des VEs contenant des ECs atteignent la circulation, elles pourraient également contribuer à une signalisation endocrine vers des organes métaboliques distants, bien que cette hypothèse reste encore à confirmer.

d. Régulation des fonctions adipocytaires par le SEC

Les ECs produits par le TA pourraient ainsi agir de façon autocrine ou paracrine, et potentiellement influencer plusieurs fonctions adipocytaires majeures. En particulier, l'activation locale de CB1R pourrait moduler le stockage et la mobilisation des lipides, la sécrétion d'adipokines, l'inflammation du TA ainsi que l'adipogenèse. Dans cette perspective, le SEC apparaît comme un régulateur intégré de la physiologie du TA, particulièrement important en situation d'obésité.

i. Lipolyse et lipogenèse

L'activation de CB1R dans les adipocytes favorise la lipogenèse et freine la lipolyse, orientant ainsi le TA vers le stockage d'énergie plutôt que vers sa mobilisation. En effet, des études *in vitro* sur adipocytes humains ont montré que la stimulation du SEC par des agonistes CB1R augmente la captation de glucose et la lipogenèse *via* des voies PI3K-dépendantes et des flux calciques intracellulaires, alors que le blocage de CB1R par le rimonabant inhibe ces effets (Cota et al., 2003; Pagano et al., 2007). Sur les préadipocytes 3T3-L1, la stimulation de CB1R augmente l'expression de gènes lipogéniques clés, notamment la *Lpl, Acc, Fas, Scd1 et Dgat-2*, tandis que le rimonabant exerce l'effet inverse, réduisant l'expression de ces gènes et la synthèse de triglycérides. Ces résultats sont cohérents avec des données obtenues chez l'animal montrant que l'activation de CB1R augmente l'activité de la LPL, la lipogenèse *de novo* et l'accumulation de triglycérides dans le TA, tandis que son antagonisme réduit la taille des adipocytes et la masse grasse (Vettor and Pagano, 2009).

En parallèle, les ECs produits par le TA exercent un contrôle direct sur la lipolyse. En effet, le laboratoire a montré que dans des explants de TA blanc de rat et de souris, l'ajout d'AEA inhibe la libération de glycérol induite par la noradrénaline, un effet aboli par le rimonabant, démontrant qu'il s'agit d'un effet CB1R-dépendant (Buch et al., 2021). Les études mécanistiques montrent que cette inhibition de la lipolyse est associée à une diminution de l'AMPc intracellulaire (inhibition de la réponse à la forskoline) et à une activation de la voie PI3K/Akt, conduisant à une réduction de la phosphorylation activatrice de la lipase hormono-sensible et probablement à une modulation d'ATGL, ce qui réduit la mobilisation des triglycérides stockés (Buch et al., 2021). Enfin, ces travaux montrent également que le blocage aigu de CB1R ne restaure pas la lipolyse dans le TA blanc obèse et soulève la possibilité d'une altération de la signalisation de CB1R au cours de l'obésité (Buch et al., 2021).

ii. Fonction endocrine

Au-delà de ses effets sur le métabolisme des lipides, le SEC module finement la fonction endocrine des adipocytes en régulant la sécrétion d'adipokines endocrines clés, notamment l'adiponectine, la leptine et l'omentine.

En effet, il a été montré que dans des explants de TA omental humain provenant de sujets obèses, le blocage de CB1R par le rimonabant augmente l'expression d'ARNm de l'adiponectine et de l'omentine (Ge et al., 2012). Il semble que ces effets soient compartimentés : dans les adipocytes matures isolés, le rimonabant augmente l'ARNm d'adiponectine associé à une hausse de la sécrétion d'adiponectine dans le milieu, tandis que dans la FSV, le blocage de CB1R augmente l'expression d'omentine (Ge et al., 2012). À l'inverse, l'ACEA, agoniste sélectif de CB1R, réduit l'expression d'adiponectine *via* une voie dépendante de p38/MAPK/ERK1/2, effet complètement aboli par un

inhibiteur de p38, établissant un lien entre la signalisation de CB1R et la régulation de l'adiponectine (Ge et al., 2012).

Ces observations *in vitro* sont en accord avec les données *in vivo* obtenues dans les grands essais cliniques de rimonabant (programme RIO). Chez des patients en surpoids/obèses avec dyslipidémie, un an de rimonabant à 20 mg/j augmente les concentrations plasmatiques d'adiponectine d'environ 40 % (contre 14 % sous placebo) et près de la moitié de cette augmentation persiste après ajustement sur la perte de poids, suggérant un effet direct de l'antagonisme de CB1R sur la fonction endocrine adipocytaire (Després et al., 2005). Dans RIO-Lipids, l'augmentation d'adiponectine est étroitement corrélée à la hausse du HDL-cholestérol et à la baisse des LDL-cholestérol, ce qui relie l'amélioration du profil d'adipokines induite par un blocage de CB1R à la réduction du risque cardiométabolique (Scheen, 2008).

Parallèlement, CB1R semble contrôler la production de la leptine, adipokine anorexigène réduisant la prise alimentaire par action sur ses récepteurs hypothalamiques. L'incubation de préadipocytes 3T3-L1 avec différents agonistes de CB1R augmente la sécrétion de leptine, tandis que son blocage par des agonistes neutres la diminue (Tam et al., 2012).

iii. Rôle dans l'inflammation du tissu adipeux

Comme mentionné précédemment, l'obésité s'accompagne d'un état « d'inflammation de bas grade » du TA, marqué par une infiltration accrue de macrophages et la commutation d'un profil anti-inflammatoire (M2) vers un profil pro-inflammatoire (M1). Une production élevée de cytokines pro-inflammatoires, telles que TNF-α et IL-6 dans ce tissu, contribue également à l'insulinorésistance systémique. Dans ce contexte, l'activation de CB1R dans les adipocytes et les cellules de la FSV joue un rôle clé en favorisant la production de cytokines pro-inflammatoires et le recrutement/activation de macrophages dans le TA (Rakotoarivelo et al., 2021).

En effet, dans des modèles murins d'obésité, le blocage pharmacologique de CB1R par le rimonabant ou par des antagonistes de seconde génération réduit l'infiltration des macrophages de type M1 dans le TA (Mehrpouya-Bahrami et al., 2019), diminue l'expression de marqueurs pro-inflammatoires (TNF-α, IL-6, IL-10) (Miranville et al., 2010) et atténue la polarisation de Th1, en particulier *via* la régulation de miARN et de molécules de co-signalisation telles que Delta-like-4 (Dll4) dans les macrophages (Miranda et al., 2019). À l'inverse, des données plus récentes montrent que l'invalidation totale de CB1R oriente la polarisation des macrophages vers un phénotype moins inflammatoire. Cependant, la double invalidation de CB1R et de l'adiponectine restaure un profil plus inflammatoire du TA, suggérant que l'effet anti-inflammatoire du blocage de CB1R dépend au moins en partie de la régulation de l'adiponectine (Wei et al., 2021). Ces observations indiquent que la

régulation de l'inflammation semble être contrôlée en partie simultanément par les adipokines et les ECs.

Les conséquences de CB1R sur l'inflammation et le remodelage du TA ont été particulièrement bien illustrées dans les modèles de délétion spécifique de CB1R dans les adipocytes. En effet, l'étude de Ruiz de Azua et al. a montré que l'invalidation inductible de CB1R dans les adipocytes à l'âge adulte protège les souris de l'obésité induite par un régime riche en graisses et améliore le phénotype métabolique (réduction de masse grasse, amélioration de la sensibilité à l'insuline et augmentation de la dépense énergétique). Sur le plan tissulaire, ces souris présentent un remodelage spécifique des dépôts adipeux, avec une diminution de la capacité de stockage énergétique, une augmentation du brunissement du TA blanc et une infiltration accrue de macrophages de type M2, en parallèle d'un renforcement d'un tonus sympathique du TA. Enfin, ces changements de polarisation macrophagique et de programme transcriptionnel surviennent précocement, avant même l'apparition de différences significatives de poids corporel. Ces résultats indiquent que la perte des CB1R adipocytaires initie une reprogrammation immunitaire et métabolique du TA, qui n'est pas une simple conséquence de la diminution de masse grasse (Ruiz de Azua et al., 2017).

Enfin, plusieurs travaux suggèrent que l'inhibition de CB1R dans le TA s'accompagne d'une amélioration du remodelage vasculaire et de la fibrose. Dans des modèles murins d'obésité, le blocage de CB1R réduit l'expression de gènes pro-fibrotiques et de composants de la matrice extracellulaire dans le TA (Mehrpouya-Bahrami et al., 2017). De plus, la formation de couronnes macrophagiques autour des adipocytes nécrotiques diminue, ce qui se traduit par un remodelage tissulaire plus sain et une moindre rigidité du TA (Mehrpouya-Bahrami et al., 2017).

Pris ensemble, ces résultats montrent que CB1R agit comme un modulateur important du dialogue entre adipocytes, macrophages et système nerveux sympathique, et que son activation chronique favorise un remodelage pathologique du TA : inflammatoire, fibrosant et surstockage lipidique pathologique, alors que sa délétion ou son blocage oriente le tissu vers un état plus anti-inflammatoire, métaboliquement actif et protecteur.

iv. Rôle du SEC dans l'adipogenèse et le contrôle des précurseurs adipeux

De nombreux éléments expérimentaux indiquent que le SEC joue un rôle régulateur majeur dans l'adipogenèse. Bien que la majorité des études *in vitro* se soit focalisée sur la différenciation des préadipocytes en adipocytes matures plutôt que sur l'engagement initial des ADSC, il est désormais établi que CB1R est exprimé dès les premiers stades de la lignée adipeuse. En effet, CB1R est détecté dans l'ensemble des cellules de la FSV, parfois à un niveau d'expression supérieur à celui observé dans

les adipocytes matures (Bennetzen et al., 2010; Lee et al., 2009) et son expression augmente progressivement au cours du processus de différenciation adipocytaire (Pagano et al., 2008).

L'activation de CB1R et l'action des ECs favorisent globalement la différenciation adipocytaire et le stockage lipidique, comme le démontrent divers modèles cellulaires murins et humains. Dans un travail fondateur, Bouaboula et ses collaborateurs (2005) ont démontré que l'AEA déclenche la différenciation des préadipocytes 3T3-L1 en se liant directement au domaine de liaison au ligand de PPARγ. Cette activation transcriptionnelle dose-dépendante induit l'accumulation de gouttelettes lipidiques et augmente l'expression des gènes cibles de PPARγ (C/EBPα, aP2/FABP4, périlipine A, adiponectine), des effets totalement abolis par l'antagoniste spécifique de PPARγ (GW9662) (Bouaboula et al., 2005). L'activation de CB1R par des lipides dérivés comme le N-oléoyl-glycine (OLGly) stimule également la différenciation des 3T3-L1 en augmentant l'expression de PPARγ et d'aP2. Cet effet pro-adipogénique requiert l'activation de CB1R ainsi que de la voie PI3K/Akt, puisque le rimonabant ou la wortmannine (inhibiteur de la voie PI3K/Akt) abolissent la différenciation induite par l'OLGly (Wang et al., 2015). Dans les ADSC humaines, l'exposition aux ECs (AEA, 2-AG) ou à des agonistes comme le WIN55,212-2 renforce l'engagement adipogénique. Cela se traduit par une hausse de l'expression de PPARγ, de FABP4 et des gènes de la lipogenèse (*Fas, Acc, Lpl, Scd1, Dgat2*), associée à une forte accumulation de triglycérides (Bellocchio et al., 2008; Pagano et al., 2008; Ruhl et al., 2021, 2020).

Au-delà de la simple accumulation de lipides, le SEC module l'équilibre fonctionnel des précurseurs adipeux et leur dialogue avec le microenvironnement tissulaire. Ainsi, dans les préadipocytes 3T3-F442A, l'antagonisme de CB1R par le rimonabant freine la prolifération cellulaire tout en augmentant l'expression de marqueurs de maturation tardive (adiponectine, GAPDH) et en ralentissant l'accumulation de grosses gouttelettes lipidiques (*via* une inhibition de la voie ERK1/2 - p42/44 MAPK). CB1R apparaît ainsi comme un régulateur du compromis entre l'expansion du pool de précurseurs et leur maturation fonctionnelle. De plus, lors de la différenciation des ADSC humaines, l'activation de CB1R par le WIN55,212-2, l'AEA ou le 2-AG stimule la sécrétion de facteurs paracrines majeurs tels que le VEGF, le TGF-β1, l'IGF-1 et le HGF (Ruhl et al., 2021, 2020). Le SEC relie ainsi directement l'adipogenèse à une réponse pro-angiogénique et pro-régénérative au sein du compartiment stromal.

Bien que l'axe CB1R /PPARγ soit prédominant et pro-adipogénique, certains ligands apparentés au SEC peuvent exercer des effets opposés en recrutant d'autres récepteurs. Par exemple, le N-arachidonoyl-dopamine, bien qu'agoniste CB1R, inhibe la différenciation des ADSC humaines *via* l'activation concomitante du récepteur canal TRPV1, ce qui interfère défavorablement avec la

signalisation PPARγ (Ahn et al., 2015). La prostamide F2α, un dérivé cyclooxygénase-2 de l'AEA, exerce également un effet anti-adipogénique marqué dans les préadipocytes (Silvestri et al., 2013).

Ces observations soulignent que si le tonus CB1R stimule l'adipogenèse, l'activation conjointe de voies alternatives (TRPV1, prostamides) peut moduler ou inverser cette réponse au sein du TA.

5. Les nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant les CB1R périphériques

Les effets métaboliques périphériques favorables observés par le blocage de CB1R ont clairement validé le SEC comme cible thérapeutique pour lutter contre l'obésité et le syndrome métabolique. Cependant, l'échec clinique des composés de première génération a montré qu'un antagonisme non sélectif, affectant le système nerveux central, est incompatible avec une utilisation prolongée. Dans ce contexte, des stratégies plus récentes ont cherché à conserver les bénéfices métaboliques du blocage de CB1R, tout en améliorant sa sélectivité pharmacologique, sa distribution tissulaire et sa tolérance.

Ces nouvelles approches reposent notamment sur le développement de composés à pénétration cérébrale limitée, de ligands à activité fonctionnelle contrôlée, d'anticorps monoclonaux dirigés contre CB1R et d'inhibiteurs ciblant sélectivement certaines voies de signalisation en aval du récepteur (Cinar et al., 2020; Pointeau et al., 2025b). L'objectif n'est plus d'inhiber globalement CB1R, mais de moduler précisément ses fonctions pathologiques selon le tissu, le compartiment cellulaire ou la voie de signalisation impliquée. Ces nouvelles stratégies thérapeutiques ont fait l'objet d'une revue détaillée publiée au cours de cette thèse, dans laquelle je suis deuxième auteur (**Annexe 1**)

a. Les composés de deuxième génération

À la suite du retrait du rimonabant et des autres composés de première génération, le développement pharmacologique s'est orienté vers des composés de deuxième génération visant à préserver les bienfaits métaboliques du blocage de CB1R, en évitant les effets psychiatriques liés au blocage central. Ces composés de deuxième génération reposent principalement sur deux stratégies :

- Des antagonistes ou agonistes inverses restreints à la périphérie, dont la pénétration à travers la barrière hémato-encéphalique est impossible par une augmentation de la polarité ou de la masse moléculaire.
- Des antagonistes neutres conçus pour bloquer le récepteur sans induire la signalisation inverse, comme le faisait le rimonabant, afin d'éviter le risque de déstabilisation des circuits centraux de l'humeur.

Ces composés ciblent préférentiellement les CB1R exprimés dans les tissus métaboliques périphériques, notamment les compartiments impliqués dans la stéatose, la résistance à l'insuline, la dyslipidémie et la néphropathie diabétique décrites précédemment (Cinar et al., 2020).

- AM6545

Dérivé structural du rimonabant, l'AM6545 constitue également l'un des composés les plus étudiés. Il se distingue toutefois par son profil pharmacologique d'antagoniste neutre, bloquant le récepteur par simple compétition sans exercer d'activité agoniste inverse. AM6545 se lie à CB1R avec un Ki de l'ordre de 3 nM et présente une faible affinité pour CB2R (Ki ≈ 600 nM chez la souris), permettant une inhibition préférentielle de CB1R périphérique (Tam et al., 2010). Dans différents modèles de souris obèses, il réduit la prise alimentaire, le poids corporel et la masse grasse sans affecter la masse maigre, tout en améliorant de nombreux paramètres métaboliques, tels que la dyslipidémie, l'intolérance au glucose, l'hyperinsulinémie, les dérégulations hormonales et la stéatose hépatique (Tam et al., 2010). Une étude récente a également mis en évidence son action multi-organes, impliquant notamment la modulation des voies de signalisation ERK et mTOR dans le foie, le TA et le muscle, ce qui pourrait contribuer à ses effets sur le métabolisme énergétique et l'utilisation des substrats (Dalle et al., 2024). Cependant, malgré ces résultats prometteurs, sa très faible solubilité et sa biodisponibilité orale limitée ont freiné son développement clinique. L'AM6545 demeure néanmoins un outil expérimental de référence pour l'étude des fonctions métaboliques des CB1R périphériques et pour l'évaluation de stratégies visant à dissocier les bénéfices métaboliques du blocage de CB1R de ses effets centraux indésirables.

- JD5037

Ce composé est un agoniste inverse de CB1R, fortement restreint à la périphérie, qui a été largement caractérisé dans des modèles d'obésité et de syndrome métabolique. Structurellement apparenté à l'ibipinabant originalement développé par Solvay, le JD5037 se lie à CB1R avec un Ki de l'ordre de 0,35 nM et présente une très faible affinité pour CB2R (Ki > 700 nM chez la souris), permettant une inhibition préférentielle de CB1R périphérique (Tam et al., 2012). En effet, chez des souris obèses résistantes à la leptine, l'administration de JD5037 réduit l'apport alimentaire, le poids corporel, abaisse les concentrations circulantes de leptine, restaure la sensibilité centrale à la leptine en favorisant la clairance rénale et hépatique de cette hormone (Tam et al., 2012). De plus, il améliore la tolérance au glucose, la stéatose hépatique et le profil lipidique (Chorvat et al., 2012). Administré au stade prédiabétique ou après le développement d'un diabète de type 2, il a permis de prévenir ou d'inverser partiellement la pathologie (Jourdan et al., 2013), ainsi que la néphropathie diabétique en réduisant l'inflammation et le stress oxydant dans les tubules proximaux du rein (Jourdan et al., 2014).

Enfin, le JD5037 possède une plus forte affinité que le rimonabant pour une isoforme du CB1R, fortement exprimée dans les cellules β-pancréatiques, stimulant ainsi la sécrétion d'insuline (González-Mariscal et al., 2016a). De plus, il semble que cette molécule s'est montrée très efficace pour lutter contre des formes sévères d'obésité dans le cadre du syndrome de Prader-Willi (Knani et al., 2016). Globalement le JD5037 illustre l'idée qu'un antagonisme exclusivement périphérique de CB1R peut à la fois corriger les anomalies métaboliques systémiques et exercer des effets ciblés au niveau de plusieurs organes sans provoquer de comportements dépressifs chez l'animal. Actuellement, ce composé est toujours en développement clinique par la société Corbus Pharmaceuticals (CRB-4001) pour le traitement de l'obésité et des maladies associées.

b. Les composés de troisième génération

Les antagonistes et agonistes inverses de CB1R de troisième génération constituent une nouvelle classe de molécules restreintes à la périphérie. Ces nouvelles molécules hybrides sont poly-ciblées et conçues pour cibler CB1R en périphérie tout en modulant simultanément d'autres voies clés de l'inflammation, du stress oxydant ou de la fibrose. L'objectif de ces composés est d'obtenir des effets synergiques permettant de renforcer l'efficacité thérapeutique (Cinar et al., 2020).

- MRI-1867 – INV101 - zevaquenabant

MRI-1867 (également connu sous le nom d'INV 101 ou zevaquenabant) est une molécule hybride agissant à la fois comme un agoniste inverse périphérique et comme un inhibiteur d'iNOS. Dans des modèles murins de fibrose hépatique, MRI-1867 réduit de façon marquée la fibrose avec une efficacité supérieure à celle obtenue par le rimonabant ou par l'inhibiteur sélectif d'iNOS administrés séparément. En effet, le traitement diminue la production de collagène, l'expression de marqueurs profibrotiques, l'activation de l'inflammasome NLRP3 et l'infiltration macrophagique. Ces résultats sont également observés chez les souris dépourvues de CB1R, démontrant que la composante iNOS contribue de manière autonome à l'effet anti-fibrosant (Cinar et al., 2016).

Sur le plan métabolique, MRI-1867 a également été évalué dans l'obésité et la dyslipidémie diabétique. Chez des souris rendues obèses par un régime riche en graisses, le traitement par cette molécule améliore la stéatose hépatique, réduit les taux de triglycérides plasmatiques, diminue la sécrétion hépatique de VLDL et augmente l'expression hépatique du récepteur au LDL, tout en abaissant les niveaux circulants de PCSK9. L'analyse mécanistique montre que la diminution de la sécrétion de VLDL est attribuable au blocage de CB1R, alors que la baisse de PCSK9 et l'augmentation du LDLR résultent de l'inhibition d'iNOS *via* un mécanisme dépendant de mTORC1, illustrant à nouveau la complémentarité des deux cibles au sein d'une même molécule (Roger et al., 2020).

Enfin, dans des modèles d'insuffisance rénale chronique induite par l'obésité, MRI-1867 réduit l'albuminurie, la fibrose rénale, l'inflammation et le stress oxydant avec une amélioration des lésions glomérulaires et tubulaires (Dao and François, 2021; Udi et al., 2020).

Actuellement, ce composé est en cours de développement clinique par la société Novo Nordisk et a déjà complété une étude clinique de phase 1 (NCT04531150).

- MRI-1891 – INV202 - Monlunabant

MRI-1891 (également connu sous le nom d'INV202 ou Monlunabant) est un antagoniste de CB1R structurellement dérivé de l'ibipinabant, modifié pour empêcher son passage à travers la barrière hémato-encéphalique. La particularité de cette molécule est qu'elle présente une signalisation biaisée en faveur de la β-arrestine-2 par rapport à la voie classique des protéines G.

Dans des modèles murins d'obésité induite par un régime riche en graisses, MRI-1891 réduit la prise alimentaire et le poids corporel, améliore la tolérance au glucose et corrige l'insulinorésistance musculaire. Des comparaisons chez des souris sauvages et des souris KO pour β-arrestine-2 révèlent que l'amélioration de l'insulinorésistance musculaire dépend spécifiquement de la signalisation β-arrestine-2 (Liu et al., 2021). Cette propriété est importante, car des études chez la souris montrent que ce biais β-arrestine-2 est associé à une absence d'effets anxiogènes ou de troubles comportementaux typiques des antagonistes centraux de CB1R, même à des doses produisant une occupation partielle des récepteurs cérébraux, contrairement au rimonabant qui induit clairement de l'anxiété dans les mêmes conditions (Liu et al., 2021).

Au niveau pancréatique, MRI-1891 a été montré capable d'augmenter la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose dans des îlots de Langerhans humains et murins, avec une efficacité comparable à celle d'un agoniste GLP-1 (exentine-4), tout en protégeant les cellules β humaines d'une apoptose induite par des cytokines pro-inflammatoires (Ghosh et al., 2023).

Dans un modèle murin de néphropathie diabétique, le potentiel du composé MRI-1891 a été évalué au sein de l'équipe. Il a été montré qu'il améliore plusieurs paramètres clés, comme la filtration glomérulaire, l'albuminurie et l'amélioration des lésions tubulaires tout en réduisant les processus inflammatoires, oxydatifs et fibrotiques (Jacquot et al., 2023). Récemment, au sein du laboratoire, il a été montré que la combinaison de MRI-1891 avec l'empagliflozine, un inhibiteur sélectif du transporteur SGLT2, exerce des effets bénéfiques synergiques sur la glycémie, l'albuminurie et plusieurs lésions rénales caractéristiques de la néphropathie diabétique, ainsi que sur l'inflammation et la fibrose dans cette pathologie par rapport aux composés seuls (Pointeau et al., 2025a).

Deux études cliniques de phase II sont actuellement en cours. La première (NCT05514548) évalue ses effets néphroprotecteurs, et la seconde (NCT05891834) s'intéresse à son efficacité dans le cadre de l'obésité. Les résultats préliminaires sont prometteurs : après 16 semaines de traitement à 10 mg/j, les participants obèses ont perdu en moyenne 6,4 kg. Toutefois, des effets indésirables ont été rapportés chez 69 % des participants, conduisant à l'arrêt du traitement chez 13 % d'entre eux. Des doses plus élevées ont également été évaluées, mais les bénéfices supplémentaires observés sur la perte de poids sont restés limités, tandis que la fréquence et l'intensité des effets indésirables ont augmenté de manière significative (Knop et al., 2025).

c. Les anticorps monoclonaux

Les anticorps monoclonaux (AcM) dirigés contre CB1R représentent également une stratégie récente visant à tirer parti du blocage périphérique de CB1R tout en évitant les effets centraux, grâce à leur incapacité à franchir la barrière hémato-encéphalique.

Sur le plan thérapeutique, le développement le plus avancé est le nimacimab (aussi appelé RYI-018 ou JNJ-2463). Il s'agit d'un AcM humanisé de type IgG4 ciblant CB1R, se comportant comme un modulateur allostérique négatif de CB1R, réduisant l'efficacité fonctionnelle des agonistes sans occuper le site de fixation des ligands. Il fait actuellement l'objet d'essais cliniques de phase I (NCT03261739) et phase IIa (NCT03900325 et NCT06577090), évaluant notamment son intérêt dans la stéatose hépatique et la gastroparésie diabétique, deux pathologies impliquant une activation périphérique excessive du CB1R. La combinaison du nimacimab avec le sémaglutide semble induire un effet synergique sur la perte de poids après 26 semaines de traitement, avec une amélioration du ratio masse maigre/masse grasse et sans effets secondaires supplémentaires. Un second AcM anti-CB1R périphérique a été développé sous le nom de GFB-024. Les premières données précliniques suggèrent que cette molécule pourrait ralentir la progression de la néphropathie diabétique en réduisant la dysfonction des podocytes et la fibrose rénale.

Enfin, bien qu'aucun AcM anti-CB1R ne soit encore approuvé, ces approches illustrent une nouvelle voie thérapeutique complémentaire et même si les données précliniques ne sont toujours pas disponibles, des résultats récents renforcent la pertinence de cette stratégie. En effet, des études pharmacocinétiques et pharmacodynamiques indiquent que le blocage par le nimacimab suffit à induire une perte de poids, ainsi qu'une amélioration de la tolérance au glucose et de l'hyperinsulinémie chez les souris obèses sans implication du système nerveux central (Avcilar, 2025).

OBJECTIFS DE THÈSE

Il est aujourd'hui clairement établi que l'obésité s'accompagne d'une hyperactivité du SEC caractérisée par une élévation des taux d'ECs circulants et tissulaires. Si cette suractivation est reconnue pour stimuler la prise alimentaire *via* l'activation des centres hypothalamiques de l'appétit et favoriser la prise de poids, ses effets dépassent largement le cadre du système nerveux central. En périphérie, le SEC agit comme un régulateur clé du métabolisme lipidique en favorisant directement le stockage énergétique.

Parmi ces tissus périphériques, le TA occupe une place centrale dans la physiopathologie de l'obésité, à la fois comme principal réservoir de stockage lipidique et comme organe endocrine et paracrine complexe. Les travaux présentés dans l'introduction montrent que le TA blanc est doté d'une grande plasticité structurale et fonctionnelle, reposant sur l'équilibre entre hypertrophie des adipocytes matures et hyperplasie *via* l'adipogenèse. En contexte d'obésité, ce remodelage s'accompagne d'altérations de la niche stromale, d'hypoxie, d'inflammation chronique de bas grade et de dysfonction endocrine, qui participent à l'installation d'un syndrome métabolique. De plus, le TA semble également être une source importante d'ECs, produits par les adipocytes et par les cellules de la FSV. Des données expérimentales suggèrent que les enzymes de synthèse et de dégradation des ECs sont modifiées au sein du TA au cours de l'obésité, et que des explants de TA issus de souris nourries par un régime riche en graisses présentent une production augmentée d'ECs.

Ces observations renforcent l'idée que le TA participe activement à la régulation du tonus endocannabinoïde périphérique en situation de suralimentation. Toutefois, il n'existe pas, à ce jour, de quantification systématique des ECs dans les différents dépôts adipeux en conditions pathologiques chez l'Homme, et les mécanismes de signalisation impliqués dans cette surproduction, ainsi que la distinction entre TAV et TASC, restent encore insuffisamment caractérisés.

Objectif 1 : Caractériser la production d'endocannabinoïdes par les différents dépôts adipeux en conditions pathologiques. Cet objectif consistait à comparer le tonus endocannabinoïde du TAV et du TASC et à déterminer si l'expansion du compartiment viscéral, plus fortement associée aux complications métaboliques, s'accompagne d'une signature endocannabinoïde spécifique. Il visait également à identifier les variations de production des ECs en fonction du statut métabolique des patients (sujets sains, obèses ou obèses et atteints de diabète de type 2) ou des animaux étudiés (contrôles et obèses). Enfin, il avait pour objectif d'explorer, à partir des résultats obtenus et des données de la littérature, les mécanismes de signalisation susceptibles d'être impliqués dans ces modifications de la production d'ECs.

Par ailleurs, la littérature montre que les ECs peuvent moduler plusieurs fonctions clés du TA, notamment la lipolyse, la lipogenèse et l'activité endocrinienne. Quelques études se sont intéressées plus spécifiquement à l'adipogenèse, en suggérant que les ECs favorisent la différenciation de progéniteurs adipocytaires déjà engagés (préadipocytes) en adipocytes matures. En revanche, le rôle du SEC dans les phases précoces d'engagement des ADSC vers la lignée adipogénique (préadipocytes) demeure largement méconnu. Il reste encore à déterminer dans quelle mesure les ECs produits localement par le TA peuvent influencer le destin des ADSC, orienter leur engagement vers la lignée adipocytaire plutôt que vers d'autres lignées et comment ces régulations s'inscrivent dans les mécanismes d'hyperplasie et d'hypertrophie observés au cours de l'obésité.

Dans ce contexte, comprendre le rôle du SEC dans la production d'ECs par les différents dépôts adipeux, ainsi que dans la modulation de l'engagement adipogénique des ADSC, apparaît essentiel pour mieux saisir les mécanismes qui sous-tendent l'apparition, le maintien et les caractéristiques des physiopathologies associées à l'obésité, notamment le diabète de type 2.

Objectif 2 : Évaluer l'impact des endocannabinoïdes sur l'engagement adipocytaire des ADSC. Ce projet consistait à mettre en place un protocole permettant d'étudier l'engagement adipogénique et la différenciation adipocytaire dans des modèles *in vitro* utilisant des ADSC issues du TAV ou des lignées préadipocytaires. Il visait ensuite à déterminer si l'exposition aux ECs modifiait l'engagement adipogénique des ADSC ainsi que la différenciation des préadipocytes en adipocytes matures. Enfin, il cherchait à identifier les voies de signalisation potentiellement impliquées dans la régulation de ces processus, afin de mieux comprendre le rôle du SEC dans le renouvellement et l'expansion du TA.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Objectif 1 - Caractérisation de la production d'endocannabinoïdes par les différents dépôts adipeux dans des conditions pathologiques

1. Introduction

Cette première partie de la thèse s'intéresse au rôle du SEC au sein du TA blanc, et en particulier à la contribution des différents dépôts adipeux à la surproduction d'ECs en situation d'obésité et de diabète de type 2. Les travaux de la littérature montrent que les niveaux circulants d'ECs sont positivement corrélés à la masse grasse et au risque cardiométabolique, suggérant un rôle majeur du TA comme une source importante de ces médiateurs lipidiques. Parallèlement, le phénotype d'obésité viscérale, caractérisé par une expansion préférentielle du TAV, est reconnu comme fortement associé à l'insulinorésistance et aux complications métaboliques, alors que l'expansion du TASC apparaît plus neutre ou parfois protectrice.

Le SEC adipocytaire exerce des effets autocrines et paracrines *via* l'activation de CB1R, contribuant à l'expansion du TA et altérant la fonction des adipocytes. Les deux principaux ECs étudiés dans ce travail sont le 2-AG et l'AEA, dérivés de voies biosynthétiques et cataboliques bien caractérisées impliquant notamment DAGL, MAGL, NAPE-PLD et FAAH. Toutefois, bien que le TA blanc soit considéré comme un producteur important du pool circulant d'ECs, les données disponibles restent incertaines en ce qui concerne la capacité de production locale des différents dépôts, et en particulier la distinction entre TAV et TASC dans des contextes physiopathologiques.

Les travaux présentés dans cette partie ont fait l'objet d'un article accepté pour publication dans le journal *Diabetologia*, intitulé « Visceral fat endocannabinoid overproduction is associated with insulin resistance and tissue dysfunction in mice and humans ». Ces travaux visent à identifier quels dépôts adipeux (viscéral contre sous-cutané) présentent une surproduction d'ECs et déterminer si cette dérégulation est principalement liée à l'obésité elle-même ou à l'insulinorésistance qui l'accompagne. Pour cela, nous avons utilisé une approche intégrée combinant des modèles murins soumis à un régime normocalorique ou hyperlipidique et des échantillons humains de TAV et de TASC provenant de sujets contrôles, obèses non diabétiques et obèses diabétiques de type 2. La production d'ECs a été quantifiée *ex vivo* à partir d'explants adipeux, et ces données fonctionnelles ont été mises en relation avec des profils transcriptomiques détaillés afin de caractériser les signatures inflammatoires, métaboliques et de signalisation associées.

2. Article

Diabetologia
https://doi.org/10.1007/s00125-026-06886-0

ARTICLE



Visceral fat endocannabinoid overproduction is associated with insulin resistance and tissue dysfunction in mice and humans

Romain Barbosa[1] · Julia Leemput[1] · Patricia Passilly-Degrace[1] · Océane Pointeau[1] · Chloé Buch[1] · Jean-Paul Pais de Barros[2] · Maéva Loriot[1] · Amélie Lainé[1] · Lukas Buet[1] · Pablo Ortega-Deballon[3] · Bruno Vergès[1,4] · Laurent Demizieux[1] · Tony Jourdan[1] · Pascal Degrace[1]

Received: 16 June 2026 / Accepted: 31 July 2026
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2026

Abstract

Aims/hypothesis Visceral adipose tissue (VAT) dysfunction is a major determinant of obesity-related metabolic complications. Circulating endocannabinoids (ECs) correlate positively with visceral fat mass and metabolic risk, suggesting that adipose tissue-derived ECs may contribute to adipocyte dysfunction and systemic metabolic alterations. Although adipocytes possess the enzymatic machinery for EC synthesis, the depot-specific regulation of EC production and the contribution of insulin resistance to EC overproduction in metabolic diseases remain poorly defined.

Methods We quantified the dynamic production of the major ECs 2-arachidonoylglycerol (2-AG) and anandamide (AEA) and related *N*-acylethanolamines (NAEs) using ex vivo explants of VAT and subcutaneous adipose tissue (SAT) from obese mice and from individuals with obesity but without type 2 diabetes and those with both obesity and type 2 diabetes compared with their controls. Paired VAT and SAT samples from the same individuals were analysed. Mechanistic regulation of EC production was explored using pharmacological modulation, cannabinoid receptor type 1-deficient mice and cross-species transcriptomic profiling of VAT.

Results 2-AG was the predominant species produced by human adipose tissue, with VAT exhibiting a 1.9-fold higher intrinsic production than SAT ($p<0.001$). Obesity alone did not significantly increase EC secretion from either depot. In contrast, VAT explants from individuals with type 2 diabetes showed an increase in EC production (1.7-fold for 2-AG [$p<0.05$] and 1.8-fold for AEA [$p<0.05$]) compared with control individuals, whereas SAT remained largely unaffected. AEA production by VAT was positively correlated with chronic glycaemic impairment ($\rho=0.4786$, $p=0.003$ for HbA_{1c}; $\rho=0.3445$, $p=0.034$ for fasting plasma glucose). Comparative transcriptomic analysis of mouse and human VAT revealed that type 2 diabetes, but not obesity alone, was associated with the repression of insulin-sensitive adipocyte genes, activation of inflammatory and lipid mediator pathways, and upregulation of purinergic receptor expression, consistent with an increased availability of lipid precursors.

Conclusions/interpretation Insulin resistance and severe adipocyte metabolic dysregulation, rather than adiposity alone, appear to be the primary determinants of depot-specific EC overproduction. Our findings identify VAT as a major source driving elevated systemic EC levels in type 2 diabetes, highlighting the therapeutic potential of specifically targeting visceral adipose EC signalling to mitigate downstream metabolic complications.

Keywords Adipose tissue · Anandamide · 2-Arachidonoylglycerol · Cannabinoid receptor 1 · Endocannabinoid system · Inflammation · Lipid metabolism · Obesity · RNA-seq · Type 2 diabetes

Abbreviations

2-AG	2-Arachidonoylglycerol
AEA	Arachidonoylethanolamide (anandamide)
AT	Adipose tissue
CB1R	Cannabinoid type 1 receptor
CON	Healthy control participants
DAG	Diacylglycerol
DAGL	Diacylglycerol lipase
EC	Endocannabinoid
ECS	Endocannabinoid system
FAAH	Fatty acid amide hydrolase
HFD	High-fat diet
LDH	Lactate dehydrogenase
MAG	Monoacylglycerol

Extended author information available on the last page of the article

Published online: 05 October 2026

Research in context

What is already known about this subject?

- Circulating endocannabinoid (EC) levels correlate with fat mass and metabolic risk, positioning white adipose tissue as a key candidate source of EC production
- Local ECs exert harmful autocrine effects via cannabinoid type 1 receptors, favouring adipose tissue expansion and impairing adipocyte functions
- Visceral adipose tissue (VAT) is more prone to inflammation and insulin resistance than subcutaneous fat, making it a major driver of cardiometabolic complications

What is the key question?

- Which adipose depots (visceral vs subcutaneous) are responsible for EC overproduction, and is this driven by obesity and/or insulin resistance?

What are the new findings?

- Insulin resistance, rather than obesity alone, is associated with visceral EC overproduction
- Human EC overproduction is specifically localised to the VAT, while the subcutaneous adipose tissue remains largely unaffected
- EC overproduction in the VAT of individuals with diabetes is associated with a profound shift toward inflammatory lipid reprogramming and insulin resistance signatures

How might this impact on clinical practice in the foreseeable future?

- These findings identify the VAT EC system as a critical therapeutic target for mitigating metabolic complications in individuals with type 2 diabetes

MAGL	Monoacylglycerol lipase
NAEs	*N*-acylethanolamines
NAPE-PLD	*N*-acylphosphatidylethanolamine-hydrolysing phospholipase D
ND	Normocaloric control diet
OD	Individuals with obesity and type 2 diabetes
OEA	Oleoylethanolamide
OND	Individuals with obesity but without diabetes
PEA	Palmitoylethanolamide
SAT	Subcutaneous adipose tissue
VAT	Visceral adipose tissue

Introduction

White adipose tissue (AT) plays a central role in the development of metabolic complications associated with obesity, including type 2 diabetes and cardiovascular risk [1, 2]. Importantly, the pathogenic impact of adiposity varies among individuals. Peripheral obesity characterised by expansion of subcutaneous AT (SAT) is often metabolically neutral or protective, whereas excess visceral adipose tissue (VAT) strongly predicts insulin resistance and cardiometabolic risk [3–5]. White AT expansion during chronic energy surplus occurs by a combination of both hypertrophy and hyperplasia. As the capacity for adipocyte recruitment and proliferation is lower in VAT than SAT depots, VAT is more prone to hypertrophy, rendering this depot particularly vulnerable to hypoxia, inflammation, insulin resistance, enhanced basal lipolysis and alteration of secretory functions [6]. Beyond classical adipokines and cytokines, AT also secretes numerous other factors, including endocannabinoids (ECs), which are a group of lipid mediators that are known to exert a wide range of biological effects. Their overproduction has been specifically implicated in the pathogenesis of insulin resistance, dyslipidaemia and chronic low-grade inflammation [7, 8]. The two principal ECs are arachidonoylethanolamide (anandamide [AEA]) and 2-arachidonoylglycerol (2-AG) [9]. AEA belongs to the group of *N*-acylethanolamines (NAEs), which also comprises non-ECs such as palmitoylethanolamide (PEA) and oleoylethanolamide (OEA) [10]. The synthesis and degradation of NAEs are mainly

catalysed by *N*-acylphosphatidylethanolamine-hydrolysing phospholipase D (NAPE-PLD) and a fatty acid amide hydrolase (FAAH), respectively [11, 12]. 2-AG is derived from hydrolysis of arachidonic acid contained in membrane inositol phospholipids through the combined action of phospholipase C and diacylglycerol lipase (DAGL), and is degraded by a monoacylglycerol lipase (MAGL) or FAAH [13]. AEA and 2-AG act as endogenous ligands of the cannabinoid type 1 receptor (CB1R), which is widely expressed in the brain and the central nervous system together with peripheral metabolic tissues, including the liver, pancreas, intestinal tract and AT [14].

Current literature positions white AT as a major contributor to the circulating EC pool. Plasma levels of 2-AG, in particular, are correlated with visceral fat mass and an unfavourable metabolic profile, including hypertriglyceridaemia and reduced HDL-cholesterol [15–17]. Circulating ECs have repeatedly been associated with obesity, type 2 diabetes and cardiometabolic risk; however, the specific relationships of 2-AG and AEA with these metabolic outcomes remain inconsistent across studies [18]. In addition, data specifically addressing the production rate of ECs by healthy and pathological depots are scarce. However, this information is of particular importance as in vitro and in vivo studies have suggested that locally secreted ECs exert deleterious autocrine effects on adipocyte metabolism via CB1R [19, 20].

In adipocytes, CB1R activation engages multiple intracellular signalling pathways. Through coupling to Gi/o proteins, CB1R suppresses adenylyl cyclase activity, reducing cAMP production and reshaping PKA-dependent processes that critically regulate adipocyte lipolysis, adipokine secretion and differentiation [21]. In parallel, CB1R activation can also stimulate MAPK/ERK signalling and intracellular calcium mobilisation [22]. These pathways are known to influence both lipid metabolism and the availability of lipid precursors, including diacylglycerol (DAG) and monoacylglycerol (MAG). By shifting substrate pools, CB1R activity may favour flux through key EC biosynthetic enzymes such as DAGL and NAPE-PLD. Taken together, these signalling pathways may regulate lipid metabolism and precursor availability, thereby modifying and potentially enhancing endogenous EC production [23].

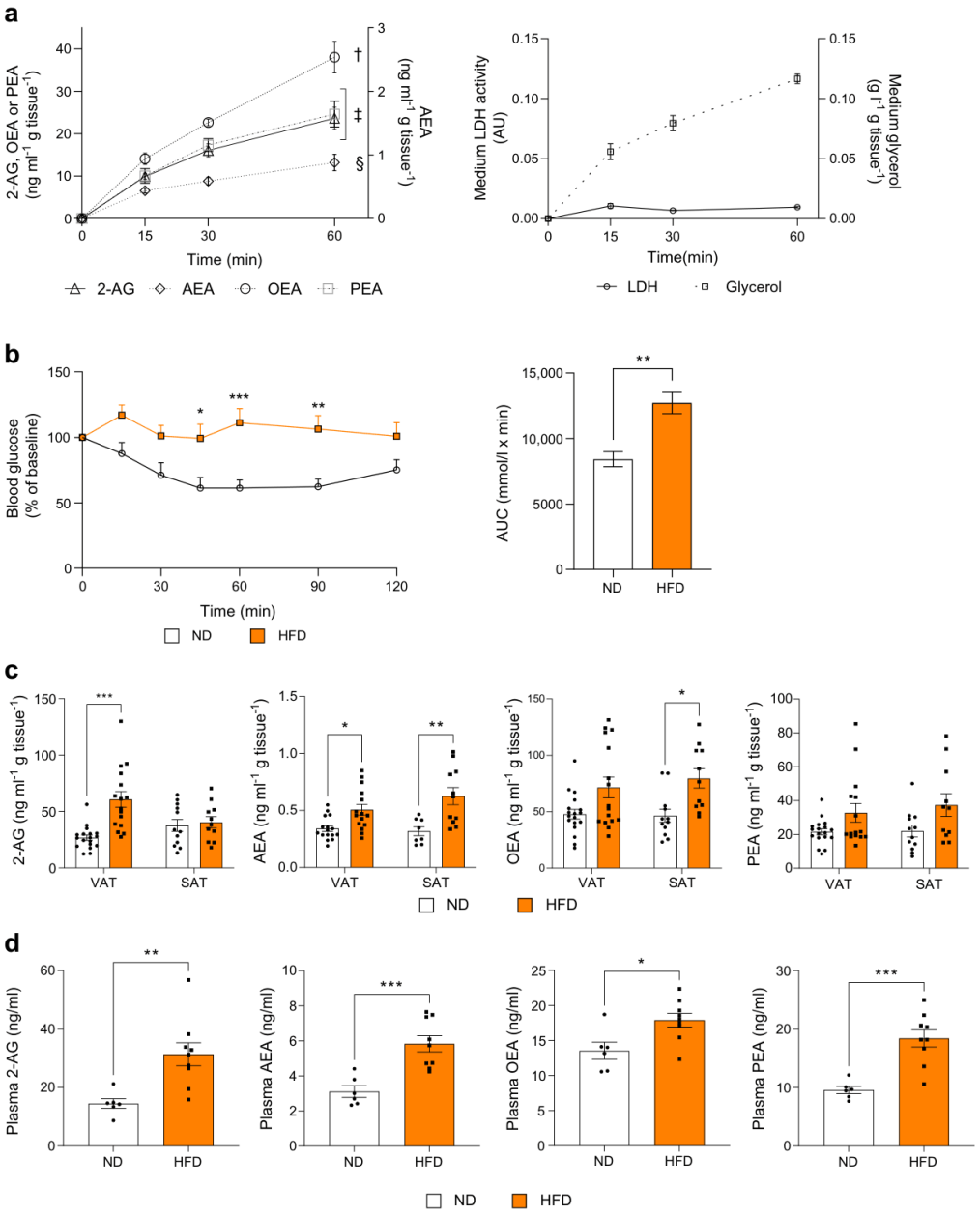
In the present study, we quantified ex vivo EC production from mouse explants and paired human VAT and SAT samples according to obesity and diabetic status. By integrating functional secretion assays with transcriptomic profiling, our objective was to determine the specific impact of adiposity vs insulin resistance on depot-specific EC production.

Methods

Animals and diets Control male C57BL/6J and global $CB1R^{-/-}$ mice (12–15 weeks old) were housed under standard conditions with ad libitum access to water and a standard chow diet (A04; UAR [Usine d'Alimentation Rationnelle], Epinay-sur-Orge, France). Obesity and marked insulin resistance were induced by feeding a subset of C57BL/6J mice a high-fat diet (HFD, 60% energy from lard) for 32 weeks, while control mice received a normocaloric diet (ND, 11% energy from lard). Mice were randomly assigned to the ND or HFD groups. The metabolic and hormonal profiles of ND and HFD mice are presented in Fig. 1 and electronic supplementary material (ESM) Table 1. Plasma from ND and HFD mice was also analysed for EC content. All experimental protocols followed official French regulations, and were approved by the local ethics committee (Comité d'Éthique en Expérimentation Animale, CE2A) with APAFIS (Autorisation de Projets utilisant des Animaux à des Fins Scientifiques) no. 36850. For details, see ESM Methods.

Human participants Participants consecutively undergoing abdominal digestive surgery at Dijon University Hospital were recruited for this cross-sectional study. General eligibility criteria included age 18–80 years, absence of major organ or chronic inflammatory diseases, and no use of glucose-lowering or lipid-lowering medications. Participants were stratified into three groups based on BMI and fasting glucose: healthy control participants (CON), individuals with obesity but without diabetes (OND) and individuals with obesity and diabetes (OD). Their clinical characteristics are detailed in Table 1. The protocol was approved by the local ethics committee (Comité de Protection des Personnes [CPP]; ClinicalTrials.gov registration no. NCT04940962), and all participants gave written informed consent. For details, see ESM Methods.

Production of ECs by murine and human AT explants Paired human white AT samples (visceral and subcutaneous) and mouse white AT samples (epididymal and subcutaneous) were dissected into 1 mm^3 fragments immediately after collection. Explants (50 mg) were incubated in complete culture medium at 37°C under gentle agitation. Where indicated, explants were acutely treated with pharmacological agents (the CB1R antagonist AM6545 and the CB1R agonist WIN55,212), stimulated with noradrenaline (norepinephrine) or ATP, or harvested 45 min after in vivo insulin administration. EC accumulation rates were monitored in the complete culture medium containing a selective MAGL inhibitor (MJN110, 100 µmol/l) to prevent rapid ex vivo 2-AG degradation. Cell viability and metabolic functionality



were validated by lactate dehydrogenase (LDH) and glycerol assays. Details regarding tissue processing and incubation protocols are provided in ESM Methods.

Extraction and quantification of ECs by mass spectrometry ECs from culture medium and plasma murine samples were extracted via acetonitrile precipitation, while ECs from human explant media underwent solid-phase extraction on SPE-C18 columns after adding ^{2}H-labelled internal standards (AEA-d4, catalogue no. #10011178; Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA). Extracts were analysed by a liquid chromatography system (Vanquish LC system) coupled to a triple quadrupole tandem mass spectrometer (Altis Plus MS/MS) operating in positive SRM mode at the DiviOmics

◂**Fig. 1** Characterisation of EC secretion by mouse AT explants, and impact of HFD. (**a**) Kinetic release of 2-AG, AEA, OEA and PEA in the culture medium of control mouse VAT explants after 15, 30 and 60 min of incubation (n=5 mice). In a parallel experiment designed to validate the procedure, LDH activity and glycerol release were measured at the same time points to assess cell membrane integrity and metabolic functionality, respectively (n=5 mice). (**b**) Mice fed a control diet (ND; 11% lard) or an HFD (60% lard) for 32 weeks were subjected to an ITT (0.75 U/kg). Blood glucose levels measured at the indicated time points following insulin administration were normalised to baseline values (t_0) (n=5 mice per group), and the corresponding AUC was calculated. (**c**) Production of 2-AG, AEA, OEA and PEA measured in the incubation medium of VAT and SAT explants collected from ND or HFD mice after 60 min of incubation (n=8–18 mice per group). (**d**) Plasma concentrations of 2-AG, AEA, OEA and PEA in ND and HFD mice (n=7–10 mice per group). Data are means ± SEM. Statistical analysis was performed using unpaired two-tailed Student's t tests or two-way ANOVA followed by Tukey's test. *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001. In (**a**), different symbols indicate significant differences between EC levels after 60 min of incubation (p<0.001). AU, arbitrary units

facility (UMS BioSanD, Université Bourgogne Europe). Comprehensive extraction procedures and LC-MS/MS settings are described in ESM Methods.

RNA sequencing and bioinformatic analysis Total RNA was extracted from human VAT biopsies (CON, n=8; OND, n=8; OD, n=7) and mouse VAT biopsies (ND, n=5; HFD, n=8). Sequencing was performed in paired-end 150 bp (PE150) mode on an Illumina high-throughput platform (BMKGene, Beijing, China). Clean reads were aligned to reference genomes (GRCh38 for human, GRCm39 for mouse) using HISAT2 [24], transcripts were assembled with StringTie [25] and differential expression analysis was conducted using DESeq2 [26]. Genes with a $|\log_2$ fold change$| \geq 1$ and adjusted p<0.05 were considered to be differentially expressed. Detailed quality control parameters, library preparation steps and software versions are provided in ESM Methods. Raw data were deposited in the NCBI database (SUB16040186 for human and SUB16182407 for mouse).

Data and statistical analysis Data are presented as means ± SEM. Normality was assessed using the Shapiro–Wilk test. All statistical tests were two-tailed. Two-group comparisons were evaluated using unpaired or paired Student's t tests (for parametric data) or Mann–Whitney or Wilcoxon tests (for non-parametric data), as appropriate. Multi-group profiles were analysed using one-way or two-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test, or the Kruskal–Wallis test with Dunn's test for non-parametric data. Clinical and transcriptomic correlations were determined using Pearson or Spearman coefficients. Statistical significance was set at p<0.05. Analyses were performed using GraphPad Prism (version 10.6.1) and Phantasus. For details, see ESM Methods. No clinical samples, animals or experimental data were excluded from the analysis, except in cases of pre-established technical failure (e.g. low RNA quality, assay detection limit). All lipidomic analyses (EC quantifications) and transcriptomic analyses were performed blinded to group allocation.

Results

Diet-induced obesity enhances 2-AG and AEA secretion from mouse VAT explants We first characterised time-dependent EC production by AT explants using VAT from control mice.

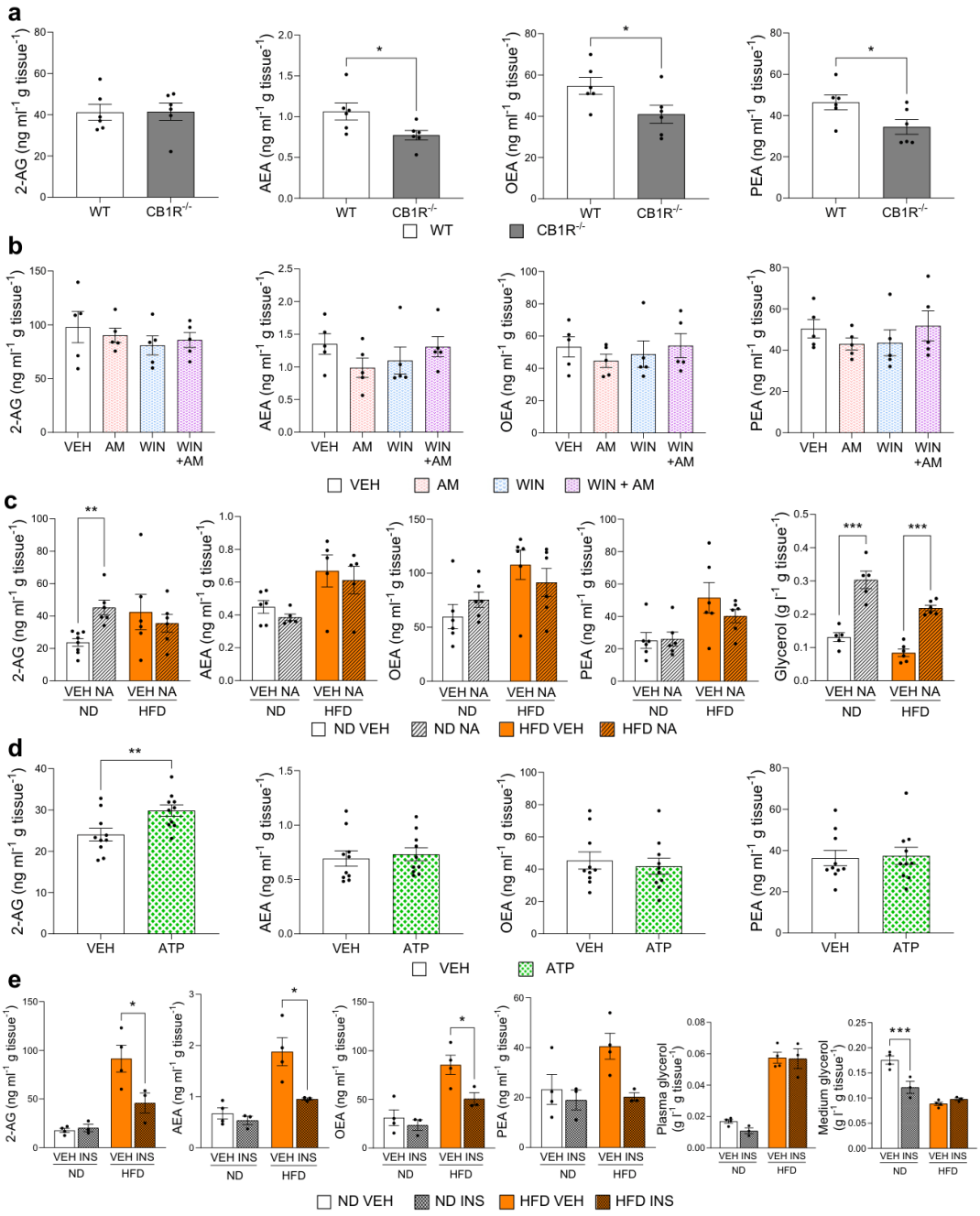
Table 1 Clinical and biochemical characteristics of study participants

	CON(n=15)	OND (n=19)	OD (n=11)	p value
Age (years)	59.20 ± 3.68[a]	56.16 ± 2.61[a]	68.50 ± 2.23[b]	0.030
Sex (male/female)	12/3	16/3	5/6	
BMI (kg/m^2)	26.29 ± 0.61[a]	34.96 ± 1.02[b]	32.86 ± 1.00[b]	<0.001
HbA_{1c} (mmol/mol)	40.10 ± 2.08[a]	38.16 ± 1.35[a]	50.83 ± 1.78[b]	<0.001
HbA_{1c} (%)	5.82 ± 0.19[a]	5.64 ± 0.12[a]	6.80 ± 0.16[b]	
Fasting glucose (mmol/l)	5.80 ± 0.22[a]	5.85 ± 0.31[a]	8.10 ± 0.37[b]	<0.001
Triacylglycerol (mmol/l)	1.53 ± 0.12	1.46 ± 0.11	1.93 ± 0.20	ns
Total cholesterol (mmol/l)	4.81 ± 0.37[a]	4.35 ± 0.23[a,b]	3.49 ± 0.26[b]	0.008
LDL-cholesterol (mmol/l)	2.84 ± 0.25[a]	2.64 ± 0.23[a,b]	1.78 ± 0.23[b]	0.005
HDL-cholesterol (mmol/l)	1.14 ± 0.03	1.04 ± 0.06	1.16 ± 0.09	ns

Data are expressed as n/n or means ± SEM

Statistical analyses were performed using one-way ANOVA for normally distributed data (age, HbA_{1c}, fasting glucose), followed by Tukey's post hoc multiple comparison test, or a Kruskal–Wallis test for non-normally distributed data (BMI, triacylglycerol, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol), followed by Dunn's post hoc test. Groups sharing the same superscript letter (a,b) are not significantly different (p<0.05)

ns, not significant



The four EC species tested (AEA, 2-AG, OEA and PEA) were detectable in the culture medium as early as 15 min, with concentrations increasing gradually over time. After 60 min, the secretion rates ranked as follows: OEA>PEA=2-AG>>AEA (Fig. 1a). Kinetic profiles of LDH activity and glycerol release in the medium revealed a striking divergence in their accumulation rates, indicating that passive cell leakage does not account for the dynamic metabolic secretion observed, including that of ECs (Fig. 1a).

◂**Fig. 2** Biochemical and pharmacological regulation of EC production in mouse VAT. (**a**) Production of 2-AG, AEA, OEA and PEA measured in the medium of VAT explants collected from wild-type and CB1R$^{-/-}$ mice (n=6 mice per group) after a 60 min incubation period. (**b**) Production of 2-AG, AEA, OEA and PEA measured in the medium of VAT explants collected from control mice in the presence of vehicle (DMSO 0.1%) or the CB1R antagonist AM6545 (1 μmol/l) or the CB1R agonist WIN55,212 (1 μmol/l) after a 60 min incubation period (n=5 mice). (**c**) Production of 2-AG, AEA, OEA, PEA and glycerol measured in the medium of VAT explants collected from ND and HFD mice in the presence of vehicle or noradrenaline (1 μmol/l) after a 60 min incubation period (n=5–8 mice). (**d**) Production of 2-AG, AEA, OEA and PEA measured in the medium of VAT explants from control mice in the presence of vehicle or ATP (300 μmol/l) after a 60 min incubation period (n=10 mice). (**e**) ND and HFD mice received an i.p. injection of insulin (0.75 U/kg; n=3) or vehicle (n=4) 45 min before VAT collection. Production of 2-AG, AEA, OEA and PEA by VAT explants was measured in the medium after a 60 min incubation. Insulin activity was controlled measuring plasma glycerol 45 min after administration and glycerol released from VAT explants at the end of the incubation period. Data are means ± SEM. Statistical analysis was performed using unpaired two-tailed Student's t tests or one-way or two-way ANOVA followed by Tukey's test. *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001. In (**c**) and (**e**), only comparisons against vehicle are indicated. AM, AM6545; INS, insulin; NA, noradrenaline; VEH, vehicle; WIN, WIN55,212; WT, wild-type

We next compared EC production over 60 min in both VAT and SAT explants collected from mice either maintained on a control diet (ND, 11% lard) or fed an HFD (60% lard) for 32 weeks. The HFD induced pronounced insulin resistance and sustained hyperinsulinaemia (Fig. 1b). Our findings revealed that EC production was not significantly different between VAT and SAT in ND explants. Importantly, VAT explants from HFD mice produced significantly higher levels of 2-AG and AEA than those from ND mice. OEA and PEA levels also increased but did not reach statistical significance. In contrast, SAT explants from HFD mice exhibited increased secretion of NAEs, but 2-AG secretion remained unchanged (Fig. 1c). Consistently, these tissue-specific changes were accompanied by elevated circulating levels of all EC species in the plasma of HFD-fed mice (Fig. 1d).

Factors influencing EC production in mouse VAT explants To investigate the role of CB1R in regulating EC production, we used VAT explants from C57BL/6J wild-type mice and CB1R$^{-/-}$ mice. In VAT, CB1R deficiency was associated with reduced basal secretion of AEA, OEA and PEA, while 2-AG levels were unaffected (Fig. 2a), suggesting that CB1R contributes to the regulation of NAE synthesis but not 2-AG production. No significant differences were observed in SAT explants (ESM Fig. 1a), highlighting a depot-specific regulation of EC synthesis by CB1R signalling. Interestingly, we observed that CB1R was significantly less expressed in the SAT compared with the VAT in wild-type mice (ESM Fig. 1b). This lower baseline expression probably explains why the loss of CB1R signalling fails to impact EC secretion in the SAT compartment.

Consistently, acute pharmacological blockade with AM6545 or activation with WIN55,212 did not alter 2-AG accumulation in the culture medium of VAT control explants. For NAEs, treatment with AM6545 induced a decrease in AEA secretion that approached statistical significance (Fig. 2b). Interestingly, this repressive effect of AM6545 on AEA levels was blunted when co-administered with the agonist WIN55,212. Conversely, exposure to WIN55,212 alone did not significantly modify the secretion of any tested EC species compared with the group treated with vehicle (DMSO 0.1%) (Fig. 2b).

As activation of β-adrenergic receptors is known to stimulate EC production in AT [27], we tested the effect of noradrenaline. In ND mice, noradrenaline markedly increased 2-AG secretion from VAT (Fig. 2c). No significant changes were observed for AEA, OEA or PEA in either depot. Interestingly, the stimulatory effect of noradrenaline on 2-AG secretion was blunted in VAT from HFD mice (Fig. 2c), suggesting that obesity impairs adrenergic regulation of 2-AG production in visceral fat.

Because EC biosynthesis is highly dependent on intracellular Ca^{2+} signalling [28], and extracellular ATP is a potent inducer of Ca^{2+} mobilisation in adipocytes [29], we next examined the effect of ATP on EC production. ATP significantly increased 2-AG secretion from VAT explants (Fig. 2d), suggesting the involvement of Ca^{2+}-dependent pathways in the regulation of 2-AG synthesis. No significant changes were observed for AEA, OEA or PEA.

Finally, to determine whether insulin acutely regulates EC secretion, ND and HFD mice were injected with insulin in vivo, and VAT was collected 45 min later to prepare explants that were then incubated for 60 min. In ND mice, insulin effectively reduced blood glucose levels (t_0=10.17 ± 0.32 vs $t_{45\ min}$=5.07 ± 0.46 mmol/l, p<0.02), plasma glycerol and glycerol release from VAT explants, confirming its metabolic activity (Fig. 2e). However, insulin treatment did not significantly alter 2-AG or AEA secretion ex vivo. By contrast, while insulin exposure was unable to reduce blood glucose (t_0=12.05 ± 0.99 vs $t_{45\ min}$=11.61 ± 1.10 mmol/l) and did not suppress subsequent plasma glycerol levels and ex vivo secretion in VAT from obese mice, it specifically blunted 2-AG and NAE production (Fig. 2e).

Increase in EC production by AT explants from individuals with obesity is dependent on diabetic status Forty-five participants (12 women and 33 men) were recruited and stratified into a control group (CON), and individuals with obesity but without diabetes (OND) and individuals with obesity and diabetes (OD). As detailed in Table 1, participants in the

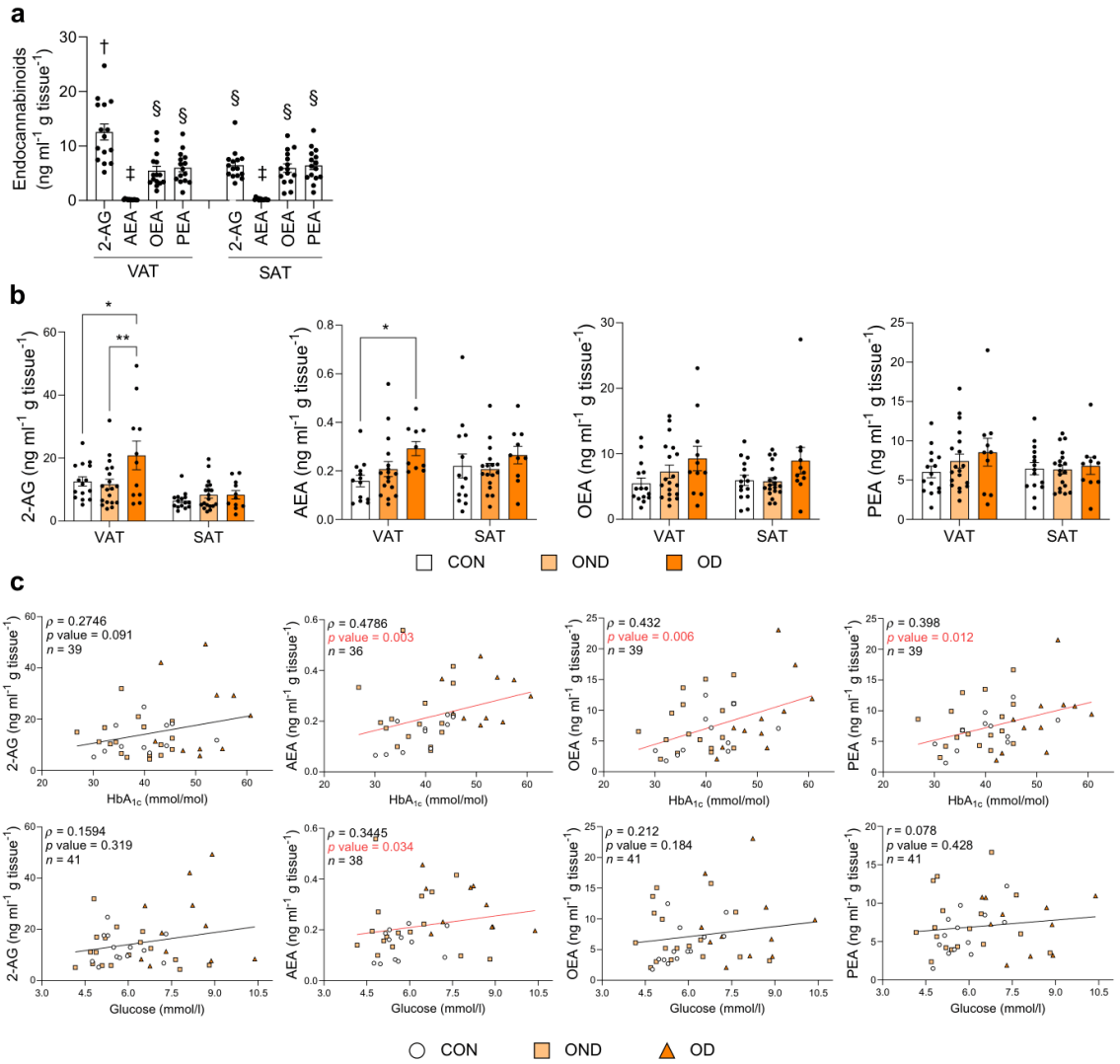


Fig. 3 Impact of obesity and type 2 diabetes on depot-specific EC secretion in human participants and correlations with HbA_{1c} and fasting glucose levels. Paired abdominal VAT and SAT explants were collected from control participants (CON), individuals with obesity but without diabetes (OND) and individuals with obesity and diabetes (OD), and incubated ex vivo to determine 60 min secretion rates of 2-AG, AEA, OEA and PEA. (**a**) Production rate of 2-AG, AEA, OEA and PEA measured in the incubation medium of control VAT and SAT explants. Data are means ± SEM (n=15). Statistical analysis was performed using two-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparisons test. Different symbols indicate significant differences between EC levels after 60 min of incubation (p<0.001). (**b**) Impact of obesity and diabetes on EC production in VAT and SAT. Data are means ± SEM (n=15, CON; n=19, OND; n=11, OD). Statistical analysis was performed using two-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparisons test. *p<0.05, **p<0.01. (**c**) The levels of ECs secreted by VAT explants from CON, OND and OD participants were plotted against individual HbA_{1c} and plasma glucose levels. Each symbol represents a single participant, and lines indicate simple linear regressions fitted to all data points. Correlation coefficients (r/ρ), p values and sample size (n) for each EC are reported (Pearson/Spearman correlation). The values/regression lines in red indicate a statistically significant correlation

OD group exhibited significantly higher fasting glucose and HbA_{1c} levels compared with those in the CON and OND groups, despite a similar BMI between the OD and OND groups, indicating a more pronounced metabolic impairment that supports the presence of insulin resistance independent of adiposity. To assess whether these clinical differences

were associated with altered adipose EC production, we next evaluated EC secretion from paired VAT and SAT explants.

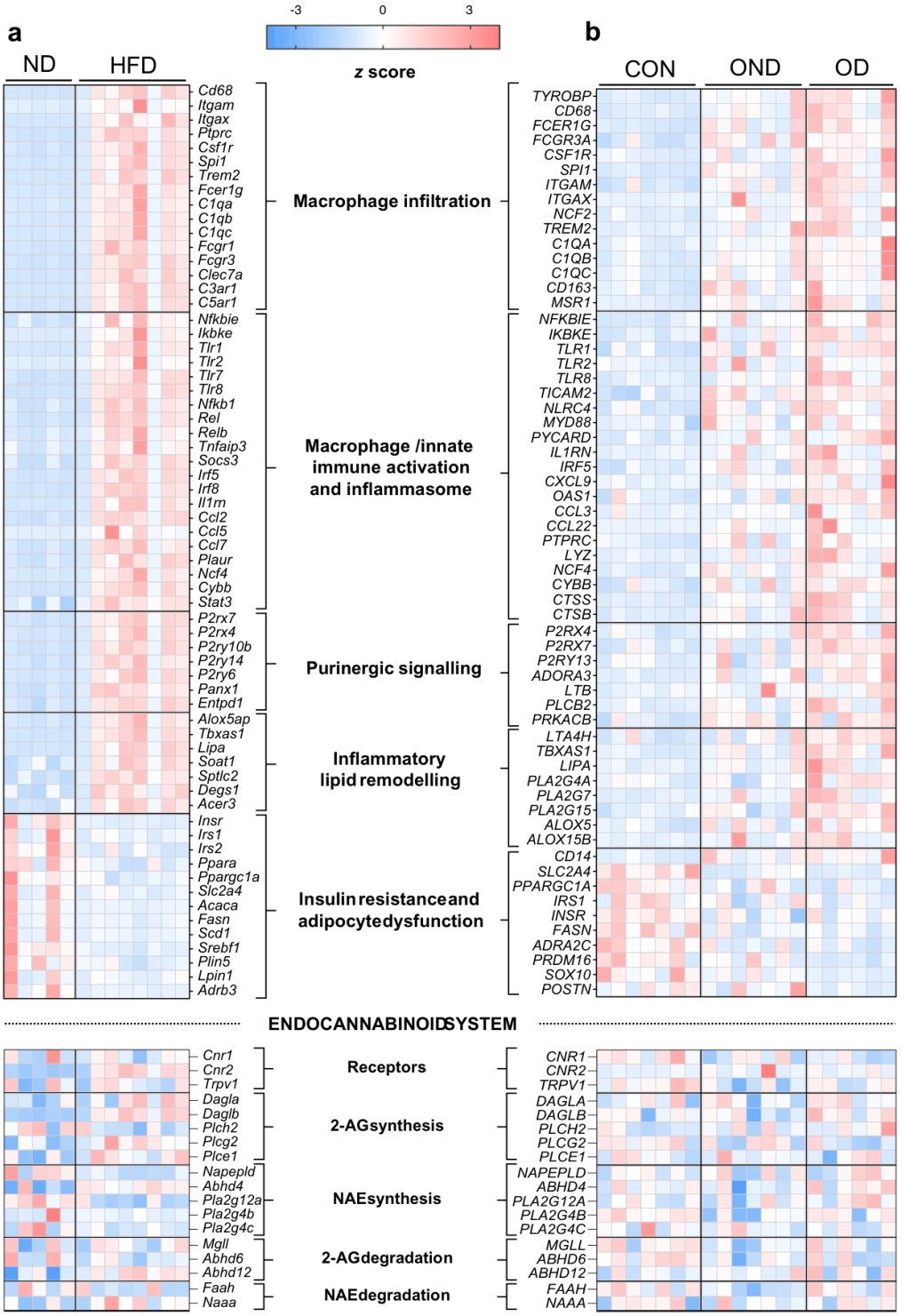
Notably, the secretion patterns differed from those observed in mice: in control participants, 2-AG was the predominant species detected in the medium (2-AG>>OEA=PEA>AEA), both for VAT and SAT (Fig. 3a). In addition, 2-AG production was 1.9-fold higher in VAT than SAT ($p<0.001$). Concerning the impact of obesity (Fig. 3b), EC secretion from OND participants did not significantly differ from that for the CON group for either depot. In contrast, VAT explants from type 2 diabetic individuals showed an increase in EC production (1.7-fold for 2-AG [$p<0.05$] and 1.8-fold for AEA [$p<0.05$]) compared with CON groups. SAT secretion remained unchanged across groups. Importantly, the VAT and SAT samples were obtained from the same donors, allowing paired intra-individual comparisons and strengthening the depot-specific interpretation of these results. To further explore the clinical relevance of these findings, correlations with glycaemic parameters were examined (Fig. 3c). NAE production from VAT explants was positively correlated with HbA_{1c} levels. In addition, AEA production also correlated with glucose. In contrast, no such association was observed for 2-AG or for SAT-derived ECs (ESM Fig. 2). These results indicate that enhanced EC production in VAT from participants with obesity is primarily associated with diabetic status rather than adiposity per se, and that only AEA production shows a direct linear correlation with chronic glycaemic impairment.

Cross-species transcriptomic profiling reveals that increased EC production is associated with severe VAT dysfunction rather than obesity alone To investigate the molecular pathways associated with altered EC production, we analysed transcriptomic profiles of VAT from mice and humans. In HFD mice, transcriptomic profiling (Fig. 4a) revealed a strong inflammatory signature characterised by increased expression of genes consistent with macrophage infiltration (*Itgax*, *Itgam*, *Cd68*, *Trem2*, *Ccl2*, *Ccl5*, *Ccl7*, *Fcgr1*, *Fcgr3*). This was accompanied by a robust innate immune activation programme, including upregulation of genes encoding TLR signalling components (*Tlr1*, *Tlr7*, *Tlr8*) and inflammatory transcriptional regulators (*Irf5*, *Nfkb1*, *Rel*, *Stat3*) and genes associated with oxidative burst capacity (*Cybb*, *Ncf4*). Evidence of inflammasome-primed and ATP-dependent inflammatory signalling was also observed, including increased expression of genes within inflammasome-related immune pathways and strong induction of genes encoding purinergic receptors (*P2rx7*, *P2rx4*, *P2ry6*) together with components of the ATP release machinery (*Panx1*, *Entpd1*). In parallel, VAT displayed marked lipid inflammatory remodelling, with upregulation of eicosanoid and lipid-processing genes (*Alox5ap*, *Tbxas1*, *Plaur*, *Lipa*, *Soat1*) and alterations in genes involved in phospholipid and sphingolipid metabolism (*Sptlc2*, *Degs1*, *Acer3*). This was associated with a pronounced adipocyte insulin-resistant phenotype, characterised by repression of insulin signalling (*Insr*, *Irs1*, *Irs2*, *Slc2a4*), lipogenesis (*Acaca*, *Fasn*, *Scd1*, *Srebf1*) and adipocyte identity genes (*Plin5*, *Lpin1*, *Adrb3*).

In human VAT (Fig. 4b), OND participants displayed a similar but milder inflammatory signature, characterised by marked changes in genes associated with macrophage infiltration together with moderate changes in genes involved in lipid handling. Details of the differential expression of selected genes are presented in ESM Table 2. In contrast, VAT from OD participants exhibited a more pronounced inflammatory and insulin-resistant profile, including upregulation of innate immune and inflammasome-related genes (*CD68*, *ITGAM*, *TLR1*, *MYD88*, *PYCARD*), increased expression of genes within lipid mediator pathways (*ALOX5*, *ALOX15B*, *TBXAS1*) and enhanced expression of genes involved in purinergic signalling (*P2RX7*, *P2RX4*, *P2RY13*). Notably, no significant transcriptional changes were detected for either *CNR1* or genes encoding canonical EC biosynthetic and degradative enzymes in either mice or humans. Interestingly, individual correlation analyses spanning all participants revealed a significant negative correlation between 2-AG production in VAT and *CNR1* mRNA expression (ESM Table 3).

Discussion

All components of the endocannabinoid system (ECS) are intrinsically expressed in adipocytes and associated stromal cells and regulate key metabolic functions, including lipogenesis, adipogenesis and insulin sensitivity [19]. Although both VAT and SAT are capable of locally producing the major ECs, direct comparisons of depot-specific EC production under physiological and pathological conditions remain limited and inconsistent [18, 30–33]. Variations in EC levels among adipose depots indicate that the local pathological environment, rather than depot identity itself, largely determines ECS tone, underscoring the need for tissue-specific approaches to characterise intrinsic depot-dependent EC regulation. Our study provides direct functional evidence that healthy AT from both mice and humans produces substantially more 2-AG than AEA, consistent with the predominant role of 2-AG in peripheral EC signalling [13]. While no depot differences were observed in mice, VAT from control participants displayed higher 2-AG production than SAT did, providing direct evidence for intrinsic depot-specific regulation in humans. This observation may contribute to the strong association between circulating 2-AG levels and visceral adiposity previously reported in clinical studies [15, 30, 34]. A major strength of our study


a
ND
HFD
-3
0
3
z score
b
CON
OND
OD
Cd68
Itgam
Itgax
Ptprc
Csf1r
Spi1
Trem2
Fcer1g
C1qa
C1qb
C1qc
Fcgr1
Fcgr3
Clec7a
C3ar1
C5ar1
Macrophage infiltration
TYROBP
CD68
FCER1G
FCGR3A
CSF1R
SPI1
ITGAM
ITGAX
NCF2
TREM2
C1QA
C1QB
C1QC
CD163
MSR1
Nfkbie
Ikbke
Tlr1
Tlr2
Tlr7
Tlr8
Nfkb1
Rel
Relb
Tnfaip3
Socs3
Irf5
Irf8
Il1rn
Ccl2
Ccl5
Ccl7
Plaur
Ncf4
Cybb
Stat3
Macrophage /innate immune activation and inflammasome
NFKBIE
IKBKE
TLR1
TLR2
TLR8
TICAM2
NLRC4
MYD88
PYCARD
IL1RN
IRF5
CXCL9
OAS1
CCL3
CCL22
PTPRC
LYZ
NCF4
CYBB
CTSS
CTSB
P2rx7
P2rx4
P2ry10b
P2ry14
P2ry6
Panx1
Entpd1
Purinergic signalling
P2RX4
P2RX7
P2RY13
ADORA3
LTB
PLCB2
PRKACB
Alox5ap
Tbxas1
Lipa
Soat1
Sptlc2
Degs1
Acer3
Inflammatory lipid remodelling
LTA4H
TBXAS1
LIPA
PLA2G4A
PLA2G7
PLA2G15
ALOX5
ALOX15B
Insr
Irs1
Irs2
Ppara
Ppargc1a
Slc2a4
Acaca
Fasn
Scd1
Srebf1
Plin5
Lpin1
Adrb3
Insulin resistance and adipocyte dysfunction
CD14
SLC2A4
PPARGC1A
IRS1
INSR
FASN
ADRA2C
PRDM16
SOX10
POSTN
ENDOCANNABINOID SYSTEM
Cnr1
Cnr2
Trpv1
Receptors
CNR1
CNR2
TRPV1
Dagla
Daglb
Plch2
Plcg2
Plce1
2-AG synthesis
DAGLA
DAGLB
PLCH2
PLCG2
PLCE1
Napepld
Abhd4
Pla2g12a
Pla2g4b
Pla2g4c
NAE synthesis
NAPEPLD
ABHD4
PLA2G12A
PLA2G4B
PLA2G4C
Mgll
Abhd6
Abhd12
2-AG degradation
MGLL
ABHD6
ABHD12
Faah
Naaa
NAE degradation
FAAH
NAAA

◂**Fig. 4** Impact of obesity and diabetes on transcriptomic profiling of mouse and human VAT. Bulk RNA-seq was performed on (**a**) VAT samples from mice fed an ND (n=5) or an HFD (n=8) for 32 weeks, and (**b**) VAT samples from human control participants (CON, n=7), individuals with obesity but without diabetes (OND, n=7) and individuals with obesity and diabetes (OD, n=6) that had been previously characterised for EC production. The heatmap shows row-wise z scores of $\log_2$-normalised expression for representative genes involved in metabolic and inflammatory pathways, including insulin sensitivity, purinergic signalling, adipocyte dysfunction, macrophage infiltration, inflammasome activation and the ECS. Individual samples are represented in columns; blue and red indicate relatively low and high expression levels, respectively (z score scale from −3 to +3)

is the use of paired VAT and SAT explants obtained from the same human participants, minimising inter-individual variability and allowing robust intra-individual comparisons. The absence of comparable depot differences in mice underscores important species-specific regulatory mechanisms, and highlights the importance of human-based approaches to define EC regulation in AT.

Although elevated plasma 2-AG levels have consistently been associated with obesity, visceral fat mass and insulin resistance [35], these correlations do not allow us to identify their anatomical source. In contrast to previous reports describing increased 2-AG content in VAT from individuals with obesity, we did not observe altered EC secretion from either VAT or SAT explants of OND participants compared with control participants. This discrepancy suggests that increased tissue EC content does not necessarily translate into enhanced EC release, and highlights the importance of assessing dynamic secretion rather than static tissue levels.

Strikingly, 2-AG and AEA secretion was significantly elevated in VAT explants from OD participants but remained unchanged in SAT explants, suggesting that type 2 diabetes-associated alterations, rather than obesity alone, drive visceral EC dysregulation. Our murine data further showed that HFD mice, which displayed severe insulin resistance as demonstrated by metabolic and transcriptomic profiling, exhibit selective increases in EC production in VAT but not SAT. While a long-term HFD in mice primarily induces a state of compensated insulin resistance and hyperinsulinaemia rather than the pancreatic beta cell failure characteristic of overt human type 2 diabetes, the AT phenotype remains remarkably similar across both species.

Mechanistically, our data support differential regulation of 2-AG and NAEs in VAT. Basal NAE production was reduced in CB1R-deficient VAT explants, whereas 2-AG remained unchanged, suggesting that tonic CB1R signalling contributes to maintaining NAE synthesis in VAT. Consistently, pharmacological interventions using AM6545 and WIN55,212 reinforced the concept that constitutive CB1R signalling activity selectively participates in the maintenance of basal NAE production, but not 2-AG release, in healthy visceral fat. In contrast, noradrenaline markedly increased 2-AG production in VAT (but not SAT) without affecting AEA production, supporting preferential coupling of 2-AG synthesis to β-adrenergic/Gs signalling. These findings are consistent with the concept that 2-AG production is mainly regulated by Gs–adenylyl cyclase–cAMP/PKA pathways enhancing DAGL-dependent 2-AG synthesis, whereas NAE production is more tightly linked to CB1R-dependent signalling, potentially involving ERK/MAPK and/or Ca^{2+}-dependent pathways. Although neuronal 2-AG production is strongly Ca^{2+}-dependent and supports on-demand retrograde signalling [28], adipose 2-AG synthesis appears largely independent of CB1R-regulated Ca^{2+} transients and more reliant on constitutively available DAG pools [36]. This probably explains why 2-AG levels were unaffected by CB1R deletion, and suggests the existence of a preferential autocrine CB1R feedback loop controlling NAE production rather than global EC biosynthesis.

Importantly, our findings are also consistent with the notion that insulin resistance in AT may preferentially impact 2-AG production over NAE production, probably due to the stronger dependence of 2-AG synthesis on DAG availability, which is increased in insulin-resistant adipocytes [37]. In agreement with this, our data show that in VAT from control mice, catecholaminergic stimulation increased 2-AG production, whereas this response was blunted in VAT from obese mice. The significant downregulation of *Adrb3* in VAT from obese animals supports the hypothesis that, in insulin-resistant adipocytes, impaired β-adrenergic receptor signalling coexists with reduced PDE3B activity, leading to sustained PKA activation, enhanced lipolysis and elevated DAG availability [38]. In addition, PKA-dependent activation of DAGLα and increased DAGLβ expression in VAT from obese mice may further promote 2-AG synthesis [15]. While insulin has been shown to directly reduce 2-AG levels in 3T3-L1 adipocytes [39], we observed no such effect in VAT explants from ND mice. This discrepancy probably stems from the physiological complexity of freshly isolated whole-tissue explants, which retain the immediate in vivo cellular architecture and metabolic memory of the tissue, including baseline adrenergic tone that maintains 2-AG at a physiological nadir. Interestingly, while massive insulin exposure failed to suppress subsequent glycerol production, insulin retains the selective capacity to modulate EC production in HFD VAT explants, potentially regulating lipid pathways or stimulating degradation enzymes [40]. Whether this distinct effect involves a direct modulation of MAGL or distinct shifts in specialised intracellular lipid fluxes requires further experimental investigation. However, this regulatory mechanism probably fails to occur under basal in vivo hyperinsulinaemic conditions due to severe insulin resistance. Thus, EC overproduction in the VAT of individuals with diabetes probably reflects a chronic insulin-resistant

state characterised by the loss of insulin's physiological capacity to suppress EC synthesis under basal conditions, in line with what was previously reported in insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes [39].

ATP stimulation has been shown to enhance 2-AG production in microglial cells through the P2X purinergic receptors inducing a rapid influx of Ca^{2+}, an increase in DAGL activity and a simultaneous reduction in MAGL [41, 42]. P2X receptors are expressed and functionally active in adipocytes [43], suggesting that similar Ca^{2+}-dependent mechanisms may occur in AT. In insulin-resistant AT, cellular stress and inflammation are associated with increased extracellular ATP release, which may promote activation of P2X receptors and downstream signalling pathways such as Ca^{2+} influx and ERK signalling [44]. These processes could potentially contribute to local EC production as our transcriptomic data indicate increased expression of genes encoding purinergic P2X receptors in VAT both from HFD mice and OD participants. However, as calcium flux and receptor-specific modulation were not directly assessed in this study, these findings warrant further investigation.

Previous studies have described an overactive ECS tone in AT from individuals with obesity [15, 45]. Our transcriptomic data refine this model by indicating that obesity alone is insufficient to drive ECS dysregulation. Rather, increased EC production appears to emerge in the context of severe AT dysfunction, characterised by sustained inflammation and insulin resistance, as consistently observed in both HFD mice and OD humans. Indeed, EC levels were inversely correlated with the expression of key insulin-sensitive adipocyte genes, including *SLC2A4*, *PPARGC1A*, *FASN* and *INSR*, whereas little association was observed with genes encoding core ECS synthetic enzymes (ESM Table 3). In addition, 2-AG levels showed a negative correlation with *MGLL* expression that approached statistical significance (r=−0.433, p=0.056), suggesting that altered degradative capacity may contribute to local EC accumulation. Consistently, VAT from OD individuals displayed a marked proinflammatory and lipid mediator-producing phenotype, with activation of inflammasome-, phospholipase A2- and eicosanoid-related pathways alongside repression of adipocyte identity genes. Despite this extensive tissue remodelling, expression of *CNR1*, *FAAH* and *DAGLA* expression remained unchanged. Together, these cross-species transcriptomic findings underscore that both mice and humans converge on a shared environment of severe VAT dysfunction and chronic insulin resistance, suggesting that visceral EC overproduction is driven by adipocyte dysfunction and altered lipid flux rather than transcriptional upregulation of the canonical machinery.

Importantly, in VAT, only NAEs, but not 2-AG, correlated with HbA_{1c}, consistent with previous human studies reporting associations between plasma EC profiles and glycaemic parameters [46–48]. This dissociation suggests that NAE production may be more closely associated with systemic glucose dysregulation, whereas 2-AG production appears to depend on lipid-driven metabolic alterations.

In conclusion, although causality and enzyme-specific regulation were not directly demonstrated, the convergence of ex vivo adipose explant secretion analyses and transcriptomic signatures suggests that the degree of AT dysfunction, rather than obesity alone, is the primary driver of ECS dysregulation in VAT, while SAT remains largely unaffected. Due to the cross-sectional design of our human study, we cannot isolate the individual or independent contribution of each of these overlapping metabolic and inflammatory factors to the stimulation of AT EC overproduction. These clinical features probably act synergistically in vivo, and further mechanistic studies are required to disentangle their specific individual impact on ECS dysregulation. The distinct regulation patterns and metabolic associations of 2-AG and NAEs reveal functional specialisation within the ECS, and identify VAT as a critical site of ECS remodelling in obesity-associated diabetes. These findings support the relevance of targeting visceral adipose ECS pathways as a potential therapeutic strategy to limit metabolic complications of type 2 diabetes.

Supplementary Information The online version contains peer-reviewed but unedited supplementary material available at https://doi.org/10.1007/s00125-026-06886-0.

Acknowledgements The authors thank H. Choubley from UMS 058 BioSanD DiviOmics Lipidomic Analytical Platform for excellent technical assistance in the LC-MS/MS analysis. We would also like to thank A. Degot (CHU Dijon Bourgogne) for her valuable contribution to patient recruitment, and I. Simoneau (CHU Dijon Bourgogne) for her contribution to the development of the study protocol. The graphical abstract was generated with the assistance of Perplexity AI, under the full supervision and validation of the authors.

Data availability The clinical study protocol is registered and publicly accessible at ClinicalTrials.gov under the identifier NCT04940962. Raw RNA-seq transcriptomic data generated during this study have been deposited in the NCBI database under accession numbers SUB16040186 for human samples and SUB16182407 for mouse samples. All other supporting data associated with the findings of this manuscript are included within the main text or the ESM files.

Funding This work was supported by grants from the Conseil Régional Bourgogne Franche-Comté, Université Bourgogne Franche-Comté, the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm) and by a French Government grant managed by the French National Research Agency under the programme 'Investissements d'Avenir' with reference ANR-11-LABX-0021 (Lipstic Labex).

Authors' relationships and activities The authors declare that there are no relationships or activities that might bias, or be perceived to bias, their work.

Contribution statement RB, JL, PP-D, CB, LD, TJ and PD participated in research design and conducted experiments and data analysis. J-PPdB performed and supervised the LC-MS/MS analysis. PO-D and BV were responsible for the overall coordination and management of

the clinical study as well as the interpretation of clinical data. OP, ML, LB and AL performed biochemical assays and analysed data. PD, RB, TJ, JL, PP-D and LD wrote or contributed to the writing of the manuscript. OP, CB, J-PPdB, ML, AL, LB, PO-D and BV critically reviewed the manuscript for important intellectual content. All authors gave final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work. PD is the guarantor of this work.

References

1. Azzu V, Vacca M, Virtue S, Allison M, Vidal-Puig A (2020) Adipose tissue–liver cross talk in the control of whole-body metabolism: implications in nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology 158(7):1899–1912. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.12.054
2. Pan J, Yin J, Gan L, Xue J (2023) Two-sided roles of adipose tissue: rethinking the obesity paradox in various human diseases from a new perspective. Obes Rev 24(1):e13521. https://doi.org/10.1111/obr.13521
3. Arner P (1998) Not all fat is alike. Lancet 351(9112):1301–1302. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)79052-8
4. Lee MJ, Wu Y, Fried SK (2013) Adipose tissue heterogeneity: implication of depot differences in adipose tissue for obesity complications. Mol Aspects Med 34(1):1–11. https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.10.001
5. Petta S, Amato MC, Di Marco V et al (2012) Visceral adiposity index is associated with significant fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Aliment Pharmacol Ther 35(2):238–247. https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2011.04929.x
6. Longo M, Zatterale F, Naderi J et al (2019) Adipose tissue dysfunction as determinant of obesity-associated metabolic complications. Int J Mol Sci 20(9):2358. https://doi.org/10.3390/ijms20092358
7. Jung KM, Lin L, Piomelli D (2022) The endocannabinoid system in the adipose organ. Rev Endocr Metab Disord 23(1):51–60. https://doi.org/10.1007/s11154-020-09623-z
8. Serefko A, Lachowicz-Radulska J, Jach ME, Swiader K, Szopa A (2025) The endocannabinoid system in the development and treatment of obesity: searching for new ideas. Int J Mol Sci 26(19):9549. https://doi.org/10.3390/ijms26199549
9. Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L et al (1995) Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. Biochem Pharmacol 50(1):83–90. https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)00109-d
10. Iannotti FA, Di Marzo V, Petrosino S (2016) Endocannabinoids and endocannabinoid-related mediators: targets, metabolism and role in neurological disorders. Prog Lipid Res 62:107–128. https://doi.org/10.1016/j.plipres.2016.02.002
11. McKinney MK, Cravatt BF (2005) Structure and function of fatty acid amide hydrolase. Annu Rev Biochem 74:411–432. https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.74.082803.133450
12. Okamoto Y, Tsuboi K, Ueda N (2009) Enzymatic formation of anandamide. Vitam Horm 81:1–24. https://doi.org/10.1016/S0083-6729(09)81001-7
13. Sugiura T, Kishimoto S, Oka S, Gokoh M (2006) Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. Prog Lipid Res 45(5):405–446. https://doi.org/10.1016/j.plipres.2006.03.003
14. Howlett AC, Abood ME (2017) CB_1 and CB_2 receptor pharmacology. Adv Pharmacol 80:169–206. https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.03.007
15. Bluher M, Engeli S, Kloting N et al (2006) Dysregulation of the peripheral and adipose tissue endocannabinoid system in human abdominal obesity. Diabetes 55(11):3053–3060. https://doi.org/10.2337/db06-0812
16. Di Marzo V, Cote M, Matias I et al (2009) Changes in plasma endocannabinoid levels in viscerally obese men following a 1 year lifestyle modification programme and waist circumference reduction: associations with changes in metabolic risk factors. Diabetologia 52(2):213–217. https://doi.org/10.1007/s00125-008-1178-6
17. Rodriguez-Garcia C, Osuna-Prieto FJ, Kohler I et al (2025) Higher plasma levels of endocannabinoids and analogues are correlated with a worse cardiometabolic profile in middle-aged adults. J Physiol Biochem 81(1):173–184. https://doi.org/10.1007/s13105-024-01063-6
18. Mattelaer N, Van der Schueren B, Van Oudenhove L, Weltens N, Vangoitsenhoven R (2024) The circulating and central endocannabinoid system in obesity and weight loss. Int J Obes (Lond) 48(10):1363–1382. https://doi.org/10.1038/s41366-024-01553-z
19. Matias I, Cota D (2016) The fat side of the endocannabinoid system: role of endocannabinoids in the adipocyte. Cannabis Cannabinoid Res 1(1):176–185. https://doi.org/10.1089/can.2016.0
20. Muller T, Demizieux L, Troy-Fioramonti S et al (2017) Overactivation of the endocannabinoid system alters the antilipolytic action of insulin in mouse adipose tissue. Am J Physiol Endocrinol Metab 313(1):E26–E36. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00374.2016
21. Howlett AC, Breivogel CS, Childers SR, Deadwyler SA, Hampson RE, Porrino LJ (2004) Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. Neuropharmacology 47(Suppl 1):345–358. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2004.07.030
22. Dalton GD, Bass CE, Van Horn CG, Howlett AC (2009) Signal transduction via cannabinoid receptors. CNS Neurol Disord Drug Targets 8(6):422–431. https://doi.org/10.2174/187152709789824615
23. Silvestri C, Di Marzo V (2013) The endocannabinoid system in energy homeostasis and the etiopathology of metabolic disorders. Cell Metab 17(4):475–490. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.03.001
24. Kim D, Paggi JM, Park C, Bennett C, Salzberg SL (2019) Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype. Nat Biotechnol 37(8):907–915. https://doi.org/10.1038/s41587-019-0201-4
25. Pertea M, Pertea GM, Antonescu CM, Chang TC, Mendell JT, Salzberg SL (2015) StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads. Nat Biotechnol 33(3):290–295. https://doi.org/10.1038/nbt.3122
26. Love MI, Huber W, Anders S (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. Genome Biol 15(12):550. https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8
27. Krott LM, Piscitelli F, Heine M et al (2016) Endocannabinoid regulation in white and brown adipose tissue following thermogenic activation. J Lipid Res 57(3):464–473. https://doi.org/10.1194/jlr.M065227
28. Di Marzo V, Deutsch DG (1998) Biochemistry of the endogenous ligands of cannabinoid receptors. Neurobiol Dis 5(6 Pt B):386–404. https://doi.org/10.1006/nbdi.1998.0214
29. Lee SC, Vielhauer NS, Leaver EV, Pappone PA (2005) Differential regulation of Ca^{2+} signaling and membrane trafficking by multiple P2 receptors in brown adipocytes. J Membr Biol 207(3):131–142. https://doi.org/10.1007/s00232-005-0808-x
30. Cote M, Matias I, Lemieux I et al (2007) Circulating endocannabinoid levels, abdominal adiposity and related cardiometabolic risk factors in obese men. Int J Obes (Lond) 31(4):692–699. https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803539
31. Di X, Martinez-Tellez B, Krekels EHJ et al (2024) Higher plasma levels of endocannabinoids and analogues correlate with a worse cardiometabolic profile in young adults. J Clin Endocrinol Metab 109(5):1351–1360. https://doi.org/10.1210/clinem/dgad668

32. Engeli S, Bohnke J, Feldpausch M et al (2005) Activation of the peripheral endocannabinoid system in human obesity. Diabetes 54(10):2838–2843. https://doi.org/10.2337/diabetes.54.10.2838
33. You T, Disanzo BL, Wang X, Yang R, Gong D (2011) Adipose tissue endocannabinoid system gene expression: depot differences and effects of diet and exercise. Lipids Health Dis 10:194. https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-194
34. Pagano C, Pilon C, Calcagno A et al (2007) The endogenous cannabinoid system stimulates glucose uptake in human fat cells via phosphatidylinositol 3-kinase and calcium-dependent mechanisms. J Clin Endocrinol Metab 92(12):4810–4819. https://doi.org/10.1210/jc.2007-0768
35. Hillard CJ (2018) Circulating endocannabinoids: from whence do they come and where are they going? Neuropsychopharmacology 43(1):155–172. https://doi.org/10.1038/npp.2017.130
36. Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimotodani Y, Uchigashima M, Watanabe M (2009) Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. Physiol Rev 89(1):309–380. https://doi.org/10.1152/physrev.00019.2008
37. Petersen MC, Shulman GI (2018) Mechanisms of insulin action and insulin resistance. Physiol Rev 98(4):2133–2223. https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017
38. Morigny P, Houssier M, Mouisel E, Langin D (2016) Adipocyte lipolysis and insulin resistance. Biochimie 125:259–266. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.10.024
39. D'Eon TM, Pierce KA, Roix JJ, Tyler A, Chen H, Teixeira SR (2008) The role of adipocyte insulin resistance in the pathogenesis of obesity-related elevations in endocannabinoids. Diabetes 57(5):1262–1268. https://doi.org/10.2337/db07-1186
40. Murdolo G, Kempf K, Hammarstedt A et al (2007) Insulin differentially modulates the peripheral endocannabinoid system in human subcutaneous abdominal adipose tissue from lean and obese individuals. J Endocrinol Invest 30(8):RC17-21. https://doi.org/10.1007/BF03347440
41. Burnstock G (2008) Unresolved issues and controversies in purinergic signalling. J Physiol 586(14):3307–3312. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.155903
42. Witting A, Walter L, Wacker J, Moller T, Stella N (2004) P2X7 receptors control 2-arachidonoylglycerol production by microglial cells. Proc Natl Acad Sci USA 101(9):3214–3219. https://doi.org/10.1073/pnas.0306707101
43. Rossato M, Favaretto F, Granzotto M et al (2022) Molecular and pharmacological evidence for the expression of multiple functional P2 purinergic receptors in human adipocytes. Molecules 27(6):1913. https://doi.org/10.3390/molecules27061913
44. Sun S, Xia S, Ji Y, Kersten S, Qi L (2012) The ATP–P2X7 signaling axis is dispensable for obesity-associated inflammasome activation in adipose tissue. Diabetes 61(6):1471–1478. https://doi.org/10.2337/db11-1389
45. Matias I, Gonthier MP, Orlando P et al (2006) Regulation, function, and dysregulation of endocannabinoids in models of adipose and beta-pancreatic cells and in obesity and hyperglycemia. J Clin Endocrinol Metab 91(8):3171–3180. https://doi.org/10.1210/jc.2005-2679
46. Fanelli F, Mezzullo M, Repaci A et al (2018) Profiling plasma N-acylethanolamine levels and their ratios as a biomarker of obesity and dysmetabolism. Mol Metab 14:82–94. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.06.002
47. Mallipedhi A, Prior SL, Dunseath G et al (2015) Changes in plasma levels of N-arachidonoyl ethanolamine and N-palmitoylethanolamine following bariatric surgery in morbidly obese females with impaired glucose homeostasis. J Diabetes Res 2015:680867. https://doi.org/10.1155/2015/680867
48. Soldevila-Domenech N, Pastor A, Sala-Vila A et al (2022) Sex differences in endocannabinoids during 3 years of Mediterranean diet intervention: association with insulin resistance and weight loss in a population with metabolic syndrome. Front Nutr 9:1076677. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1076677

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

Authors and Affiliations

Romain Barbosa[1] · Julia Leemput[1] · Patricia Passilly-Degrace[1] · Océane Pointeau[1] · Chloé Buch[1] · Jean-Paul Pais de Barros[2] · Maéva Loriot[1] · Amélie Lainé[1] · Lukas Buet[1] · Pablo Ortega-Deballon[3] · Bruno Vergès[1,4] · Laurent Demizieux[1] · Tony Jourdan[1] · Pascal Degrace[1]

✉ Pascal Degrace
pascal.degrace@u-bourgogne.fr

[1] Université Bourgogne Europe, Inserm UMR1231 Center for Translational and Molecular Medicine (CTM), Team Pathophysiology of Dyslipidemia (PADYS), Dijon, France

[2] Université Bourgogne Europe, Inserm, UMS 058 BioSanD, DiviOmics, Dijon, France

[3] Université Bourgogne Europe, CHU Dijon Bourgogne, Department of Gastrointestinal Surgery, Dijon, France

[4] Université Bourgogne Europe, CHU Dijon Bourgogne, Department of Endocrinology/Diabetology, Dijon, France

Electronic Supplementary Material

Visceral fat endocannabinoid overproduction is associated with insulin resistance and tissue dysfunction in mice and humans

Romain Barbosa[1], Julia Leemput[1], Patricia Passilly-Degrace[1], Océane Pointeau[1], Chloé Buch[1], Jean-Paul Pais de Barros[2], Maéva Loriot[1], Amélie Lainé[1], Lukas Buet[1], Pablo Ortega-Deballon[3], Bruno Vergès[1,4], Laurent Demizieux[1], Tony Jourdan[1] and Pascal Degrace[1].

Affiliations : [1]Université Bourgogne Europe, INSERM UMR1231 Center for Translational and Molecular Medicine (CTM), Team Pathophysiology of Dyslipidemia (PADYS), 21000 Dijon, France. [2]Université Bourgogne Europe, INSERM, UMS 058 BioSanD, DiviOmics, 21000 Dijon, France. [3]CHU Dijon Bourgogne, Department of Gastrointestinal surgery, Dijon, France. [4]CHU Dijon Bourgogne, Department of Endocrinology-Diabetology, Dijon, France.

*Address correspondence to: pascal.degrace@u-bourgogne.fr

LIST OF ESM MATERIALS

ESM Methods

ESM Table 1 : Metabolic and hormonal profile of normocaloric control and high-fat diet mice.

ESM Table 2 : Selected genes from the RNA-seq analysis of human VAT related to EC metabolism and associated signaling pathways.

ESM Table 3 : Correlations between EC production and gene expression in human VAT.

ESM Fig. 1 : Biochemical and pharmacological regulation of EC production in mouse SAT.

ESM Fig. 2 : Correlations between adipose tissue endocannabinoid production and HbA_{1c} or fasting glucose levels.

ESM Methods

Animals and diets

Official French regulations for the use and care of laboratory animals were followed throughout the experiments. The experimental protocol was approved by the local ethics committee (CE2A, Dijon, France) for animal experimentation (APAFIS no. 36850, approval date: 1 July 2022).

Male C57BL/6J mice (Janvier Labs, Le Genest Saint Isle, France) and global $CB1R^{-/-}$ mice (originally generated as previously described [1] and provided by Dr. James Pickel, National Institute of Mental Health, Bethesda, MD) were housed under standard conditions (12-h light/dark cycle, 22-23°C) with ad libitum access to water and a standard chow diet (A04; UAR, Epinay-sur-Orge, France). C57BL/6J mice were kept in a conventional facility, while $CB1R^{-/-}$ mice were housed in a specific pathogen-free area. Tissues were harvested when animals were 12-15 weeks old. For obesity studies, a subset of male C57BL/6J mice were fed ad libitum with a high-fat diet (HFD) providing 60% of energy from lipids (lard), 20% from protein and 20% from carbohydrates (Ssniff, E15742-30, Soest, Germany) starting at 4 weeks of age and maintained for 32 weeks to induce obesity, marked insulin resistance and sustained hyperinsulinemia. Control mice received a normocaloric control diet (ND) containing 11% of energy from lard lipids (Sniff, E15742-00) over the same period. Metabolic and hormonal profile of ND and HFD mice is presented in ESM Table 1. For the insulin tolerance test, ND-fed mice (n = 7) and HFD-fed mice (n = 10) were fasted for 4 h with free access to water. Mice then received an intraperitoneal injection of insulin at 0.75 U/kg (Eli Lilly and Company; Humulin®, Indianapolis, IN, USA). Blood glucose was measured directly from tail vein blood using a ONE TOUCH Verio Reflect glucometer (LifeScan Enterprises LLC, Malvern, PA, USA; #47847) and matching test strips (LifeScan Enterprises LLC, Malvern, PA, USA; #76134270013039) at 0, 15, 30, 45, 60, 90 and 120 min after insulin injection. After deep anaesthesia by intraperitoneal injection of ketamine/xylazine (100 and 10 mg/kg respectively), animals were euthanized by exsanguination followed by cervical dislocation to ensure death. AT and blood were collected for EC and biochemical parameters analyses. Glycerol and triglycerides in plasma or culture medium were measured by colorimetric method using glycerol FS and triglyceride FS commercial kits (DiaSys, Grabels, France) respectively. Other plasma parameters were assessed using the Bio-Plex Pro Mouse Diabetes 8-Plex Assay (Biorad

Laboratories, Hercules, CA, USA, #171-A7001M). Lactate dehydrogenase (LDH) release in culture medium was measured using a colorimetric assay kit (CyQUANT™ LDH Cytotoxicity Assay Kit, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA 02451, #C20300). All kits were used according to the manufacturer's instructions.

Human participants

Participants of this cross-sectional study were consecutively recruited among men and women undergoing elective abdominal digestive surgery at Dijon University Hospital. Detailed socio-demographic data, including ethnicity and socioeconomic status, were not collected in accordance with national regulations and trial design. General eligibility criteria included age between 18 and 80 years, absence of major organ disease or recent cancer treatment, no chronic inflammatory disorders, no type 1 diabetes and no use of antidiabetic medications. Cannabis use was also assessed during the mandatory pre-operative anesthesia consultation and all included patients reported no consumption. Participant sex was determined based on self-report / medical records and both male and female were included to evaluate potential sex-specific differences in fat EC production. Women were required to be postmenopausal to minimize the impact of cyclic fluctuations in estrogen and progesterone, which are known to influence both the endocannabinoid system and lipid metabolism [2, 3]. Participants were stratified into three groups according to body mass index (BMI) and fasting plasma glucose levels: healthy controls participants (CON); individuals with obesity but without diabetes (OND; BMI > 30 kg/m² and fasting plasma glucose < 7 mmol/l); and individuals with obesity and diabetes (OD; BMI > 30 kg/m² and fasting plasma glucose ≥ 7 mmol/l). Participant characteristics are summarized in Table 1. Data regarding race or ethnicity were not collected in accordance with French legislation restricting the collection of such demographics in clinical studies. The study protocol was approved by the appropriate Ethics Committee (Comité de Protection des Personnes, CPP)

in accordance with French regulations, ClinicalTrials.gov registration no NCT04940962 (study start date: September 29, 2021), and all participants gave written informed consent.

Production of endocannabinoids (ECs) by murine and human AT explants

The morning of the experiment, epididymal and subcutaneous white adipose tissue (AT) was collected from mice after cervical dislocation and immediately dissected into 1 mm^3 fragments using scalpels. Tissue fragments were rinsed and incubated in complete culture medium (CCM) composed of Opti-MEM™ I (1X), supplemented with GlutaMAX™- I (Thermo Fisher Scientific, #51985-026, Waltham, MA USA), 1% fatty-acid free bovine serum albumin (Euromedex, #1035-70-C, Souffelweyersheim, France) and 1% Penicillin/Streptomycin at 10,000U/ml (Gibco™, #15140-122, Waltham, MA USA) in a ratio of 1.2 ml of CCM per 50 mg of AT. Explants were placed in 12-well plates and incubated at 37°C under gentle agitation. To prevent rapid degradation of 2-AG in the medium, CCM was supplemented with 100 µM of the selective MAGL inhibitor (MJN110, MedChemExpress, #HY-117474, Monmouth Junction, NJ USA). Where indicated, explants were treated during the incubation period with either the CB1R antagonist AM6545 (1 µmol/l, Sigma-Aldrich, #A1987, St. Louis, MO USA) or the CB1R agonist WIN55,212 (1 µmol/l, Cayman Chemical, #10009023, MI USA) diluted in DMSO (0.1%). Alternatively, explants were stimulated with norepinephrine at (1 µmol/l; Sigma-Aldrich, #A9512, St. Louis, MO USA) or ATP (300 µmol/l; Sigma-Aldrich, #A7699, Burlington, MA USA) both added directly to the CCM. Explants and corresponding media were collected after 15, 30 and/or 60 min of incubation and stored at -80°C until EC extraction.

For human experiments, paired visceral and subcutaneous AT samples (VAT and SAT respectively) obtained during elective abdominal surgery were immediately transferred into CCM and processed in the laboratory following the same protocol as described for murine explants.

Extraction and quantification of ECs by mass spectrometry

For murine tissues and plasma samples, EC extraction from CCM was performed immediately after thawing. Samples were diluted 1:5 with acetonitrile supplemented with ^{2}H-labelled AEA (AEA-d4, Cayman Chemical, #10011178, Ann Arbor, MI USA) at a final quantity of 2 ng/ml as an internal standard. Samples were evaporated to dryness under a gentle stream of nitrogen at 37°C using a Turbovap® LV evaporator (Biotage, Uppsala, Sweden). Dry residues were reconstituted in 200 µl of methanol, centrifuged at 12,000g for 5 min, and supernatants were collected for quantification.

Human explant media were subjected to solid-phase extraction using an SPE-C18 column (Sigma Aldrich, #504270, St. Louis, MO USA) connected to a vacuum extraction system. Columns were conditioned sequentially with 100% acetonitrile and 0.1 mol/l phosphate buffer (pH 9.1). Immediately after thawing, medium samples were supplemented with AEA-d4 (Cayman Chemical, #10011178, Ann Arbor, MI USA) at 2 ng/ml final quantity and with 20 µl of 85% orthophosphoric acid, then loaded onto the column. Columns were washed twice with 40% acetonitrile. Eluates were recovered with 1 ml of an acetonitrile/ammonium mixture (98:2), evaporated to dryness under nitrogen at 37°C and reconstituted in 200 µl of methanol. Following centrifugation (12,000g for 5 min), supernatants were collected for quantification.

Extracts were analyzed by liquid chromatography (Vanquish LC system) coupled to a triple quadrupole tandem mass spectrometer (Altis Plus MS/MS) equipped with a heated electrospray ionization (HESI) source (Thermo Electron, Villebon-sur-Yvette, France) via the DiviOmics facility (UMS BioSanD, Université Bourgogne Europe). Chromatographic separation was performed on an SB-C18 column (50 × 2.1 mm, 1.8 µm) maintained at 45°C using a dual-gradient elution with water (A) and methanol (B), both containing 0.1% formic acid, as follows: 30% B for 0.5 min; increased to 50% B in 1 min; held at 50% B for 1 min; increased to 85% B in 0.5 min; held at 85% B for 2.5 min; increased to 100% B in 0.5 min; and held at 100% B for

2.5 min. Targeted quantification of 2-AG (m/z 379.3 → 287.2) and AEA (m/z 348.3 → 62.0) was performed in positive SRM mode using AEA-d4 (m/z 352.3 → 66.0) as an internal standard. Relative quantification of 2-AG and AEA was obtained by calculating their response ratio relative to AEA-d4.

RNA Sequencing and Bioinformatic Analysis

Total RNA was extracted from 23 human VAT biopsies (8 CON, 8 OND and 7 OD) and 13 mouse VAT samples (5 ND and 8 HFD) using the NucleoSpin RNA kit (Macherey-Nagel, Germany). RNA purity, concentration, and integrity were assessed using NanoDrop, Qubit 2.0, and Agilent 2100 systems. Samples were sent to Biomarker Technologies (BMKGene, Beijing, China) for RNAseq analysis. Poly(A)+ mRNA was enriched using oligo(dT) magnetic beads, fragmented, and reverse-transcribed using random hexamer primers. Following second-strand synthesis, cDNA underwent end repair, A-tailing, adapter ligation, and PCR amplification. Libraries (300–400 bp) were quantified using Qubit 2.0, qPCR, and Agilent 2100, and libraries > 2 nmol/l were sequenced. Sequencing was performed in paired-end 150 bp (PE150) mode on an Illumina high-throughput platform, generating 160.90 Gb of clean data for human and 79.94 Gb for mouse, with >94.77% and >96,37% of bases reaching Q30 quality scores, respectively. After adapter trimming and quality filtering, clean reads were aligned to the reference genome (GRCh38 for human and GRCm39 for *Mus musculus*) using HISAT2 [4]. Transcripts were assembled with StringTie [5]. Gene expression was quantified as FPKM values for visualization and quality assessment. Differential expression analysis was conducted using raw read counts with DESeq2 [6]. Genes with $|\log_2 \text{fold change}| \geq 1$ and adjusted $p < 0.05$ were considered differentially expressed. Three human samples were excluded following independent quality control assessment. Raw RNA-Seq data were deposited in the NCBI database under accession SUB16040186 for human and SUB16182407 for mouse.

Western-blotting

To extract proteins, AT samples from mice were resuspended in RIPA lysis buffer (150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 0.5% sodium deoxycholate, 1% SDS, 50 mM Tris-HCl, pH 8.0), supplemented with 1% protease inhibitors (Sigma P8340) and 1% phosphatase inhibitors (Sigma P5726), and homogenized using a tissue grinder (OZYME, Precellys24, SN: 000.2858, UF: 1813). Total protein concentration was determined using the Bicinchoninic Acid Kit for Protein Determination (Merck, BCA1-1KT), and samples were adjusted to the same protein concentration in an adequate volume of RIPA lysis buffer. Proteins were separated by electrophoresis on 4–20% gradient SDS-PAGE gels (Bio-Rad Mini-PROTEAN TGX Stain-Free, Marnes-la-Coquette, France) for 1 h at 100 V. Proteins were transferred onto nitrocellulose membranes using the Bio-Rad Trans-Blot Turbo system (1.3 A, 25 V, 7 min). Total proteins were visualized by Ponceau S staining. Non-specific binding sites were blocked with 5% BSA in TBS-Tween 20 0.1% (TBST) for at least 1 h at room temperature with gentle agitation. Membranes were then incubated overnight at 4°C with a primary antibody against CB1R (1:1000; rabbit; Cell Signaling Technology; #93815T). An appropriate horseradish peroxidase-conjugated secondary antibody was then incubated for at least 1 h at 4°C (1:5000; goat; Cell Signaling Technology; #CS7074S). Proteins of interest were visualized by enhanced chemiluminescence using the Bio-Rad ChemiDoc MP imaging system after incubation with Clarity Western ECL substrate (Bio-Rad). Bands were quantified by densitometric analysis using Image Lab software (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France).

Data and statistical analysis

Data are expressed as means ± SEM. Statistical analyses were performed only for groups with $n \geq 3$ subjects. Normality was assessed using the Shapiro-Wilk test. For two-group comparisons, paired or unpaired Student's *t*-tests were used for normally distributed data;

otherwise, Wilcoxon or Mann-Whitney were applied. For multi-group comparisons, one-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test was used for normal distributions, while the Kruskal-Wallis test followed by Dunn's test was used for non-parametric data. Correlations were determined using Pearson or Spearman coefficients based on data distribution. For RNA-seq, raw data were processed using Phantasus platform with the DESeq2 pipeline for normalization and filtering. Differentially expressed genes were identified using a False Discovery Rate (FDR) < 0.05 and $|\log_2 FC| > 1$. All analyses were conducted using GraphPad Prism (version 10.6.1, San Diego, CA, USA) and Phantasus (online version). Statistical significance was defined as $p < 0.05$.

References

[1] Zimmer A, Zimmer AM, Hohmann AG, Herkenham M, Bonner TI (1999). Increased mortality, hypoactivity, and hypoalgesia in cannabinoid CB1 receptor knockout mice. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96: 5780–5785. 10.1073/pnas.96.10.5780

[2] Maccarrone M, Valensise H, Bari M, Lazzarin N, Romanini C, Finazzi-Agro A (2001) Progesterone up-regulates anandamide hydrolase in human lymphocytes: role of cytokines and implications for fertility. J Immunol 166(12): 7183-7189. 10.4049/jimmunol.166.12.7183

[3] Palmisano BT, Zhu L, Eckel RH, Stafford JM (2018) Sex differences in lipid and lipoprotein metabolism. Mol Metab 15: 45-55. 10.1016/j.molmet.2018.05.008

[4] Kim, D., Paggi, J. M., Park, C., Bennett, C., & Salzberg, S. L. (2019). Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype. Nature Biotechnology, 37(8): 907-915.

[5] Pertea, M., Pertea, G. M., Antonescu, C. M., Chang, T. C., Mendell, J. T., & Salzberg, S. L. (2015). StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads. Nature Biotechnology, 33(3): 290-295.

[6] Love, M. I., Huber, W., & Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. Genome Biology, 15(12): 550.

ESM Table 1. Metabolic and hormonal profile of normocaloric control and high-fat diet mice. Body weight, glucose, HOMA-IR, TyG index and circulating levels of ghrelin, GIP, GLP-1, insulin, leptin, PAI-1, resistin, triacylglycerols and glucagon are shown for mice fed a normocaloric control diet (ND) or a high-fat diet (HFD). Data are presented as mean ± SEM. Normality was assessed using the Shapiro-Wilk test before statistical comparison with an unpaired *t*-test. ns: not significant.

	ND *(n = 7)*	HFD *(n = 9)*	*p* value *(t-test)*
Weight (g)	29.40 ± 0.59	56.59 ± 2.46	<0.001
Glucose (mmol/l)	9.21 ± 0.83	13.70 ± 1.99	0.064
Ghrelin (ng/ml)	5.54 ± 0.66	4.56 ± 0.55	ns
GIP (pg/ml)	848.00 ± 203.00	977.60 ± 112.70	ns
GLP-1 (pg/ml)	1.80 ± 0.85	0.97 ± 0.28	ns
Insulin (pmol/l)	704.30 ± 62.0	2 714.00 ± 723.2	<0.002
Leptin (ng/ml)	3.26 ± 0.46	39.98 ± 11.61	0.013
PAI-1 (ng/ml)	0.36 ± 0.08	2.15 ± 0.26	<0.001
Resistin (ng/ml)	61.39 ± 4.47	127.30 ± 14.28	0.002
Glucagon (ng/ml)	5.56 ± 0.82	3.31 ± 0.67	0.0541
Triacylglycerol (mmol/l)	0.46 ± 0.03	0.59 ± 0.05	0.026
HOMA-IR index	47.54 ± 9.27	187.40 ± 40.63	0.024
TyG index	8.06 ± 0.08	8.70 ± 0.19	0.027

ESM Table 2. Selected genes from the RNA-seq analysis of human VAT related to EC metabolism and associated signaling pathways. Differential expression analysis was performed using DESeq2 and compared control participants (CON), individuals with obesity but without diabetes (OND) and individuals with obesity and diabetes (OD) groups. For each gene, log_2FC and p_{adj} are reported. Genes were grouped according to their functional involvement in endocannabinoid system metabolism, insulin sensitivity, lipid mediator pathways and purinergic signaling.

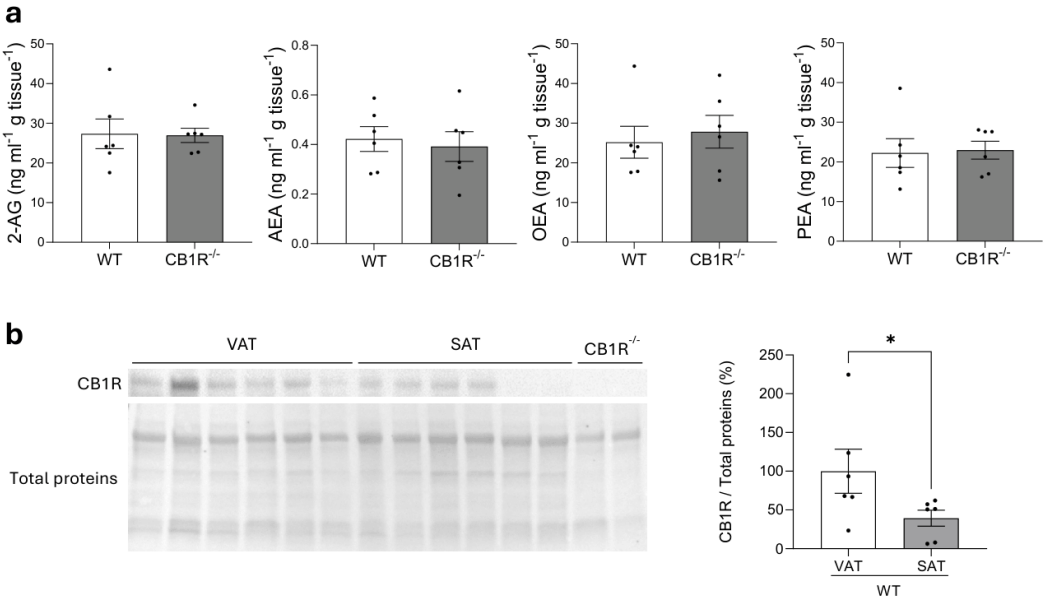
* indicates values significantly different.

Pathway	Gene	Function	CON vs OND (log_2FC / p_{adj})	CON vs OD (log_2FC / p_{adj})	OND vs OD (log_2FC / p_{adj})
Endocannabinoid system metabolism	*CNR1*	Endocannabinoid receptors	<0.001/0.716	-0.607/0.093	<-0.001/0.942
	CNR2		<0.001/0.330	0.026/0.460	<-0.001/0.953
	DAGLA	2-AG synthesis	<0.001/0.986	0.042/0.422	<0.001/0.952
	DAGLB		<-0.001/0.918	0.085/0.201	<0.001/0.906
	ABHD6		<-0.001/0.348	-0.108/0.105	<0.001/0.973
	MGLL		<-0.001/0.210	-0.041/0.387	<0.001/0.906
	NAPEPLD	NAE synthesis	<0.001/0.995	0.063/0.280	<0.001/0.971
	FAAH	NAE degradation	<-0.001/0.07	-0.016/0.729	<0.001/0.806
Insulin sensitivity & Adipocyte Dysfunction	*SLC2A4*	Glucose transport	-1.236/0.021*	-1.702/<0.001*	<-0.001/0.947
	PPARGC1A	Energy metabolism	<-0.001/0.594	-0.812/0.015*	<-0.001/0.942
	IRS1	Insulin signaling	<-0.001/0.580	-0.428/0.080	<-0.001/0.956
	INSR		<-0.001/0.441	-0.347/0.077	<0.001/0.971
	FASN	Lipid metabolism	<-0.001/0.114	-1.145/0.014*	<0.001/0.995
	ADRA2C	Lipolysis marker	<-0.001/0.334	-0.886/0.027*	<-0.001/0.952
	PRDM16	Browning adipocyte	<0.001/0.760	1.351/0.001*	<0.001/0.673
	SOX10	Adipogenesis	<-0.001/0.643	-0.043/0.017*	<-0.001/0.867
	POSTN	Regeneration	<0.001/0.870	-0.700/0.042*	<-0.001/0.806
Inflammatory lipid remodeling	*LTA4H*	Arachidonic acid metabolism	<0.001/0.623	0.481/0.027*	<0.001/0.921
	TBXAS1		<0.001/0.185	1.313/<0.001*	<0.001/0.906
	LIPA		0.485/0.147	1.330/0.007*	<0.001/0.906
	PLA2G4A		<-0.001/0.863	0.627/<0.001*	<0.001/0.780
	ALOX5		<0.001/0.350	0.901/<0.001*	<0.001/0.942
	ALOX15B		<0.001/0.207	2.188/<0.001*	<0.001/0.997
	PLA2G7	Phospholipid metabolism	2.329/0.021*	2.924/<0.001*	<-0.001/0.952
Purinergic signaling	*P2RX4*	Purinergic receptors	<-0.001/0.306	0.685/0.018*	<0.001/0.921
	P2RX7		<0.001/0.618	1.117/<0.001*	<0.001/0.851
	P2RY13		<0.001/0.797	0.677/0.025*	<0.001/0.921
	ADORA3		0.952/0.007	1.344/0.008*	<0.001/0.956
	LTB	Purinergic signaling	0.988/0.654	0.942/0.049*	<0.001/0.992
	PLCB2		<0.001/0.401	0.960/0.016*	<0.001/0.878
	PRKACB		<0.001/0.264	0.348/0.002*	<0.001/0.994

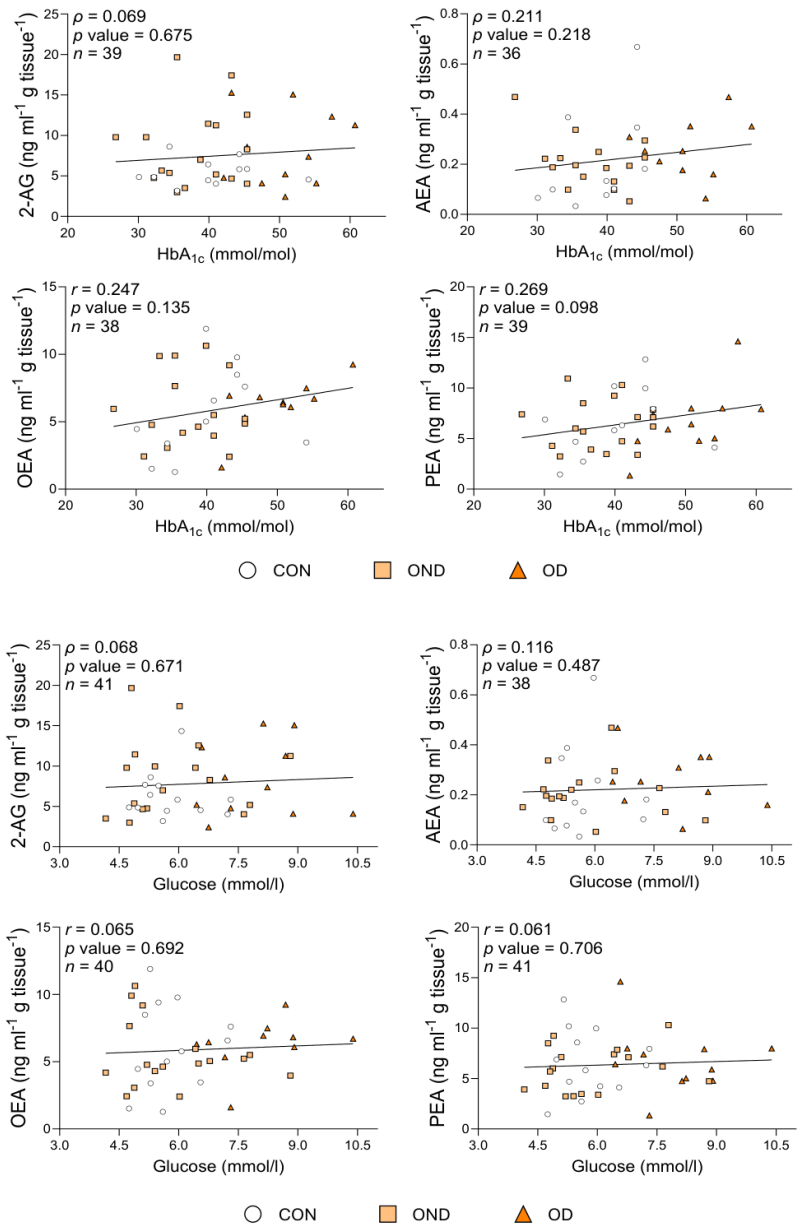
ESM Table 3. Correlations between EC production and gene expression in human VAT. Correlations were assessed between levels of ECs secreted by VAT explants and the expression of genes grouped into four functional families in human VAT (n = 20 participants; 7 CON, 7 OND, 6 OD). For each gene-EC pair, normality was first assessed, and either Pearson's or Spearman's correlation test was applied according to data distribution. Correlation coefficients are shown as *r* with corresponding *p*-values. * indicates values significantly different.

Pathway	Gene	Function	2-AG (*r*/*p*-value)	AEA (*r*/*p*-value)	OEA (*r*/*p*-value)	PEA (*r*/*p*-value)
Endocannabinoid system metabolism	*CNR1*	Endocannabinoid receptors	-0.535/0.015*	-0.354/0.126	-0.225/0.341	-0.106/0.655
	CNR2		0.095/0.612	0.274/0.242	0.192/0.416	0.300/0.206
	DAGLA	2-AG synthesis	0.094/0.693	0.062/0.7959	-0.128/0.592	-0.101/0.671
	DAGLB		-0.011/0.643	0.297/0.203	0.068/0.774	0.228/0.335
	ABHD6		-0.357/0.122	-0.735/0.001*	-0.443/0.051	-0.359/0.120
	MGLL		-0.433/0.056	-0.735/<0.001*	-0.394/0.086	-0.278/0.236
	NAPEPLD	NAE synthesis	0.6581/0.002*	0.147/0.537	0.269/0.252	-0.045/0.849
	FAAH	NAE degradation	-0.253/0.281	0.340/0.142	-0.286/0.221	0.143/0.547
Insulin sensitivity & Adipocyte Dysfunction	*SLC2A4*	Glucose transport	-0.425/0.062	-0.746/<0.001*	-0.459/0.042*	-0.436/0.055
	PPARGC1A	Energy metabolism	-0.177/0.456	-0.656/0.002*	-0.509/0.022*	-0.462/0.040*
	IRS1	Insulin signaling	-0.009/0.972	0.419/0.066	-0.075/0.752	-0.158/0.505
	INSR		-0.477/0.033*	-0.403/0.079	-0.341/0.142	-0.320/0.169
	FASN	Lipid metabolism	-0.164/0.490	-0.654/0.002*	-0.480/0.032*	-0.549/0.012*
	ADRA2C	Lipolysis marker	-0.575/0.008*	-0.564/0.010*	-0.430/0.058	-0.240/0.309
	PRDM16	Browning adipocyte	-0.525/0.018*	0.484/0.031*	-0.276/0.239	-0.230/0.329
	SOX10	Adipogenesis	0.374/0.105	0.614/0.004*	-0.369/0.109	-0.405/0.077
	POSTN	Regeneration	0.421/0.064	-0.292/0.212	0.021/0.930	0.110/0.645
Inflammatory lipid remodeling	*LTA4H*	Arachidonic acid metabolism	0.521/0.018*	0.301/0.197	0.329/0.157	0.264/0.261
	TBXAS1		0.188/0.427	0.446/0.048*	0.290/0.215	0.397/0.083
	LIPA		-0.134/0.574	0.390/0.089	0.277/0.238	0.340/0.143
	PLA2G4A		0.444/0.050*	0.373/0.105	0.355/0.126	0.303/0.194
	ALOX5		0.060/0.800	0.570/0.009*	0.232/0.326	0.405/0.076
	ALOX15B		0.075/0.753	0.485/0.030*	0.139/0.559	0.008/0.973
	PLA2G7	Phospholipid metabolism	-0.068/0.774	0.435/0.056	0.405/0.077	0.520/0.019*
Purinergic signaling	*P2RX4*	Purinergic receptors	0.000/1.000	0.364/0.115	0.316/0.175	0.329/0.156
	P2RX7		0.470/0.037*	0.393/0.087	0.084/0.724	0.081/0.734
	P2RY13		0.262/0.265	0.191/0.420	-0.040/0.967	0.010/0.965
	ADORA3		0.454/0.045*	0.463/0.040*	0.232/0.326	0.123/0.605
	LTB	Purinergic signaling	-0.023/0.992	0.161/0.498	0.131/0.583	0.141/0.552
	PLCB2		0.190/0.424	0.469/0.037*	0.042/0.860	0.214/0.366
	PRKACB		0.169/0.476	0.569/0.009*	0.493/0.027*	0.558/0.011*

ESM Fig. 1. Biochemical and pharmacological regulation of EC production in mouse SAT. **a.** Production of 2-AG, AEA, OEA and PEA measured in the medium of SAT explants collected from wild-type (WT) and CB1R$^{-/-}$ mice (n = 6 mice per group) after a 60 min incubation period. **b.** Representative immunoblots and densitometry analysis of CB1R protein levels in VAT and SAT of WT and CB1R$^{-/-}$ mice (n = 6 mice per group) quantified by Western blot and normalized to total protein content. Data are presented as mean ± SEM. Statistical analysis was performed using unpaired two tailed Student's t tests. *$p < 0.05$.



ESM Fig. 2. Correlations between adipose tissue endocannabinoid production and HbA_{1c} or fasting glucose levels. ECs secreted by SAT explants from CON, OND and OD participants were plotted against individual HbA_{1c} and plasma glucose levels. Each symbol represents a single participant and lines indicate simple linear regressions fitted to all data points. Correlation coefficients (r/ ρ), p values and sample size (n) for each EC are reported on the corresponding panels (Pearson / Spearman correlation).



3. Conclusion

Dans cette étude, nous montrons que la surproduction d'ECs par le TA n'est pas un simple marqueur quantitatif de l'obésité, mais le reflet d'une dérégulation profonde et spécifique de la niche adipocytaire viscérale. Chez la souris soumise à un régime riche en lipides, la sécrétion *ex vivo* de 2-AG et d'AEA est fortement augmentée dans le TAV, alors qu'elle reste beaucoup plus modérée dans le TASC, confirmant la vulnérabilité particulière du compartiment viscéral à l'hyperactivation du tonus endocannabinoïde et à l'installation d'une insulinorésistance tissulaire. Cette surproduction s'accompagne d'un remodelage marqué du TAV associant infiltration macrophagique, activation des voies inflammatoires innées, reprogrammation lipidique et répression coordonnée de gènes clés de la signalisation insulinique, de la lipogenèse et de l'identité adipocytaire.

Dans la cohorte humaine, la force de notre approche réside dans l'utilisation d'explants appariés de TAV et de TASC obtenus chez des patients catégorisés (sujets contrôles, obèses non diabétiques, obèses diabétiques de type 2), permettant de comparer directement la capacité de production locale d'ECs entre les dépôts viscéraux et sous-cutanés dans des contextes d'obésité et d'insulinorésistance comparables. Malgré un IMC similaire entre les sujets obèses non diabétiques et obèses diabétiques de type 2, seule la présence du diabète est associée à une augmentation significative de la production de 2-AG et d'AEA par les explants de TAV, alors que le TASC demeure largement épargné, ce qui suggère que l'insulinorésistance et le déséquilibre glucidique chronique sont des déterminants majeurs de la dérégulation du SEC viscéral et que l'adiposité seule ne suffit pas à induire cette surproduction d'ECs. Par rapport à la littérature principalement centrée sur des mesures de contenus tissulaires ou sur des modèles cellulaires, l'utilisation d'explants adipeux humains constitue un modèle plus physiologique de la sécrétion d'ECs et de NAEs, intégrant la complexité de la niche adipocytaire (adipocytes matures, cellules immunes et stromales, matrice extracellulaire).

Un aspect original de ce travail réside dans l'analyse parallèle des NAEs non endocannabinoïdes, en particulier l'OEA et le PEA, qui permet de situer la hausse d'AEA dans un contexte plus large de modifications du métabolisme des NAEs. Dans notre cohorte, les niveaux d'OEA et de PEA présentent des corrélations positives avec des paramètres glycémiques (glucose, HbA_{1c}), ce qui suggère une association possible entre dysrégulation glucidique et altérations des voies de synthèse et de dégradation des NAEs au sein du TAV, sans pour autant établir une relation causale. L'intégration de PEA et OEA à l'analyse invite à considérer des voies de signalisation additionnelles au-delà de CB1R (par exemple PPARα ou TRPV1) comme des hypothèses de travail, mais ces liens restent à confirmer par des études fonctionnelles spécifiques.

Un point important de cette étude est l'absence de modification transcriptionnelle majeure des enzymes canoniques de synthèse et de dégradation des ECs (NAPE-PLD, FAAH, DAGL, MAGL) ainsi que de CB1R, malgré la forte augmentation de la sécrétion de 2-AG et d'AEA dans le TAV obèse et diabétique. De même, dans nos expériences fonctionnelles, le blocage pharmacologique de CB1R par le rimonabant ne s'accompagne pas d'une réduction nette de la production d'ECs. Ce résultat suggère que la surproduction d'ECs est principalement portée par des altérations des flux lipidiques, de la disponibilité des précurseurs et des voies de signalisation associées (inflammation, signalisation purinergique, inflammasome), plutôt que par une modulation directe de la machinerie enzymatique ou un rétro-contrôle aigu *via* CB1R. Il ouvre également la possibilité que des voies indépendantes de CB1R, ou des régulations post-transcriptionnelles des enzymes impliquées, participent à la dérégulation observée, ce qui justifie des investigations complémentaires.

En conclusion, nos résultats apportent un soutien expérimental à l'idée que le SEC viscéral constitue une interface importante entre dysfonction adipocytaire, inflammation chronique et complications métaboliques associées à l'obésité et au diabète de type 2. En s'appuyant sur des modèles murins et humains complémentaires, ainsi que sur une analyse intégrée de la production d'ECs/NAEs et des signatures transcriptomiques, cette étude met en évidence une dérégulation spécifique du TAV dans un contexte métabolique pathologique. Elle suggère que le TAV et son tonus endocannabinoïde pourraient représenter une cible d'intérêt pour limiter les complications cardiométaboliques, en complément des stratégies visant la réduction de la masse grasse.

Dans le cadre de cette thèse, ces résultats soulèvent ainsi une question majeure concernant les conséquences fonctionnelles de cette dérégulation locale du SEC sur les différentes composantes cellulaires du TA. Ils ouvrent ainsi la voie à l'étude des mécanismes cellulaires par lesquels les ECs pourraient moduler, de façon autocrine, les différentes composantes de la niche adipocytaire, notamment l'engagement des ADSC vers la lignée adipogénique.

4. Perspectives

Plusieurs pistes mériteront d'être explorées afin de prolonger ce travail. En premier lieu, l'absence de modification transcriptionnelle majeure des enzymes canoniques de synthèse et de dégradation des ECs suggère que leur surproduction dans le TAV pourrait résulter d'une augmentation de la disponibilité des précurseurs lipidiques ou d'un remodelage des flux lipidiques intracellulaires. Cette hypothèse pourrait être testée par une approche lipidomique ciblée ou non ciblée, réalisée sur des explants de TAV et de TASC issus de sujets ou d'animaux contrôles et obèses/diabétiques, afin de quantifier les phospholipides, diacylglycérols, N-acyl-phosphatidyléthanolamines et autres espèces lipidiques susceptibles d'alimenter les voies de synthèse du 2-AG et de l'AEA.

Des expériences de traçage métabolique utilisant de l'acide arachidonique marqué permettraient de suivre directement son incorporation dans les précurseurs arachidonoylés, puis dans le 2-AG et l'AEA sécrétés. En parallèle, la mesure des flux de lipolyse, de réestérification et de lipogenèse de novo, ainsi que l'analyse de l'activité protéique et enzymatique de DAGL, NAPE-PLD, MAGL et FAAH, permettraient de déterminer si la surproduction d'ECs reflète une augmentation de l'apport en substrats, une activation post-transcriptionnelle des enzymes ou une modification de leur compartimentation intracellulaire.

Il sera également important de mieux comprendre dans quelle mesure les ECs produits par le TA peuvent rejoindre la circulation et exercer des effets périphériques et centraux. Les VEs sont désormais reconnues comme des acteurs clés de la communication inter-organes. Ainsi, un autre axe consistera à analyser le rôle des VEs dérivées du TAV dans le transport des ECs vers d'autres organes métaboliques tels que le foie, le muscle ou le pancréas et d'évaluer leur impact sur le contrôle métabolique périphérique et central. Ces perspectives permettront de mieux relier les altérations du tonus endocannabinoïde viscéral à la dysfonction adipocytaire et d'identifier de nouvelles cibles d'intervention dans l'obésité et le diabète de type 2.

Objectif 2 – Évaluation de l'impact des endocannabinoïdes sur l'engagement adipogénique des ADSC

1. Introduction

La première partie de cette thèse a montré que l'obésité, lorsqu'elle est associée à une résistance à l'insuline et à un profil métabolique sévèrement altéré, s'accompagne d'une surproduction d'ECs par le TAV, alors que le TASC demeure relativement préservé. Par ailleurs, les données de la littérature indiquent que les ECs produits localement exercent des effets autocrines et paracrines sur plusieurs fonctions majeures du TA, notamment la lipolyse, la lipogenèse et la fonction endocrine.

Concernant l'adipogenèse, l'état des connaissances a permis de distinguer clairement la phase d'engagement adipocytaire, au cours de laquelle les progéniteurs adipocytaires acquièrent un programme transcriptionnel caractéristique de la lignée adipocytaire, et la phase de différenciation terminale en adipocytes matures. L'engagement adipocytaire correspond à l'émergence de populations de progéniteurs fibroblastiques et de préadipocytes engagés, caractérisés par l'activation de facteurs de transcription tels que PPARγ. Cette étape, fortement influencée par les signaux de la niche périvasculaire, constitue une étape clé de régulation de l'expansion et du remodelage du TA en conditions physiologiques comme pathologiques.

Les données de la littérature concernant le rôle du SEC dans l'adipogenèse se sont majoritairement concentrées sur la phase de différenciation et de maturation des adipocytes nouvellement formés ou des préadipocytes engagés. Plusieurs études *in vitro* ont montré que l'AEA ou certains dérivés lipidiques associés au SEC activent PPARγ, renforcent l'expression de gènes adipocytaires (*FABP4, LPL, ACC, FAS, APN*) et favorisent l'accumulation de triglycérides (Bouaboula et al., 2005). À l'inverse, l'inactivation du SEC limite la différenciation et la capacité de stockage (Wang et al., 2015). Ces travaux convergent vers l'idée que les ECs favorisent la différenciation et la maturation des adipocytes déjà engagés dans la lignée adipocytaire.

En revanche, la phase d'engagement adipocytaire demeure très peu étudiée dans le contexte du SEC. Les modèles existants reposent principalement sur des lignées de préadipocytes (3T3-L1, 3T3-F442A) ou des ADSC déjà sélectionnées pour leur potentiel adipogénique. Dans un contexte où l'obésité associée à la résistance à l'insuline se caractérise par une surproduction d'ECs dans le TAV, il devient crucial de déterminer si ces médiateurs lipidiques modulent également la taille et la

composition du pool de progéniteurs adipocytaires, et donc les mécanismes d'hyperplasie et d'hypertrophie qui se mettent en place dans le TA.

La seconde partie de cette thèse s'intéresse à cette question en évaluant l'impact des ECs sur l'engagement adipogénique des ADSC. En d'autres termes, les expériences réalisées visent à déterminer dans quelle mesure le SEC participe à l'orientation du destin des ADSC vers la lignée adipocytaire et module la dynamique du pool de progéniteurs. Elles cherchent également à établir si cette régulation est susceptible d'influencer la capacité du TA à s'étendre par hyperplasie ou par hypertrophie dans un contexte métabolique pathologique.

2. Résultats

a. Analyse transcriptomique du tissu adipeux viscéral murin

Dans un premier temps, nous avons cherché à tester l'hypothèse selon laquelle les dérégulations métaboliques associées à l'obésité pourraient influencer l'engagement des ADSC vers la lignée adipocytaire, possiblement *via* l'implication du SEC local. Pour cela, nous avons analysé les données transcriptomiques obtenues par RNA-seq à partir de TAV prélevés chez des souris contrôles et obèses.

i. Méthodologie

Deux groupes de souris mâles C57BL/6J ont été alimentés pendant 32 semaines avec soit un régime témoin (Contrôle), soit un régime hyperlipidique (Obèse). Les caractéristiques de ces régimes alimentaires sont décrites dans la partie « Matériels et Méthodes : 1 ». Des fragments de TAV épididymaire ont été prélevés et congelés avant extraction de l'ARN total. Les échantillons d'ARN ont été envoyés pour séquençage auprès de la plateforme BMKGene. Le traitement bioinformatique et l'analyse différentielle des données RNA-seq ont été réalisés à l'aide du logiciel Phantasus, incluant le contrôle qualité, la normalisation des données, l'identification des gènes différentiellement exprimés et les analyses d'enrichissement fonctionnel.

Ces analyses portent sur les mêmes échantillons présentés dans l'article « Visceral fat endocannabinoid overproduction is associated with insulin resistance and tissue dysfunction in mice and humans » (Barbosa et al., 2026).

ii. Résultats et discussion

Tout d'abord, l'analyse du RNA-seq a montré que le régime hyperlipidique induisait la sous-régulation de 1 430 gènes et la sur-régulation de 2 015 gènes (**Figure *21*A**). Afin d'interpréter ces modifications transcriptionnelles, une analyse d'enrichissement fonctionnel a été réalisée, permettant de regrouper les gènes selon leurs fonctions biologiques et d'identifier plusieurs voies métaboliques

majeures modifiées. Dans cette analyse, la base de données MSigDB (Molecular Signatures Database) a été utilisée afin d'explorer l'enrichissement de larges ensembles de gènes impliqués dans de nombreux processus physiologiques (**Figure 21B**).

L'analyse des Hallmarks MSigDB montre que le régime hyperlipidique entraîne une reprogrammation transcriptionnelle du TAV coordonnée vers un phénotype inflammatoire, insulinorésistant et métaboliquement dysfonctionnel (Barbosa et al., 2026). Les voies fortement enrichies liées au « complément », à « IL6-JAK-STAT3 », à « la réponse inflammatoire », à « l'interféron gamma » et à « la signalisation TNFα-NFκB » indiquent une activation marquée de l'immunité innée et des cascades pro-inflammatoires. Ces résultats sont en accord avec la littérature décrivant l'obésité viscérale comme un état d'inflammation chronique de bas grade associé à l'insulinorésistance (Kolb, 2022). Parallèlement, les signatures « d'angiogenèse » et « de coagulation » suggèrent un remaniement du microenvironnement vasculaire cohérent avec l'hypoxie, la fibrose et le risque cardiovasculaire accru caractérisant le TAV obèse (AlZaim et al., 2023). Enfin, l'enrichissement des signatures « cibles E2F », « G2M checkpoint » et « de fuseau mitotique » suggère une modulation du cycle cellulaire des cellules de la FSV, tandis que les voies « adipogenèse », « métabolisme des AG » et « phosphorylation oxydative » témoignent d'une altération des programmes d'adipogenèse, du métabolisme des AG et de la fonction mitochondriale (Hagberg and Spalding, 2024).

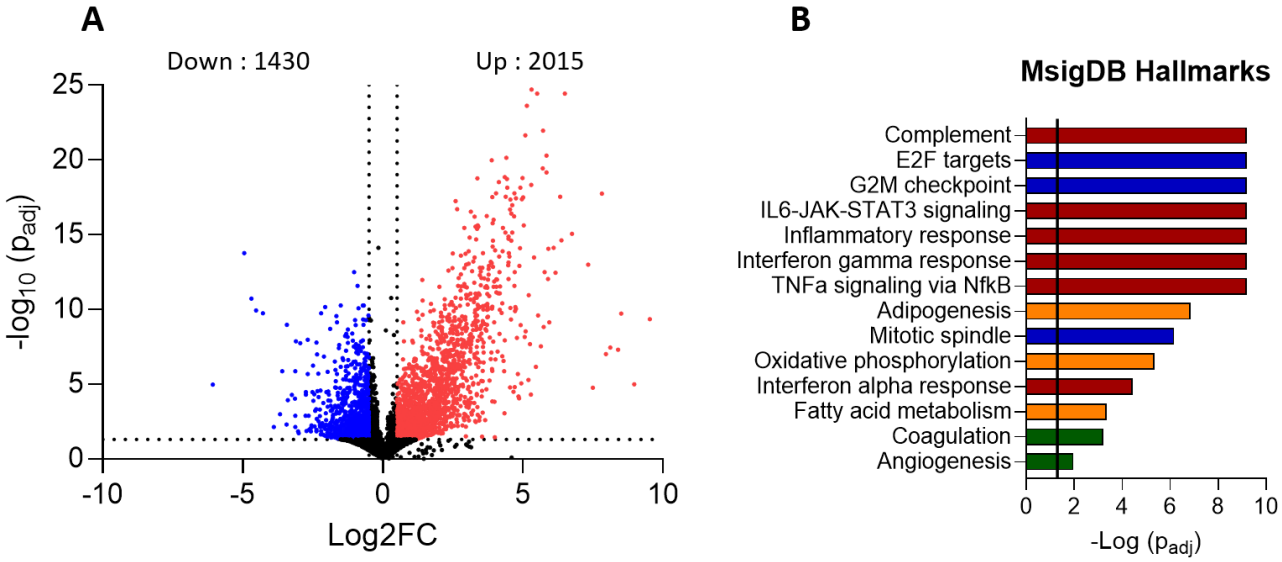


Figure 21 - Analyse transcriptomique différentielle et enrichissement fonctionnel dans le TAV *: (A) Volcano plot représentant les gènes différentiellement exprimés entre les souris nourries avec un régime riche en graisses (n = 8) et les souris contrôles (n = 5). Les points rouges indiquent les gènes significativement sur-exprimés, les points bleus les gènes significativement sous-exprimés et les points noirs les gènes non significatifs. (B) Analyse d'enrichissement fonctionnel des voies Hallmarks de MsigDB, montrant les principales voies significativement enrichies parmi les gènes différentiellement exprimés, classées selon -log (p_{adj}). Les voies associées à l'inflammation (rouge), au métabolisme lipidique (orange), au cycle cellulaire (bleu) ou au remodelage / fibrose de la niche (vert). La barre noire représente le seuil de significativité.*

Ces résultats suggèrent une modification de la voie adipogénique. Parmi les 193 gènes appartenant à cette signature, la majorité est sous-régulée sous régime hyperlipidique. Toutefois, cette catégorie rassemble de nombreux processus biologiques distincts, incluant notamment l'engagement, la différenciation, la maturation et la lipogenèse, ce qui rend l'interprétation globale plus complexe. Afin d'affiner cette analyse, une heatmap des principaux gènes significativement dérégulés impliqués dans ces différents processus a été réalisée (**Figure 22**).

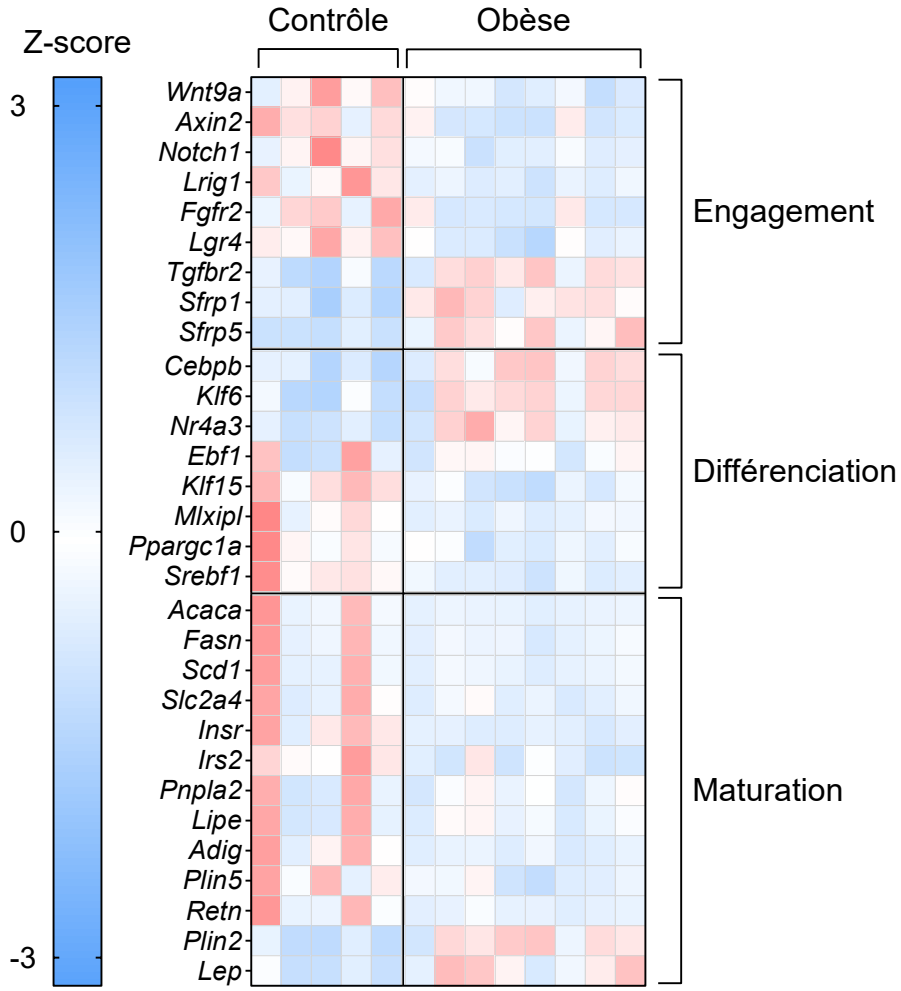


Figure 22 - Profil transcriptionnel des gènes impliqués dans l'engagement, la différenciation et la maturation adipocytaires dans le tissu adipeux viscéral de souris contrôles et obèses *: Heatmap représentant le Z-score des gènes associés à l'engagement adipogénique, à la différenciation adipocytaire et à la maturation terminale dans des échantillons de tissu adipeux viscéral de souris contrôles (n = 5) et obèses (n = 8). Les gènes sont regroupés selon trois modules fonctionnels : engagement (Wnt9a, Axin2, Notch1, Lrig1, Fgfr2, Lgr4, Tgfbr2, Sfrp1, Sfrp5), différenciation (Cebpb, Klf6, Nr4a3, Ebf1, Klf15, Mlxipl, Ppargc1a, Srebf1) et maturation (Acaca, Fasn, Scd1, Slc2a4, Insr, Irs2, Pnpla2, Lipe, Adig, Plin5, Retn, Plin2, Lep).*

L'analyse transcriptionnelle suggère une diminution globale des signaux associés à l'engagement adipogénique, en particulier à travers la sous-régulation de plusieurs gènes impliqués dans les voies de signalisation régulant la niche stromale et la spécification des progéniteurs, tels que *Wnt9a, Axin2,*

Notch1, Lrig1, Fgfr2 et Lgr4. Cette tendance évoque une altération du compartiment stromal et une moindre capacité des cellules progénitrices à entrer efficacement dans le programme adipocytaire, ce qui est compatible avec une altération de la capacité d'expansion du TA (**Figure 22**). En parallèle, certains régulateurs précoces de différenciation ou de réponse au stress, comme *Cebpb, Klf6 ou Nr4a3*, sont surexprimés, ce qui semble refléter une réponse compensatrice ou un état de reprogrammation transcriptionnelle plutôt qu'une véritable activation coordonnée de la différenciation adipocytaire (**Figure 22**). Enfin, la diminution de plusieurs gènes associés à la différenciation terminale et à la maturation, notamment *Klf15, Mlxipl, Ppargc1a, Acaca, Fasn, Scd1, Slc2a4, Insr, Irs2, Plin5, Adig et Retn*, associée à l'augmentation de marqueurs de lipolyse et de remodelage lipidique comme *Pnpla2, Lipe, Plin2 et Lep*, est compatible avec un phénotype d'adipocytes déjà installés mais moins lipogéniques, plus résistants à l'insuline et orientés vers un état hypertrophique et dysfonctionnel (Liu et al., 2020) (**Figure 22**).

Il convient toutefois de rester prudent dans l'interprétation de ces résultats, car il s'agit ici d'une analyse réalisée sur une biopsie de TAV entier. Or, ce tissu est constitué majoritairement d'adipocytes, tandis que les ADSC sont concentrées dans la FSV, qui ne représente qu'une proportion relative de l'ensemble tissulaire. Dans ce contexte, les variations transcriptomiques observées peuvent être fortement diluées par le signal des autres populations cellulaires présentes dans le tissu, ce qui limite la lecture directe des modifications spécifiques aux ADSC ou aux progéniteurs adipocytaires. Un tri cellulaire préalable, ou idéalement une approche de type single-cell RNA-seq, permettrait d'obtenir une vision plus spécifique des altérations de l'engagement adipogénique au sein du TAV obèse.

Ces résultats suggèrent donc un remodelage du programme adipogénique dans le TAV obèse, mais leur interprétation doit rester prudente en raison de l'hétérogénéité cellulaire du tissu. Dans ce contexte, il est intéressant de les rapprocher de nos travaux récemment acceptés pour publication (Barbosa et al., 2026), qui ont mis en évidence une surproduction d'ECs dans le TAV obèse insulinorésistant, associée à une dysfonction tissulaire marquée. Cette dérégulation du SEC pourrait contribuer à modifier l'environnement local de la niche stromale et influencer, directement ou indirectement, l'engagement des cellules progénitrices vers la lignée adipocytaire. Ainsi, au-delà des modifications transcriptionnelles observées dans le tissu entier, ces données renforcent l'intérêt d'explorer plus précisément le rôle du SEC dans la régulation de la fonction des ADSC et des étapes précoces de l'adipogenèse.

b. Étude de la fraction stromale vasculaire des souris contrôles

Compte tenu des limites évoquées précédemment, l'étude de l'adipogenèse a été recentrée sur la FSV. Pour cela, le laboratoire a mis en place une approche méthodologique permettant l'isolement

des cellules de la FSV de souris, l'entretien de cette primo-culture et l'induction de leur différenciation en adipocytes. Dans un second temps, ce modèle a fait l'objet d'expériences préliminaires afin d'évaluer l'action d'agonistes de CB1R sur l'adipogenèse.

i. Méthodologie

Les cellules de la FSV ont été isolées à partir du TAV prélevé chez des souris mâles C57BL/6J soumises à un régime standard. Après prélèvement, le TAV a été dissocié mécaniquement et enzymatiquement à l'aide de collagénase et de dispase, puis les cellules de la FSV ont été récupérées après plusieurs étapes de filtration et de centrifugation. Les cellules obtenues ont ensuite été remises en suspension dans un milieu de culture complet (MCC : DMEM/F12, 10 % SVF, 1 % P/S), puis ensemencées dans des plaques 12 puits et incubées à 37 °C sous 5 % de CO_2. Le protocole complet est détaillé dans la partie « Matériels et Méthodes : 2.b ».

Au bout de deux heures, les cellules adhérentes ont été enrichies par plusieurs lavages successifs afin d'éliminer les cellules non adhérentes. Le MCC a ensuite été renouvelé toutes les 48 h jusqu'à atteindre la confluence. Dès le premier changement de milieu, correspondant au temps 0 (T_0), et jusqu'à la fin de la phase proliférative, les cellules traitées ont été incubées en présence de l'agoniste de CB1R, l'ACEA (arachidonyl-2'-chloroethylamide ; 1 µM), tandis que les cellules contrôles ont reçu le véhicule (DMSO) (**Figure *23***).

Une fois confluentes, les cellules ont été différenciées pendant quatre jours dans un milieu de différenciation, puis pendant cinq jours dans un milieu de maintien. Lors de ces deux phases, le milieu a été renouvelé tous les deux jours. L'ACEA, n'ayant pas été ajouté au cours de la différenciation, les effets observés au cours de cette phase reflètent uniquement l'impact d'une exposition transitoire à l'ACEA pendant la seule phase proliférative (**Figure *23***).

Le protocole expérimental de l'étude de la FSV de souris contrôles est schématisé ci-dessous (**Figure *23***) :

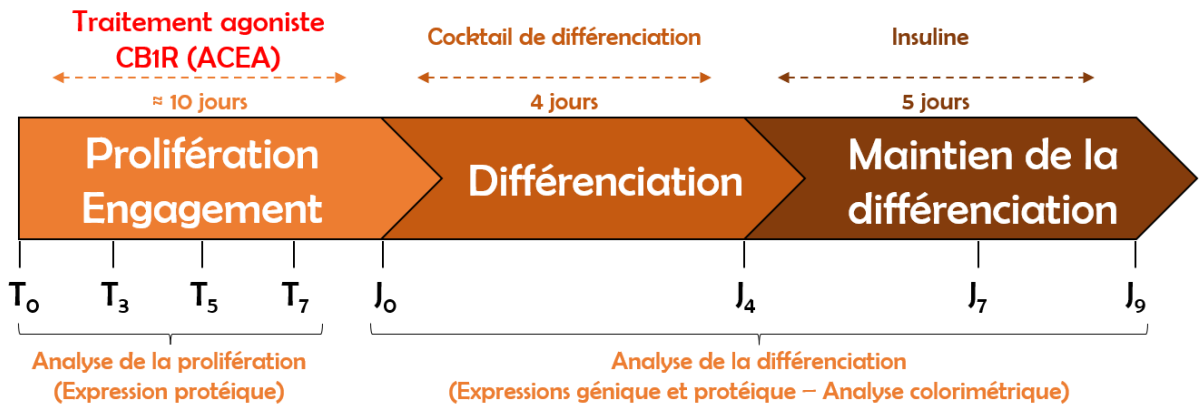


Figure 23 - Schéma du protocole expérimental d'étude de la FSV de souris contrôles en présence de l'agoniste de CB1R (ACEA) *: Représentation du protocole expérimental de la primo-culture de la FSV de souris contrôles, depuis la phase de prolifération/engagement sous traitement avec l'ACEA à 1 µM jusqu'à la phase de différenciation puis de maintien de la différenciation, avec les différents temps d'analyse réalisés au cours du protocole.*

ii. Composition de la primo-culture de la FSV de souris saines (T_0)

Dans un premier temps, la composition de la primo-culture des cellules isolées de la FSV est évaluée après deux heures d'adhérence en plaque de 12 puits. Parallèlement, les cellules non adhérentes, récupérées lors des étapes de lavage, sont également analysées par cytométrie en flux. Cette approche permet de déterminer la proportion des différentes populations cellulaires présentes au moment de l'ensemencement, puis de suivre leur évolution au cours du temps. La méthodologie utilisée est décrite dans la partie « Matériels et Méthodes : 4 »

Une stratégie d'analyse en cytométrie en flux a donc été mise en place afin d'identifier le plus de populations possibles parmi les cellules issues de la FSV (**Figure 24**).

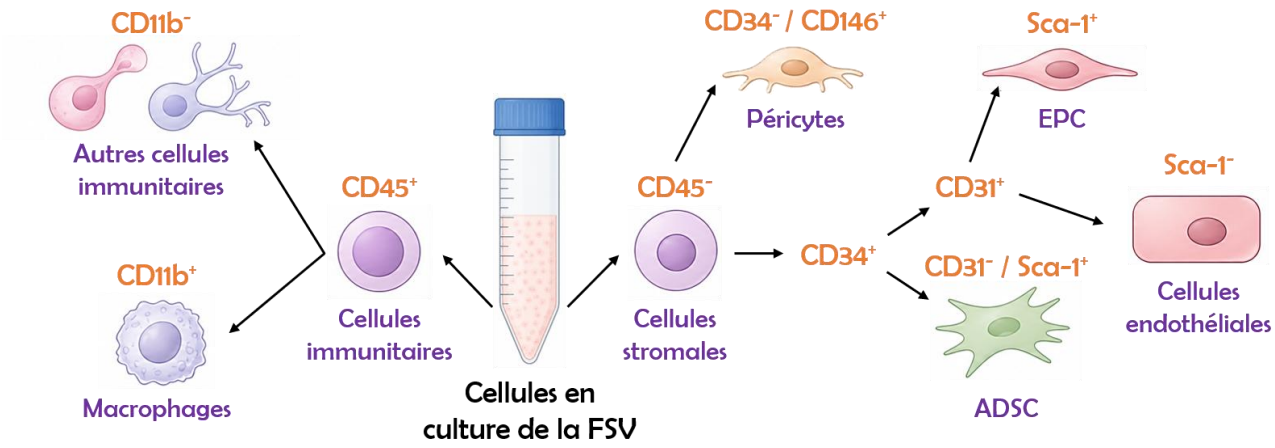


Figure 24 - Stratégie d'identification des populations cellulaires présentes dans la primo-culture de la FSV par cytométrie en flux *: Schéma de la stratégie de cytométrie en flux mise en place pour identifier les principales populations cellulaires présentes dans la primo-culture de la fraction stromale vasculaire (ADSC : cellules stromales dérivées du tissu adipeux ; EPC : progéniteurs endothéliaux).*

Dans un premier temps, l'expression de CD45 (protein tyrosine phosphatase receptor type C) permet de distinguer les cellules immunitaires des cellules stromales : les cellules $CD45^+$ sont immunitaires, tandis que les cellules $CD45^-$ correspondent aux cellules stromales. Parmi les cellules immunitaires, les macrophages sont identifiés par l'expression de CD11b (integrin alpha M) (**Figure *24***).

Pour les cellules stromales, les péricytes sont ensuite caractérisés grâce au marqueur CD146 (melanoma cell adhesion molecule). En effet, ils sont $CD146^+$ et $CD34^-$ (cluster of differentiation 34), alors que les autres cellules stromales sont $CD34^+$. Le marqueur CD31 (platelet endothelial cell adhesion molecule) permet de différencier les cellules endothéliales ($CD31^+$) des ADSC ($CD31^-$). Enfin, la positivité à Sca-1 (stem cell antigen-1) permet d'isoler les EPC des cellules endothéliales et de confirmer la caractérisation des ADSC (**Figure *24***).

La composition des cellules adhérentes et des cellules non adhérentes est décrite dans le tableau ci-dessous (**Tableau *4***) :

Tableau 4 - Composition des cellules adhérentes et non adhérentes de la FSV de souris minces *: Répartition des différentes populations cellulaires identifiées parmi les cellules adhérentes et non adhérentes isolées à partir de la FSV de souris minces, analysées par cytométrie en flux. Les résultats sont exprimés en pourcentage moyen ± erreur type. (ADSC : cellules stromales dérivées du tissu adipeux ; EPC : progéniteurs endothéliaux) (n = 3).*

Type cellulaire	Cellules adhérentes (%)	Cellules non adhérentes (%)
ADSC	51,6 ± 10,2	13,8 ± 5,8
Macrophages	14,5 ± 2,3	10,5 ± 2,1
Autres cellules immunitaires	7,4 ± 1,4	7,9 ± 1,4
Cellules endothéliales	12,3 ± 3,9	8,2 ± 2,4
EPC	2,6 ± 1,4	4,4 ± 1,6
Péricytes	6,4 ± 2,2	50,8 ± 4,3
Cellules non identifiées	5,2 ± 2,3	4,4 ± 2,1

L'analyse de la composition des cellules adhérentes montre que la population majoritaire correspond aux cellules d'intérêt, à savoir les ADSC, qui représentent 51,6 % ± 10,2 de la fraction adhérente. Cependant, cette population est accompagnée d'une proportion non négligeable de cellules immunitaires, principalement des macrophages (14,5 % ± 2,3) et d'autres cellules immunitaires (7,4 % ± 1,4). Les cellules endothéliales constituent également une fraction importante des populations adhérentes (12,3 % ± 3,9), tandis que les EPC représentent une population minoritaire (2,6 % ± 1,4). Enfin, les péricytes et les cellules non identifiées représentent respectivement 6,4 % ± 2,2 et 5,2 % ± 2,3 de la fraction adhérente. Ces proportions sont globalement cohérentes avec les données rapportées dans la littérature (Ramakrishnan and Boyd, 2018).

À l'inverse, la composition des cellules non adhérentes après deux heures d'incubation est dominée par les péricytes, qui représentent environ 50,8 % ± 4,3 de cette fraction. Les autres populations cellulaires présentent des proportions globalement comparables à celles observées dans la fraction adhérente, avec 10,5 % ± 2,1 de macrophages, 7,9 % ± 1,4 d'autres cellules immunitaires, 8,2 % ± 2,4 de cellules endothéliales et 4,4 % ± 1,6 d'EPC, à l'exception des ADSC, nettement moins abondantes (13,8 % ± 5,8).

Ces résultats montrent que, malgré l'enrichissement en ADSC obtenu après adhérence, une stratégie couramment utilisée dans de nombreux protocoles expérimentaux, la FSV demeure une population cellulaire très hétérogène. Dans notre modèle de primo-culture de la FSV, la présence conjointe de cellules immunitaires, de cellules endothéliales et de péricytes ne correspond pas à un compartiment homogène, mais à un microenvironnement complexe dans lequel les interactions entre populations cellulaires peuvent moduler les propriétés des ADSC et, plus largement, la régulation de l'adipogenèse.

iii. Impact de l'activation de CB1R sur l'accumulation lipidique (J_7/J_9)

Nous avons tout d'abord cherché à déterminer l'impact de l'activation de CB1R sur l'accumulation lipidique par coloration à l'Oil Red O, une approche conventionnelle permettant de caractériser et quantifier la différenciation adipocytaire (cf. Matériel et Méthodes : 3). L'analyse des résultats révèle que l'activation de CB1R par l'agoniste ACEA pendant la phase de prolifération a diminué *in fine* l'accumulation de lipides neutres de 25 % au J_7 et de 36 % au J_9 (**Figure *25***).

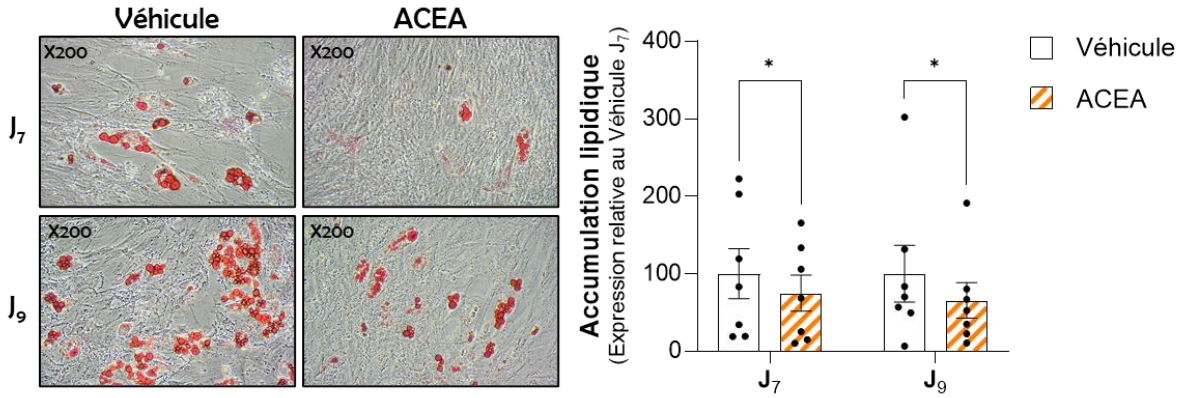


Figure 25 - Effet de l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération sur l'accumulation lipidique des cellules de la primo-culture de FSV de souris minces *: Images représentatives de la coloration Oil Red O et quantification spectrophotométrique relative de l'accumulation de lipides neutres aux jours 7 et 9 après traitement avec le véhicule ou l'ACEA. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Chaque point correspond à une paire appariée, et l'analyse statistique a été réalisée par une ANOVA à deux facteurs appariée (N = 7 ; en quadruplicat).*

Ces résultats montrent que l'activation de CB1R durant la phase proliférative réduit significativement l'accumulation de lipides neutres, suggérant une altération précoce du programme adipogénique, possiblement dès l'étape d'engagement des cellules progénitrices.

iv. Impact de l'activation de CB1R sur l'expression génique (J_0 à J_9)

Afin d'évaluer l'impact de l'activation de CB1R sur l'engagement adipocytaire et la différenciation, nous avons analysé par PCR l'expression de plusieurs marqueurs moléculaires de la différenciation adipocytaire aux différents temps de culture, de J_0 à J_9.

Concernant les marqueurs moléculaires, la différenciation adipocytaire se traduit classiquement par l'induction de gènes impliqués dans le transport et le métabolisme lipidique, tels que *Cd36*, *Fabp4* et *Lpl*. Dans notre modèle, l'expression de ces trois gènes augmente nettement à partir du J_4, ce qui est compatible avec une induction efficace du programme adipogénique et l'acquisition progressive d'un phénotype adipocytaire mature. Leur expression tend ensuite à diminuer aux J_7 et J_9, probablement en lien avec le remplacement du milieu de différenciation par un milieu de maintien moins fortement adipogénique (statistiques non représentées graphiquement) (**Figure *26***). Le traitement préalable par l'agoniste de CB1R pendant la phase de prolifération s'accompagne d'une diminution significative de l'expression de *Cd36* (37%), *Fabp4* (34%) et *Lpl* (19%), principalement au J4, ainsi qu'au J7 pour *Cd36* (48%) et *Lpl* (23%), suggérant une atténuation de l'engagement vers un programme adipocytaire et lipogénique (**Figure *26***).

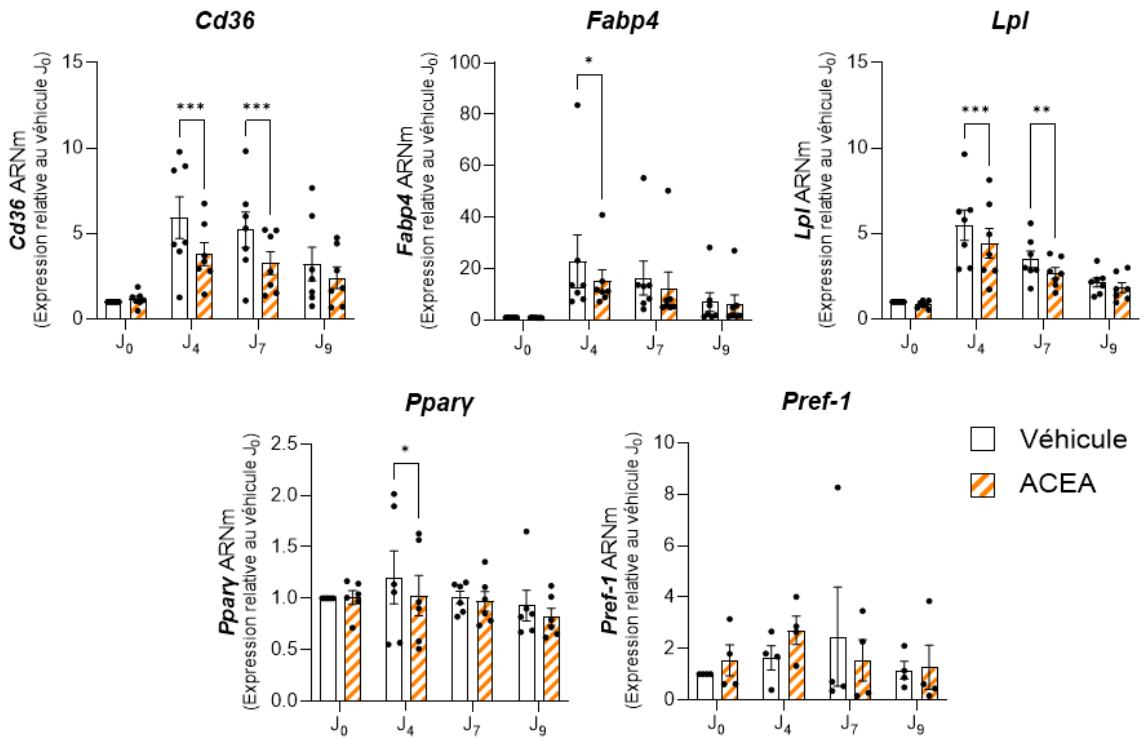


Figure 26 - Effet de l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération sur l'expression de marqueurs adipocytaires dans la primo-culture de FSV de souris minces *: Expression relative par rapport au véhicule (J_0) de Cd36, Fabp4, Lpl, Pparg et Pref-1 aux jours J_0, J_4, J_7 et J_9 après traitement pendant la phase de prolifération avec le véhicule ou l'agoniste CB1R ACEA. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Chaque point correspond à une paire appariée, et l'analyse statistique a été réalisée par une ANOVA à deux facteurs appariée (N = 7 ; en quadruplicat).*

PPARγ, considéré comme un régulateur majeur de l'adipogenèse, ne présente pas d'augmentation significative au cours de la différenciation (**Figure 26**). Cette cinétique peut s'expliquer par le fait que son expression est souvent transitoire et fortement dépendante des conditions de culture, des signaux du milieu et du temps d'analyse, le pic d'induction pouvant être très éphémère (Staiger et al., 2002; Tzameli et al., 2004). De plus, les observations microscopiques suggèrent qu'une faible fraction des cellules s'engage réellement dans le programme adipocytaire et devient des adipocytes matures. Dans ce contexte, le signal porté par ces cellules peut être masqué par la forte proportion d'autres populations cellulaires présentes dans une culture hétérogène issue de la FSV. Dans notre expérience, le traitement préalable par l'agoniste de CB1R induit néanmoins une diminution significative de l'expression de *PPARγ* au J4 (17%), et surtout s'accompagne d'une diminution de l'expression de gènes qu'il régule (*Cd36, Fabp4 et Lpl)*, ce qui va dans le sens d'un effet inhibiteur sur l'activation du programme adipogénique (**Figure 26**).

Enfin, *Pref-1,* codant pour la protéine Preadipocyte factor 1, est un marqueur classiquement associé à l'état préadipocytaire et dont la répression accompagne habituellement l'entrée dans la différenciation (Boney et al., 1996; Hudak et al., 2014). Dans notre cas, son expression ne diminue pas

au cours du temps. Cette observation peut traduire une dynamique de différenciation incomplète, ou encore un signal dilué par la présence importante de cellules non engagées au sein de la culture, ce qui est cohérent avec un modèle issu de FSV, intrinsèquement hétérogène. Le traitement par l'agoniste de CB1R ne modifie pas non plus de manière évidente l'expression de *Pref-1*, suggérant que son effet se situe davantage en amont, au niveau de l'activation initiale du programme adipogénique, qu'au niveau de l'extinction de ce marqueur de préadipocyte (**Figure *26***).

Ensemble, ces résultats suggèrent que l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération pourrait freiner l'engagement adipocytaire, entraînant ainsi une diminution de l'expression des gènes adipocytaires au cours de la différenciation, en accord avec les observations obtenues par coloration ORO. Afin d'expliquer ces résultats, deux hypothèses peuvent être envisagées. La première est que CB1R pourrait réduire la prolifération des ADSC, ce qui limiterait *in fine* le nombre de cellules capables de s'engager dans la différenciation adipocytaire. La seconde est que l'activation de CB1R exerce un effet direct sur le programme adipogénique, en modulant l'étape d'engagement adipocytaire.

v. Impact de l'activation de CB1R sur la prolifération cellulaire (T_0 à J_0)

En effet, il a déjà été mis en évidence que CB1R jouait un rôle sur la prolifération dans d'autres types cellulaires notamment les cellules souches neurales (Aguado et al., 2005). Pour tester cette première hypothèse, un protocole a été mis au point afin d'étudier la phase proliférative des ADSC en culture (**Figure *27***) « Matériels et Méthodes : 4 ». Dans un premier temps, les débris, les doublets et les cellules mortes ont été exclus de l'analyse. Les cellules immunitaires ainsi que les cellules endothéliales, y compris les EPC, ont ensuite été éliminées de l'analyse. Ainsi, seule la population d'ADSC a été retenue pour l'évaluation de l'expression de Ki-67, à partir de la médiane de fluorescence de Ki-67 mesurée dans l'ensemble de cette population (**Figure *27***). Ki-67 a été choisi comme marqueur global de prolifération cellulaire, afin d'évaluer si l'activation de CB1R modifie l'activité proliférative des ADSC, sans chercher à identifier précisément la phase du cycle cellulaire affectée (Scholzen and Gerdes, 2000).

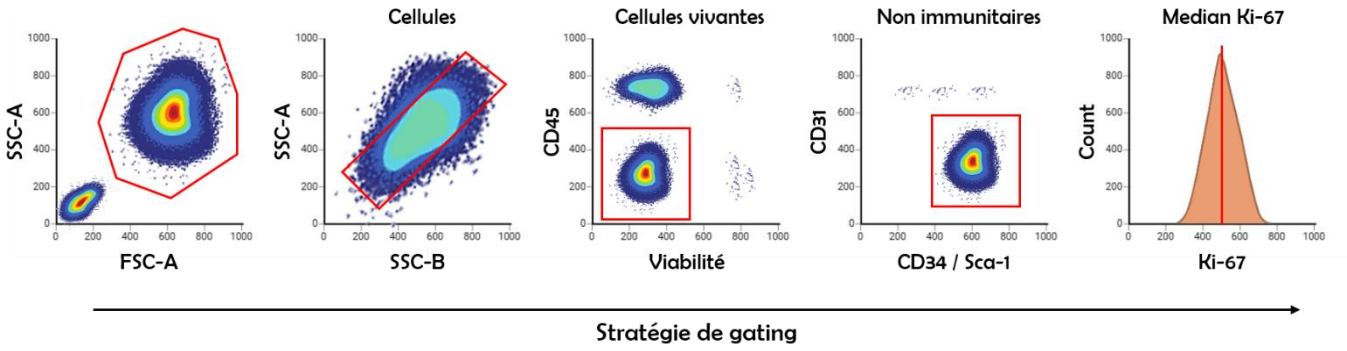


Figure 27 - Stratégie de gating pour l'analyse de la prolifération des ADSC par cytométrie en flux *: Les débris, les doublets et les cellules mortes ont d'abord été exclus de l'analyse. Les cellules immunitaires, ainsi que les cellules endothéliales et les EPC, ont ensuite été éliminées afin de sélectionner la population d'ADSC. L'expression de Ki-67 a finalement été évaluée au sein de cette population à partir de la médiane de fluorescence*. (FSC-A : Forward Scatter Area, SSC : Side Scatter Width/Area).

Il est important de noter que cette expérience n'a pas pu être menée à son terme en raison de résultats préliminaires et de plusieurs problèmes expérimentaux. Néanmoins, les premiers résultats statistiquement analysables obtenus au temps T_3, correspondant à trois jours après le début de l'expérience, ne montrent aucun effet du traitement par l'agoniste de CB1R sur l'expression protéique de Ki-67. De même, aucune tendance apparente n'a été observée aux temps T_5 et T_7 au cours de la phase de prolifération (**Figure *28A***). Ces résultats contrastent fortement avec ceux obtenus précédemment dans une lignée de cellules HEK 293 surexprimant CB1R (**Figure *28B***). Dans ce modèle « Matériels et Méthodes : 2.a.i », un temps de traitement pour atteindre 50 % de confluence par l'ACEA diminuait significativement l'expression protéique de Ki-67 de 18%, et cet effet était annulé par le rimonabant, agoniste inverse de référence de CB1R (**Figure *28B***).

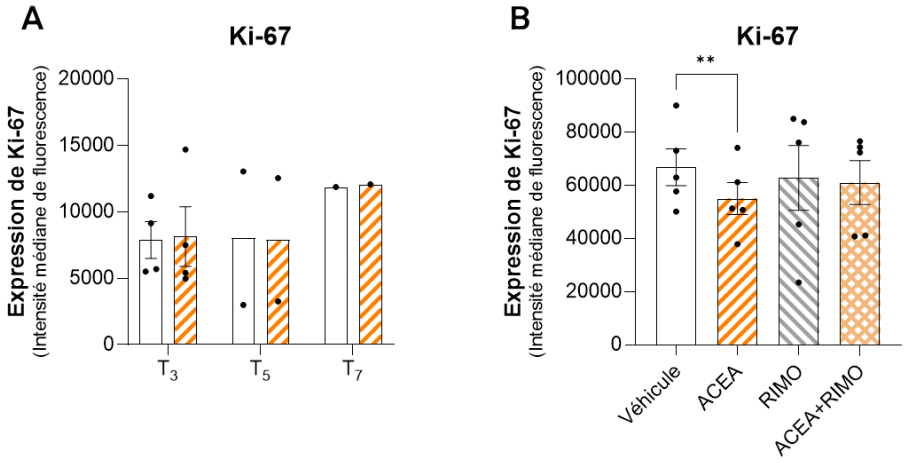


Figure 28 - Suivi temporel de l'expression de Ki-67 dans les ADSC et dans les cellules HEK 293 surexprimant CB1R *: (A) Analyse de Ki-67 dans les ADSC aux temps T3, T5 et T7 de la phase de prolifération. (B) Analyse de Ki-67 dans les cellules HEK 293 surexprimant CB1R au temps $T_{50\,\%\,de\,confluence}$ de la phase de prolifération. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Chaque point correspond à une paire appariée, et l'analyse statistique a été réalisée par une ANOVA à deux facteurs appariée. (N = 1 à 4 ; en quadruplicat).*

Dans la littérature, il a été montré que certains agonistes, comme le WIN55,212-2, pouvaient réduire la prolifération des ADSC humaines en culture (Ruhl et al., 2020). Toutefois, cet effet pourrait difficilement être attribué uniquement à une action directe sur les ADSC, car ce composé présente une plus forte affinité pour CB2R que l'ACEA, ce qui pourrait également activer les cellules immunitaires environnantes et induire un effet indirect sur la prolifération des ADSC. Par ailleurs, le WIN55,212-2 a été utilisé à une concentration de 30 µM, nettement supérieure à celle d'ACEA dans notre modèle (1 µM) (Ruhl et al., 2020). Enfin, ces travaux ne permettent pas de distinguer clairement une inhibition de la prolifération d'une augmentation de la mortalité cellulaire (Ruhl et al., 2020).

vi. Impact de l'activation de CB1R sur le phénotype cellulaire (J_0 à J_4)

Au regard des résultats obtenus sur la prolifération, nous avons donc examiné l'impact de l'activation de CB1R sur l'engagement adipogénique des cellules. Plus précisément, l'évolution de la population d'ADSC et de préadipocytes potentiels a été suivie par cytométrie en flux. Toutefois, il n'existe pas à ce jour de phénotype clairement caractérisé dans la littérature pour définir ces populations, et les données publiées sont parfois contradictoires.

La stratégie de gating suivante a donc été retenue. Comme précédemment, les débris, les doublets et les cellules mortes ont été exclus de l'analyse. Les cellules immunitaires ainsi que les cellules endothéliales, y compris les EPC, ont ensuite été retirées. Parmi les cellules restantes, les ADSC engagées sont majoritairement décrites comme $CD24^-$ (Signal transducer 24), tandis que les ADSC non engagées sont décrites comme $CD24^+$. Le marqueur CD34, dont l'expression diminue après trois jours de culture, avait été remplacé par Sca-1 dans la stratégie précédente. Cependant, CD34 réapparaît lentement dans une sous-population de $CD24^-$, que certains travaux de la littérature décrivent comme présentant un fort potentiel adipogénique (Berry and Rodeheffer, 2013). Enfin, une partie de ces cellules commence également à exprimer CD36, bien que cette expression reste modérée (Gao et al., 2017) (**Figure *29***) :

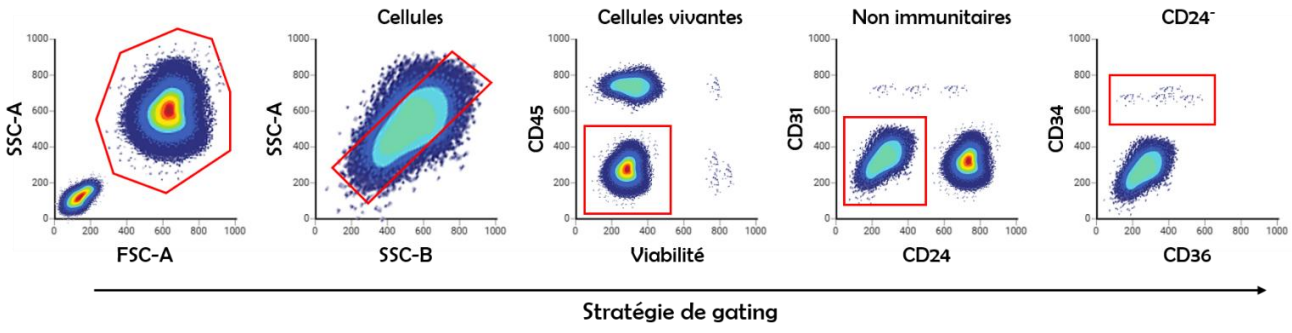


Figure 29 - Stratégie de gating pour l'identification des ADSC engagées (préadipocytes) par cytométrie en flux : *Les débris, les doublets et les cellules mortes ont d'abord été exclus de l'analyse. Les cellules immunitaires, ainsi que les cellules endothéliales et les EPC, ont ensuite été éliminées afin de sélectionner la population d'ADSC. Les cellules d'intérêt ont été sélectionnées comme étant $CD24^-$ et $CD34^+$. Ces cellules étaient modérément positives à $CD36^{-/+}$.* (FSC-A : Forward Scatter Area, SSC : Side Scatter Width/Area).

Cette expérience a été réalisée au temps J_0, correspondant à la confluence, jusqu'aux jours J_4 et J_7 après traitement par l'agoniste, c'est-à-dire pendant la phase de différenciation adipocytaire. La population observée ($CD45^-$, $CD31^-$, $CD24^-$, $CD34^+$, $Sca1^{mid}$ et $CD36^{mid}$) augmente progressivement au cours du temps, ce qui concorde avec les observations microscopiques ainsi qu'avec les résultats de la coloration à l'Oil Red O, montrant qu'un faible nombre de cellules présentait une accumulation lipidique au J_7 (**Figure *30***). Le traitement par l'agoniste tend à réduire cette population au cours du temps, avec un effet quasiment statistique (*p-value : 0,069*) au J_7 (**Figure *30***). Cette expérience devra être répétée afin d'augmenter la puissance statistique et de confirmer si cette tendance se maintient ou devient significative.

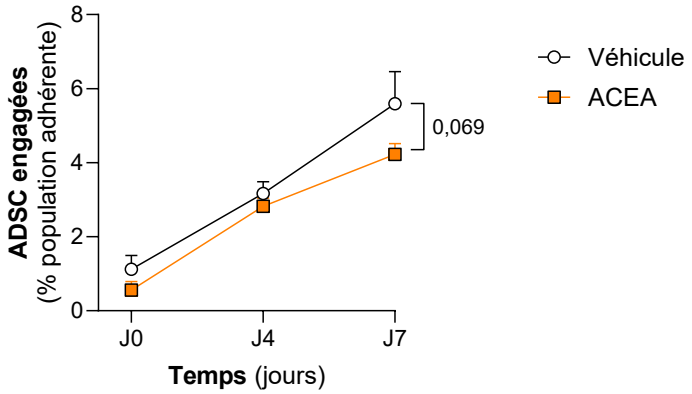


Figure 30 - Suivi temporel de l'engagement des ADSC au cours de la différenciation après traitement par l'agoniste *: L'évolution de la population d'ADSC engagées a été analysée à J_0, J_4 et J_7, au cours de la phase de différenciation adipocytaire, après traitement avec l'agoniste CB1R, à l'aide du phénotype suivant « $CD45^-$, $CD31^-$, $CD24^-$, $CD34^+$, $Sca1^{mid}$ et $CD36^{mid}$ » en cytométrie en flux. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Chaque point correspond à une paire appariée, et l'analyse statistique a été réalisée par une ANOVA à deux facteurs appariée (N=3)*

Dans l'ensemble, ces résultats obtenus sur la primo-culture de FSV de souris minces montrent qu'un modèle relativement enrichi en ADSC, mais fortement hétérogène, est capable de différencier une fraction limitée de cellules en adipocytes sous l'effet du cocktail adipogénique, comme en témoigne l'augmentation transitoire de *Cd36, Fabp4 et Lpl* au J_4 (**Figure *26***), l'apparition de gouttelettes lipidiques (**Figure *25***) et la population $CD45^-$, $CD31^-$, $CD24^-$, $CD34^+$, $Sca1^{mid}$ et $CD36^{mid}$ en cytométrie en flux (**Figure *30***). L'activation de CB1R par l'ACEA pendant la phase proliférative réduit significativement l'accumulation de lipides neutres et diminue l'expression de plusieurs gènes adipocytaires (*Cd36, Fabp4, Lpl, Pparg*) au cours de la différenciation, suggérant un effet global défavorable à l'engagement adipocytaire plutôt qu'un simple décalage de cinétique. En revanche, l'absence d'effet sur Ki-67 dans les ADSC, contrastant avec la diminution de Ki-67 observée dans des cellules HEK 293 surexprimant CB1R, indique que, dans ce modèle de FSV, CB1R semble moduler principalement le programme adipogénique plutôt que la prolifération des ADSC.

Ainsi, ces données suggèrent que, dans la FSV de souris contrôles, l'activation de CB1R a tendance à limiter la mise en place d'un phénotype adipocytaire fonctionnel plutôt qu'à stimuler l'expansion du compartiment adipocytaire, ce qui justifie d'explorer si ces effets sont également observés dans la FSV issue de souris obèses et insulinorésistantes.

c. Étude de la fraction stromale vasculaire des souris obèses

i. Méthodologie

Des primo-cultures de la FSV à partir du TAV ont également été réalisées à partir de souris obèses. Le même régime alimentaire hyperlipidique que celui utilisé dans l'étude portant sur la production d'ECs par le TA a été retenu. Ainsi, des souris mâles C57BL/6J ont été soumises à un régime riche en graisses « Matériels et Méthodes : 1 ».

Le protocole expérimental était identique à celui décrit chez les souris contrôles : après deux heures d'adhérence, les cellules non adhérentes ont été éliminées par plusieurs lavages, puis les cellules adhérentes ont été cultivées jusqu'à confluence avec un renouvellement du milieu toutes les 48 h. À partir du premier changement de milieu, correspondant au temps 0 (T_0), les cellules ont été traitées avec l'ACEA (1 µM) pendant toute la phase proliférative, tandis que les cellules témoins recevaient le véhicule (**Figure *31***). Après confluence, les cellules ont été différenciées pendant quatre jours dans un milieu de différenciation, puis cinq jours dans un milieu de maintien, avec un renouvellement du milieu tous les deux jours. L'ACEA n'a pas été ajouté de nouveau au cours de la différenciation, de sorte que les effets observés après T_0 reflètent l'impact d'un traitement transitoire pendant la phase proliférative sur les étapes ultérieures de différenciation adipocytaire.

Le protocole expérimental de l'étude de la FSV issue de souris obèses est schématisé ci-dessous (**Figure *31***) :

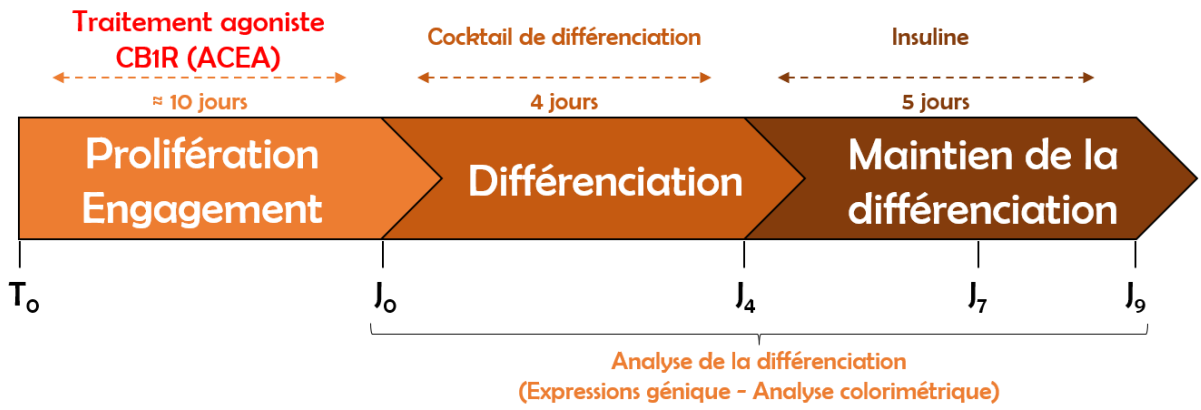


Figure 31 - Schéma du protocole expérimental d'étude de la FSV de souris obèses en présence de l'agoniste de CB1R (ACEA) *: Représentation du protocole expérimental de la primo-culture de la FSV de souris obèses, depuis la phase de prolifération/engagement sous traitement par l'ACEA à 1 µM jusqu'à la phase de différenciation puis de maintien de la différenciation, avec les différents temps d'analyse réalisés au cours du protocole.*

ii. Composition de la primo-culture de la FSV de souris obèses (T_0)

Comme pour la FSV de souris saines, la composition de la primo-culture des cellules isolées à partir de la FSV de souris obèses a été évaluée après deux heures d'adhérence dans des plaques de 12 puits. Parallèlement, les cellules non adhérentes, récupérées lors des étapes de lavage, ont également été analysées par cytométrie en flux. Cette approche permet de déterminer la proportion des différentes populations cellulaires présentes au moment de l'ensemencement, puis de suivre leur évolution au cours du temps.

Pour cela, la même stratégie d'analyse par cytométrie en flux que celle utilisée pour la FSV de souris minces a été appliquée afin d'identifier le plus grand nombre possible de populations cellulaires au sein de la FSV (**Figure *24*Figure *23***).

Il est important de noter que la composition n'a été déterminée que lors d'une seule expérience, mais étudiée sur un nombre important de cellules, indiqué dans le tableau ci-dessous (**Tableau *5***) :

Tableau 5 - Composition des cellules adhérentes et non adhérentes de la FSV de souris obèses *: Répartition des différentes populations cellulaires identifiées parmi les cellules adhérentes et non adhérentes isolées à partir de la FSV de souris obèses, analysées par cytométrie en flux (ADSC : cellules stromales dérivées du tissu adipeux ; EPC : progéniteurs endothéliaux) (n = 1).*

Type cellulaire	Cellules adhérentes (%)	Cellules non adhérentes (%)
ADSC	60,3	13,4
Macrophages	29,6	61,5
Autres cellules immunitaires	0,8	1,7
Cellules endothéliales	5,3	8,4
EPC	0,5	5,0
Péricytes	2,8	9,5
Cellules non identifiées	0,7	0,6

L'analyse de la composition des cellules adhérentes montre que la population majoritaire correspond toujours aux ADSC, qui représentent 60,3 % de la fraction adhérente, soit une proportion légèrement plus élevée que chez les souris minces (51,6 %). En revanche, les macrophages sont davantage représentés chez les souris obèses, avec une proportion de 29,6 %, contre 14,5 % chez les souris minces. À l'inverse, les autres cellules immunitaires sont moins représentées chez les souris obèses (0,8 % contre 7,4 % chez les souris minces). Les cellules endothéliales constituent également une fraction plus faible chez les souris obèses (5,3% contre 12,3 %), tout comme les EPC (0,5 % contre 2,6 %) et les péricytes (2,8 % contre 6,4 %). Enfin, les cellules non identifiées restent minoritaires chez les souris obèses (0,7 % contre 5,2 % chez les souris minces). Ces résultats suggèrent que, dans la

fraction adhérente de la FSV de souris obèses, l'enrichissement en ADSC s'accompagne surtout d'une augmentation marquée des macrophages et d'une diminution relative des cellules endothéliales et des péricytes par rapport aux souris minces (**Tableau 4**-**Tableau 5**).

L'analyse de la fraction de cellules non adhérentes révèle une nette augmentation de la proportion de macrophages, passant de 10,5 % chez les souris contrôles à 61,5 % chez les souris obèses. En revanche, les proportions d'ADSC (13,4 % contre 13,8 %), de cellules endothéliales (8,4 % contre 8,2 %) et d'EPC (5,0 % contre 4,4 %) restent globalement similaires entre les deux groupes. À l'inverse, les péricytes sont beaucoup moins présents dans la fraction non adhérente (9,5 % contre 50,8 %). Dans l'ensemble, ces résultats indiquent que la FSV de souris obèses présente une composition plus inflammatoire, avec une forte représentation relative des macrophages dans les deux fractions, alors que les cellules assurant la vascularisation du TA, comme les cellules endothéliales et les péricytes tendent à être moins présentes en proportion que chez les souris saines.

Ces données sont globalement cohérentes avec les données de la littérature, qui montrent que le TA obèse est caractérisé par une accumulation accrue de macrophages, notamment de macrophages pro-inflammatoires (Chavakis et al., 2023; Li et al., 2023). Parallèlement, un profond remodelage de la vascularisation se met en place, associé à une diminution de la densité vasculaire et à une dysfonction endothéliale, conduisant fréquemment à une hypoxie locale et à une fibrose du TA (AlZaim et al., 2023).

Comme pour la FSV de souris minces, les résultats confirment que, malgré l'enrichissement en ADSC obtenu après adhérence, la FSV de souris obèses demeure une population cellulaire hétérogène. La présence importante de macrophages et d'autres cellules stromales témoigne d'un microenvironnement cellulaire complexe, susceptible de moduler les propriétés des ADSC et, plus largement, la régulation de l'adipogenèse.

iii. Impact de l'activation de CB1R sur l'accumulation lipidique (J_7)

Les résultats de la coloration ORO montrent que l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération tend à diminuer d'environ 15% l'accumulation lipidique au J_7 après le début de la différenciation *(p-value : 0,0625)* (**Figure 32**). Bien que cette tendance ne soit pas statistiquement

significative, elle suggère un effet comparable à celui observé dans la FSV de souris minces, avec une amplitude toutefois plus faible.

Ainsi, les résultats obtenus chez les souris obèses semblent globalement aller dans le même sens que ceux observés chez la souris mince et doivent être confirmés par une analyse transcriptomique.

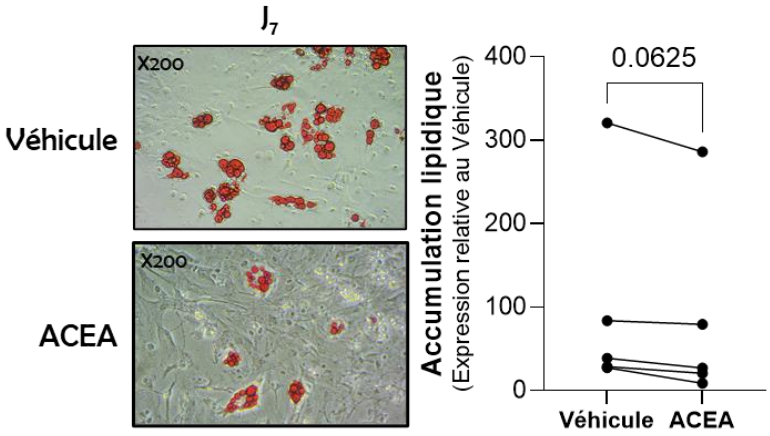


Figure 32 - Effet de l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération sur l'accumulation lipidique des cellules de la primo-culture de FSV de souris obèses *: images représentatives de la coloration Oil Red O au J_7 après traitement avec le véhicule ou l'ACEA, accompagnées de la quantification spectrophotométrique relative de l'accumulation de lipides neutres. Chaque point correspond à une paire appariée, et l'analyse statistique a été réalisée par test t apparié (N = 5, en quadruplicat).*

iv. Impact de l'activation de CB1R sur l'expression génique (J_0 à J_9)

Comme pour les souris minces, afin d'évaluer l'impact de l'activation de CB1R sur l'engagement adipocytaire et la différenciation, nous avons analysé par RT-qPCR l'expression des mêmes marqueurs adipocytaires à différents temps de culture, de J_0 à J_9 (**Figure *33***).

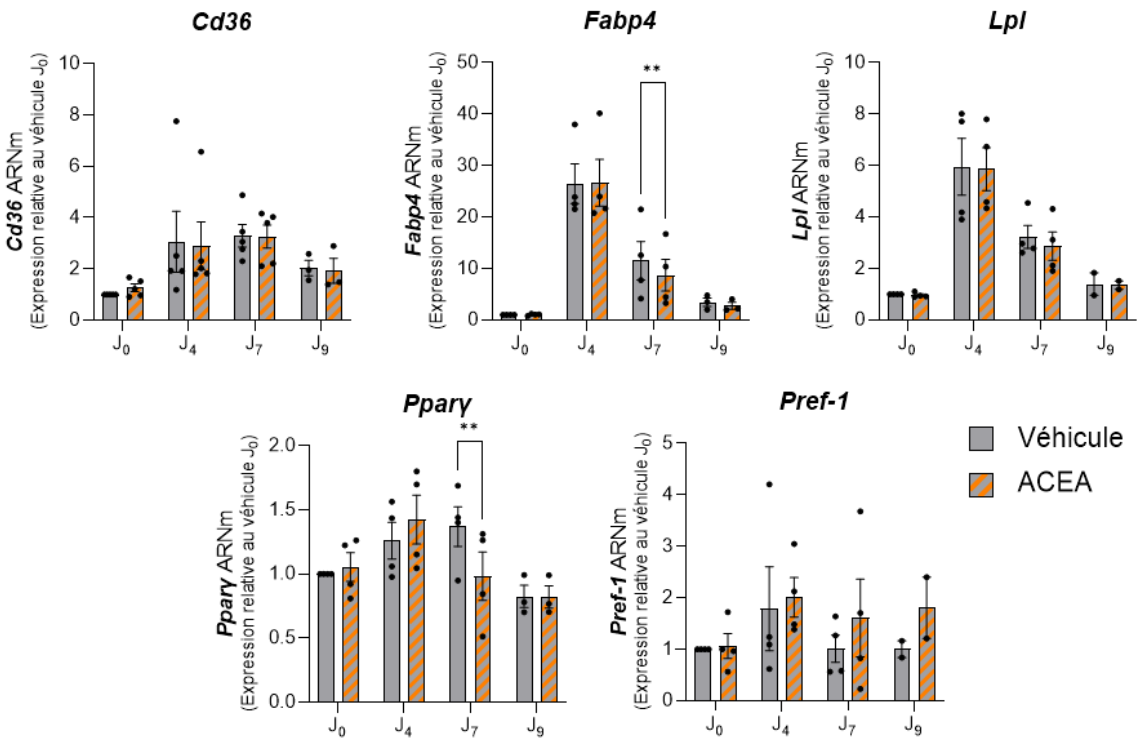


Figure 33 - Effet de l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération sur l'expression de marqueurs adipocytaires dans la primo-culture de FSV de souris obèses *: Expression relative par rapport au véhicule (J_0) de Cd36, Fabp4, Lpl, Pparγ et Pref-1 aux jours J_0, J_4, J_7 et J_9 après traitement pendant la phase proliférative avec le véhicule ou l'agoniste CB1R ACEA. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Chaque point correspond à une paire appariée, et l'analyse statistique a été réalisée par une ANOVA à deux facteurs appariée (N = 5, en quadruplicat).*

Comme observé précédemment, l'induction de la différenciation s'accompagne d'une forte augmentation de l'expression de *Cd36, Fabp4 et Lpl* au J_4 suivie d'une diminution de ces marqueurs après passage dans le milieu de maintien. Contrairement à ce qui était observé pour les souris minces, nos résultats montrent également une légère augmentation de l'expression de *Pparγ* au J_4 et J_7 (**Figure 33**). Le prétraitement par l'agoniste de CB1R pendant la phase de prolifération s'accompagne d'une diminution significative de *Fabp4* de 31 % et de *Pparγ* de 39 % au J_7 (**Figure 33**), ce qui contraste fortement avec les résultats observés dans la FSV de souris minces, où l'ensemble des gènes analysés était diminué, notamment au J_4 (**Figure 26**).

Il est important de rappeler que l'analyse de la composition de la primo-culture de la FSV de souris obèses a révélé la présence d'une proportion beaucoup plus élevée de macrophages que dans la FSV de souris minces. Or, la littérature indique que ces macrophages expriment fortement *Cd36, Fabp4, Lpl* et *Pparγ*, ce qui pourrait masquer le signal provenant des ADSC (Jaitin et al., 2019).

Concernant *Pref-1*, aucun changement significatif n'a été observé entre les différents temps de différenciation ni entre les deux conditions expérimentales (**Figure 33**).

Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération pourrait freiner légèrement l'engagement adipocytaire, comme en témoigne la baisse de *Pparγ*, et diminuer l'expression de certains gènes adipocytaires au cours de la différenciation, notamment *Fabp4*, en accord avec la tendance observée en coloration ORO (**Figure *32***). Toutefois, ces effets apparaissent beaucoup moins marqués dans notre modèle de primo-culture de FSV de souris obèses que dans le modèle de souris contrôles, suggérant que la composition cellulaire du modèle joue un rôle majeur dans les mécanismes régulant l'engagement adipocytaire.

d. Étude des préadipocytes 3T3-L1

Les cellules « préadipocytaires » 3T3-L1 constituent un modèle *in vitro* de référence pour l'étude de l'adipogenèse et du métabolisme lipidique. Elles dérivent d'un clone isolé à partir de cellules fibroblastiques embryonnaires de souris Swiss albino, sélectionné pour sa capacité à se différencier efficacement en adipocytes dans des conditions appropriées. Après confluence, ces cellules présentent une morphologie fibroblastique à l'état indifférencié et peuvent être induites à se différencier en adipocytes, avec l'apparition de gouttelettes lipidiques et l'expression de gènes spécifiques de l'adipogenèse (Cave and Crowther, 2019). Ainsi, nous avons utilisé ce modèle afin de disposer d'un outil simple pour évaluer l'impact de l'activation des CB1R sur l'adipogenèse et analyser les mécanismes de régulation impliqués.

i. Méthodologie

Les cellules 3T3-L1 ont été mises en culture dans un milieu complet différent de celui utilisé pour les cellules de la FSV, composé de DMEM/F12 high glucose, 10 % de SVF et 1 % de pénicilline-streptomycine. Elles ont ensuite été ensemencées dans des plaques de 6 puits et incubées à 37 °C sous 5 % de CO_2. Le milieu complet contenant l'ACEA a été renouvelé tous les deux jours jusqu'à l'obtention de la confluence, atteinte après environ quatre jours « Matériels et Méthodes 2.a.ii ».

À confluence, les préadipocytes ont été différenciés pendant quatre jours dans un milieu de différenciation, puis pendant trois jours supplémentaires dans un milieu de maintien. Durant ces deux phases, le milieu a été renouvelé tous les deux jours. Comme pour les études précédentes, l'ACEA n'a pas été ajouté au cours de la différenciation, de sorte que les effets observés après T_0 reflètent l'impact d'un traitement transitoire appliqué uniquement pendant la phase proliférative sur les étapes ultérieures de la différenciation adipocytaire. Le protocole expérimental de l'étude des préadipocytes 3T3-L1 est schématisé ci-dessous (**Figure *34***) :

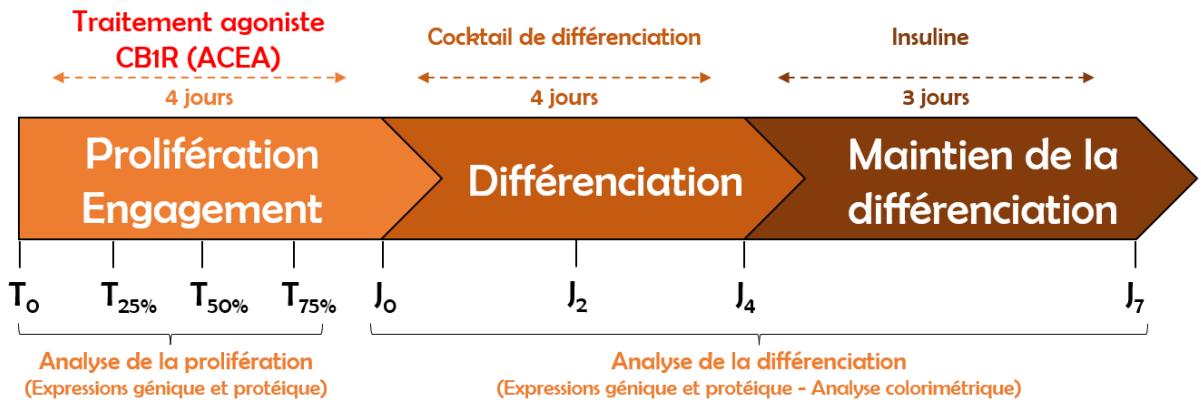


Figure 34 - Schéma du protocole expérimental d'étude des préadipocytes 3T3-L1 en présence de l'agoniste de CB1R (ACEA) : *Représentation du déroulé expérimental des préadipocytes 3T3-L1, depuis la phase de prolifération/engagement sous traitement par l'ACEA à 1 µM jusqu'à la phase de différenciation puis de maintien de la différenciation, avec les différents temps d'analyse réalisés au cours du protocole.*

ii. Impact de l'activation de CB1R sur l'accumulation lipidique (J_7)

Les résultats de la coloration ORO montrent que l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération n'induit pas de modification de l'accumulation lipidique dans le modèle de préadipocytes 3T3-L1 (**Figure 35**). Ce résultat suggère que, dans ce modèle, un traitement transitoire par l'ACEA au cours de la phase proliférative n'est pas suffisant pour influencer de manière durable le stockage lipidique au stade J_7.

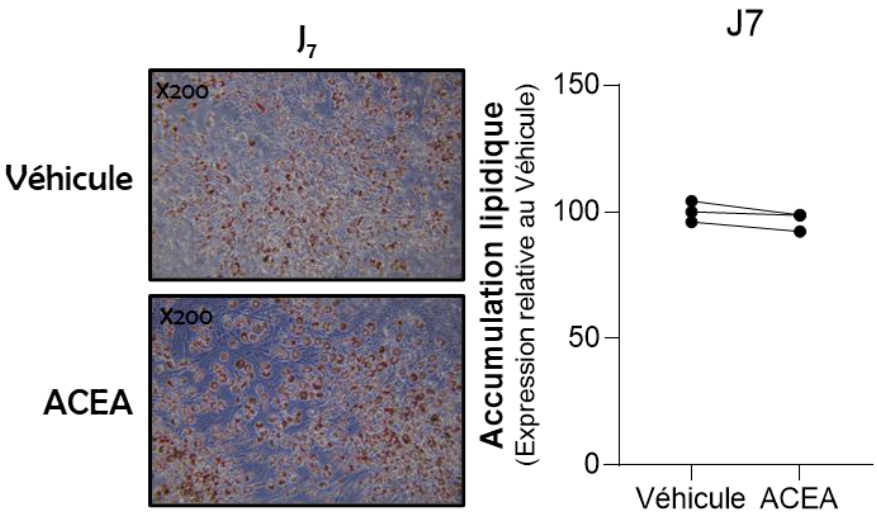


Figure 35 - Effet de l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération sur l'accumulation lipidique des cellules 3T3-L1 : *images représentatives de la coloration Oil Red O au jour 7 après traitement avec le véhicule ou l'ACEA, accompagnées de la quantification relative au véhicule de l'accumulation des lipides neutres. Chaque point correspond à une paire appariée, et l'analyse statistique a été réalisée par test t apparié (N = 3, en triplicatas).*

À l'inverse, plusieurs études rapportent que l'activation du SEC au cours de la différenciation adipocytaire peut favoriser l'adipogenèse et l'accumulation lipidique, notamment *via* CB1R. Par

exemple, l'OLGly ou le Δ^9-THC stimulent l'accumulation lipidique et l'expression de gènes adipocytaires dans les 3T3-L1, un effet aboli par l'inhibition de CB1R (Teixeira et al., 2010; Wang et al., 2015). Ces différences pourraient s'expliquer par le fait que l'effet de l'activation de CB1R dépend de la période de traitement et du contexte cellulaire.

iii. Impact de l'activation de CB1R sur l'expression génique (J_0 à J_9)

Afin d'évaluer l'impact de l'activation de CB1R sur l'engagement adipocytaire et la différenciation, nous avons analysé par PCR l'expression des mêmes marqueurs adipocytaires que précédemment aux différents temps de culture, de J_0 à J_7 (**Figure *36***).

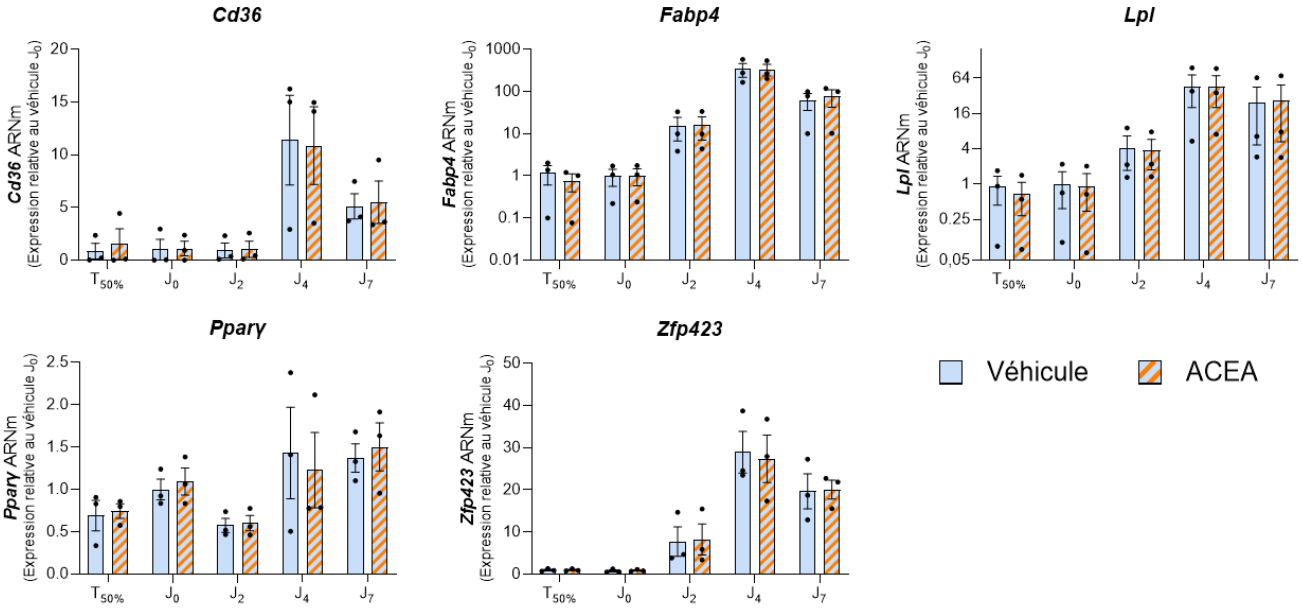


Figure 36 - Effet de l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération sur l'expression de marqueurs adipocytaires de la lignée préadipocytaire 3T3-L1 *: Expression relative par rapport au véhicule (J_0) de Cd36, Fabp4, Lpl, Pparg et Zfp423 aux temps $T_{50\%}$ de confluence, J_0, J_2, J_4 et J_7 après traitement pendant la phase proliférative avec le véhicule ou l'agoniste CB1R ACEA. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Chaque point correspond à une paire appariée, et l'analyse statistique a été réalisée par une ANOVA à deux facteurs appariée (N = 3, en quadruplicat).*

L'induction de la différenciation par le milieu de différenciation s'accompagne, comme attendu, d'une forte augmentation de l'expression de *Cd36, Fabp4 et Lpl* dès J_2, qui se poursuit jusqu'à J_4, avant une diminution partielle de ces marqueurs après le passage dans le milieu de maintien (**Figure *36***). Le prétraitement par l'agoniste de CB1R pendant la phase de prolifération n'entraîne aucune modification sur l'expression de ces gènes au cours du temps, en lien avec les résultats de la coloration ORO (**Figure *36***).

L'expression de *Pparγ* augmente progressivement au cours de l'expérience, avec une élévation visible à partir de J_4 et un maintien à J_7, ce qui est cohérent avec son rôle central dans la différenciation

adipocytaire. Ce profil suggère que les cellules 3T3-L1 s'engagent bien dans la voie adipocytaire au fil du temps, sans effet majeur de l'ACEA sur ce marqueur (**Figure *36***).

Le facteur de transcription *Zfp423*, décrit comme un marqueur précoce de l'engagement adipocytaire (Gupta et al., 2012), présente une forte augmentation à partir de J_2, qui s'accentue à J_4 et J_7. Cette dynamique est compatible avec une mise en place précoce du programme adipocytaire dans les cellules 3T3-L1, et suggère que l'engagement vers la lignée adipocytaire est déjà initié rapidement après l'induction de la différenciation.

En conclusion, ces données suggèrent que l'activation du CB1R pendant la phase de prolifération n'a pas d'effet majeur sur le développement du phénotype adipocytaire dans ce modèle. Ces résultats contrastent avec certains travaux rapportant qu'une activation du CB1R au cours de la différenciation favorise l'adipogenèse, en particulier via PPARγ (Gasperi et al., 2006; Wang et al., 2015).

Malgré ses nombreux avantages, ce modèle se distingue surtout par sa reproductibilité, sa facilité de culture et sa forte sensibilité aux signaux pro-adipogéniques, ce qui en fait un outil largement utilisé pour étudier les mécanismes moléculaires impliqués dans la différenciation adipocytaire, la lipogenèse, la sensibilité à l'insuline ainsi que les effets de composés pharmacologiques ou nutritionnels (Ruiz-Ojeda et al., 2016). Il présente cependant plusieurs limites. Il s'agit en effet d'une lignée immortalisée, homogène et d'origine murine, qui ne reflète pas entièrement la complexité cellulaire et stromale du TA *in vivo*, ni l'hétérogénéité des préadipocytes primaires. Par ailleurs, le fait que les 3T3-L1 soient déjà fortement engagées vers la lignée adipocytaire, avec une capacité très limitée à adopter un autre destin cellulaire, constitue une limite importante pour l'étude des étapes précoces de l'engagement. Enfin, les conditions de différenciation artificielles et le caractère clonal de la lignée peuvent restreindre l'extrapolation directe des résultats aux situations physiopathologiques humaines (Cave and Crowther, 2019).

iv. Impact de l'activation de CB1R sur la prolifération cellulaire (T_0 à J_0)

Afin de caractériser plus précisément la phase proliférative des cellules 3T3-L1, un protocole combinant cytométrie en flux et analyse transcriptomique a été mis au point pour les 3T3-L1 en culture. L'expression protéique a été analysée aux temps $T_{25\%}$, $T_{50\%}$ et $T_{75\%}$, correspondant respectivement à 25 %, 50 % et 75 % de confluence. Après exclusion des débris, des doublets et des cellules mortes, l'expression de Ki-67 a été utilisée comme marqueur global de prolifération cellulaire (**Figure *37***). En parallèle, l'expression génique a été évaluée à 50 % de confluence ($T_{50\%}$), puis à J_0, J_2, J_4 et J_7.

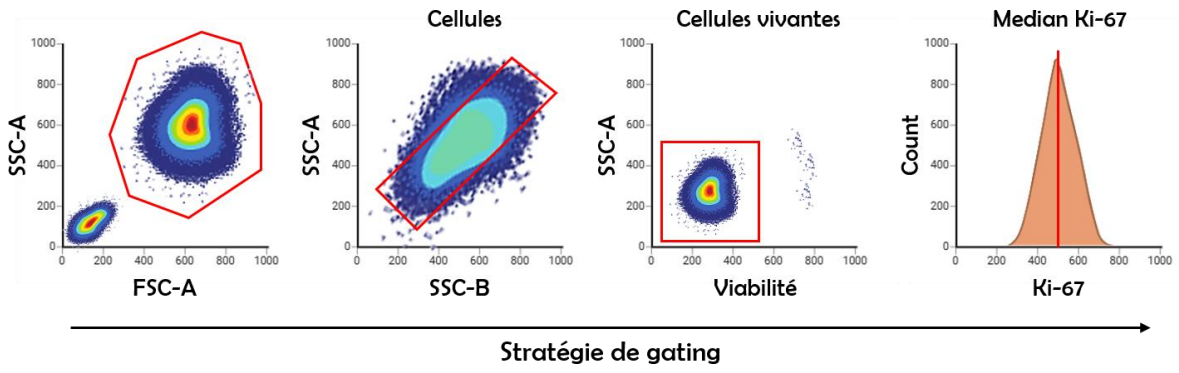


Figure 37 - Stratégie de gating pour l'analyse de la prolifération des 3T3-L1 par cytométrie en flux *: Les débris, les doublets et les cellules mortes ont d'abord été exclus de l'analyse. Les cellules vivantes ont ensuite été sélectionnées, puis l'expression de Ki-67 a été évaluée au sein de cette population comme marqueur global de prolifération cellulaire. Cette approche a été appliquée aux cellules 3T3-L1 aux différents temps de confluence et au cours du suivi temporel de la différenciation.* (FSC-A : Forward Scatter Area, SSC : Side Scatter Width/Area).

L'analyse par RT-PCR montre que l'expression génique de Ki-67 reste à un niveau basal jusqu'à la confluence, puis diminue de plus de 50 % à J_2, au moment où la différenciation a déjà été induite. Le traitement par l'agoniste de CB1R, appliqué avant la confluence, ne semble pas modifier l'expression génique de *Ki-67* (**Figure *38***).

L'analyse protéique révèle que l'agoniste de CB1R n'a pas d'effet sur l'expression de Ki-67 en début de phase proliférative. À 75 % de confluence, après trois jours de traitement, une augmentation significative de 28 % de l'expression de Ki-67 est cependant observée dans les cellules traitées avec l'ACEA. Ces résultats concordent avec la littérature montrant qu'une activation de CB1R par le Δ^9-THC augmente la prolifération des 3T3-L1 (Teixeira et al., 2010), tandis que le traitement par le rimonabant, agoniste inverse de CB1R, l'inhibe, confirmant ainsi le rôle de CB1R dans la régulation de la prolifération cellulaire (Gary-Bobo et al., 2006).

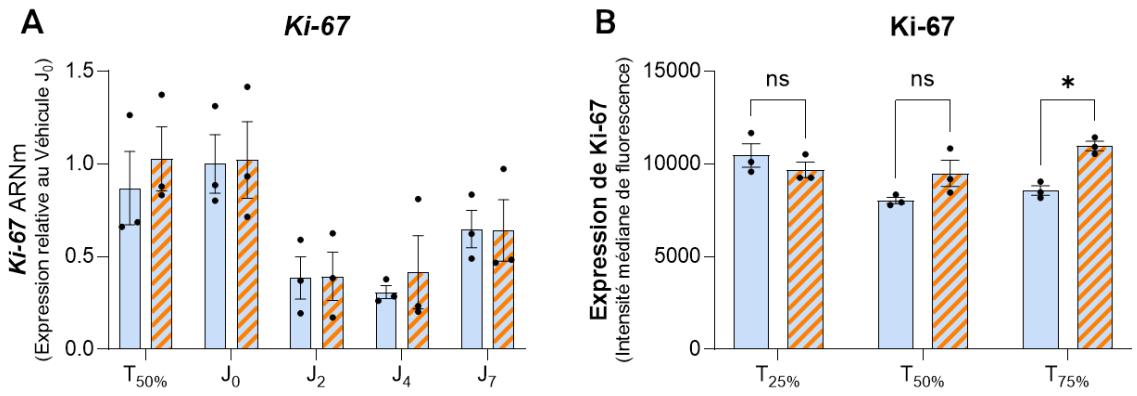


Figure 38 - Effet de l'activation de CB1R sur l'expression transcriptomique et protéomique de Ki-67 pendant la phase de prolifération *: (A) Expression génique de Ki-67 aux temps $T_{50\%}$ de confluence, J_0, J_2, J_4 et J_7, après traitement avec le véhicule ou l'agoniste de CB1R ACEA. (B) Expression protéique de Ki-67 aux temps $T_{25\%}$, $T_{50\%}$ et $T_{75\%}$ de confluence, après traitement avec le véhicule ou l'agoniste de CB1R ACEA. Les données sont exprimées en*

moyenne ± SEM. Chaque point correspond à une paire appariée, et l'analyse statistique a été réalisée par une ANOVA à deux facteurs appariée (N=3, en quadruplicat).

Ainsi, les expériences menées sur les préadipocytes 3T3-L1 montrent qu'un traitement transitoire par l'agoniste de CB1R pendant la phase de prolifération n'induit pas de modification majeure de l'accumulation lipidique, ni de l'expression de marqueurs adipocytaires, suggérant l'absence d'effet durable sur le développement du phénotype adipocytaire dans ce modèle. En revanche, l'analyse de Ki-67 indique que l'activation de CB1R peut stimuler la prolifération des 3T3-L1 à forte confluence, ce qui est en accord avec les données de la littérature décrivant une augmentation de la prolifération et de la différenciation adipocytaire lorsque CB1R est activé dans des cellules déjà engagées vers la lignée adipocytaire (Teixeira et al., 2010). Ces résultats confortent l'idée que les 3T3-L1, bien qu'utiles pour étudier la prolifération et la différenciation d'un pool de préadipocytes déjà engagés, ne constituent pas un modèle pertinent pour analyser les effets des ECs sur les étapes précoces d'engagement des cellules immatures vers la lignée adipocytaire.

Ensemble, cela suggère que les effets de l'activation de CB1R mis en évidence dans nos travaux concernent principalement les cellules stromales ou les progéniteurs moins engagés, plutôt que les préadipocytes, et doivent donc être étudiés dans des modèles plus proches de la niche adipocytaire *in vivo*, comme des ADSC isolées de la FSV.

e. Étude des ADSC isolées de souris contrôles et obèses

L'analyse transcriptomique est facilitée dans une culture enrichie ne comportant qu'un seul type cellulaire, comme cela a été montré précédemment avec les 3T3-L1. En effet, la diversité cellulaire de la FSV masque l'origine exacte des réponses observées car il est impossible de distinguer un effet direct de l'agoniste de CB1R sur les ADSC d'un effet secondaire médié par d'autres populations cellulaires. Afin de répondre à cette question, une nouvelle stratégie a été mise en place : les ADSC issues de la FSV de souris contrôles et obèses ont été préalablement triées avant ensemencement, puis traitées par l'agoniste de CB1R pendant la phase proliférative.

i. Méthodologie

Comme précédemment, le TAV a été soumis à une digestion enzymatique et mécanique afin d'isoler la FSV, après plusieurs étapes de centrifugation. Cette fois-ci, les globules rouges ont été lysés à l'aide d'un tampon spécifique, puis l'ensemble des cellules a été marqué avant d'être analysé à l'aide du cytomètre trieur AriaIII. La stratégie de gating était similaire à celle utilisée pour l'étude de la FSV. Les débris, les doublets et les cellules mortes ont été exclus de l'analyse, tandis que les cellules immunitaires et endothéliales ont été exclues respectivement sur la base de leur positivité pour CD45 et CD31. Enfin, les ADSC ont été identifiées comme les cellules positives pour CD34 et Sca-1 (**Figure *39***)

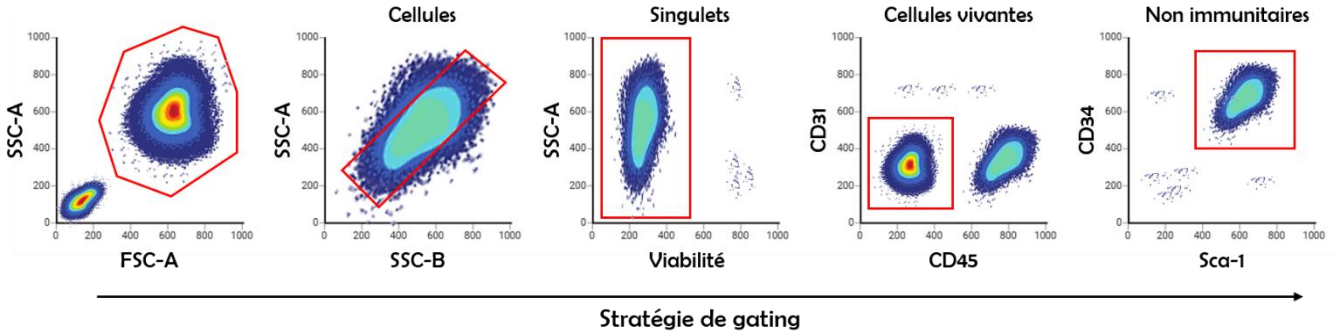


Figure 39 - Stratégie de gating pour l'isolement des ADSC de FSV fraiches de souris contrôles et obèses *: Les débris, les doublets et les cellules mortes ont d'abord été exclus de l'analyse. Les cellules vivantes ont ensuite été sélectionnées, puis les cellules immunitaires et endothéliales ont ensuite été éliminées sur la base de l'expression de CD45⁺ et de CD31⁺, respectivement. Les ADSC ont finalement été identifiées comme la population CD34⁺/Sca-1⁺/CD31⁻ et CD45⁻.* (FSC-A : Forward Scatter Area, SSC : Side Scatter Width/Area).

En raison du faible nombre d'ADSC récupérées après le tri, les cellules ont été mises en culture puis repiquées lorsqu'elles atteignaient environ 90 % de confluence. Toutefois, l'étude de l'adipogenèse n'a pas été poursuivie au-delà du passage 5, ce dernier constituant une limite au-delà de laquelle le potentiel de différenciation des ADSC peut diminuer (Yang et al., 2018). Il est important de noter que plusieurs vérifications par cytométrie en flux ont été réalisées afin de s'assurer que la population d'ADSC restait homogène au cours des passages. En utilisant la même stratégie de *gating* que précédemment (**Figure 39**), le pourcentage d'ADSC obtenu est resté supérieur à 99 % des cellules totales incubées pour l'ensemble des passages testés. Le protocole expérimental de l'étude des ADSC provenant de souris contrôles ou obèses est décrit dans la figure ci-dessous (**Figure 40**) :

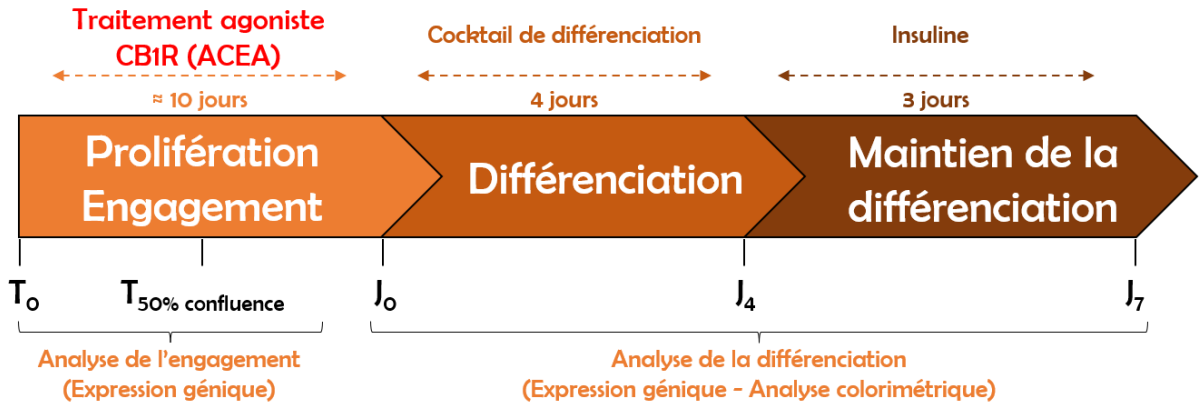


Figure 40 - Schéma du protocole expérimental d'étude des ADSC triées de la FSV de souris contrôles et obèses en présence de l'agoniste de CB1R (ACEA) *: Représentation du déroulé expérimental des ADSC triées provenant de la FSV de souris contrôles et obèses, depuis la phase de prolifération/engagement sous traitement par ACEA à 1 µM jusqu'à la phase de différenciation puis de maintien de la différenciation, avec les différents temps d'analyse réalisés au cours du protocole.*

ii. Impact de l'activation de CB1R sur l'accumulation lipidique (J_7)

Les résultats de la coloration ORO montrent que l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération n'entraîne pas de modification significative de l'accumulation lipidique dans les ADSC triées issues de la FSV de souris contrôles (**Figure 41**). En revanche, une tendance différente est observée dans les ADSC issues de la FSV de souris obèses, où le traitement par l'ACEA pendant la phase de prolifération tend à diminuer l'accumulation lipidique d'environ 45 % (*p-value : 0,0672)* (**Figure 41**).

Ces résultats suggèrent que, dans le contexte des ADSC isolées de la FSV, l'origine des cellules influence la réponse au traitement. Cela pourrait refléter un remodelage profond et intrinsèque de ces cellules chez les souris obèses, modifiant leur sensibilité aux signaux externes impliqués dans l'engagement et la différenciation adipocytaire.

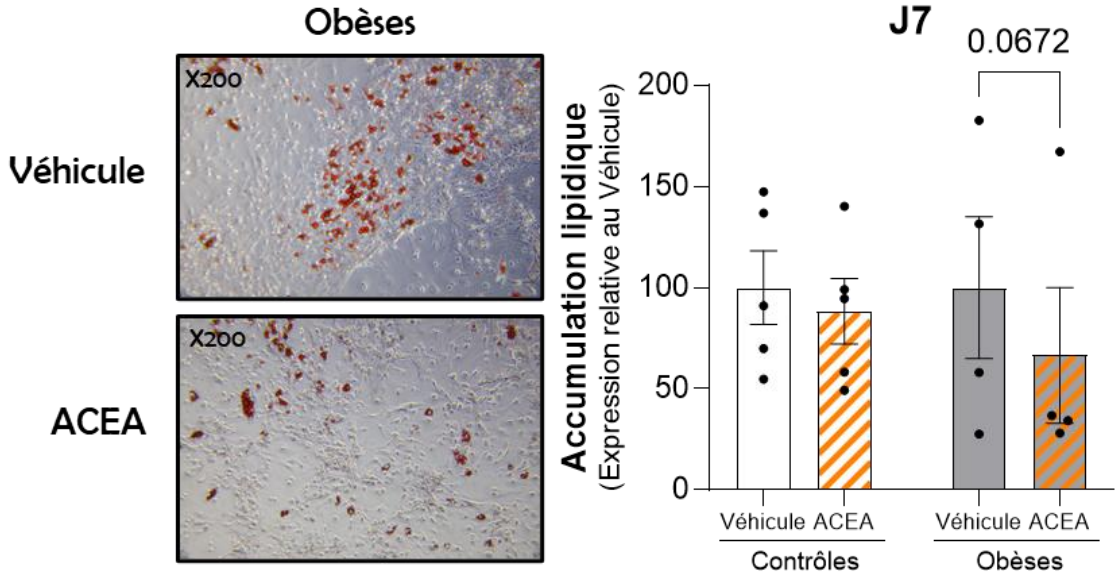


Figure 41 - Effet de l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération sur l'accumulation lipidique des ADSC triées provenant de la FSV de souris contrôles ou obèses *: images représentatives de la coloration Oil Red O au jour 7 après traitement avec le véhicule ou l'ACEA pour les ADSC des souris obèses, accompagnées de la quantification relative au véhicule de l'accumulation des lipides neutres. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Chaque point correspond à une paire appariée, et l'analyse statistique a été réalisée par une ANOVA à deux facteurs appariée (N = 4, en triplicatas).*

Au cours de cette expérience, nous avons également mesuré la taille des gouttelettes lipidiques dans les deux conditions (contrôle et obèse), ainsi que dans les deux traitements afin de déterminer si la provenance des ADSC et/ou le traitement avait un effet sur la taille des adipocytes (**Figure 42**).

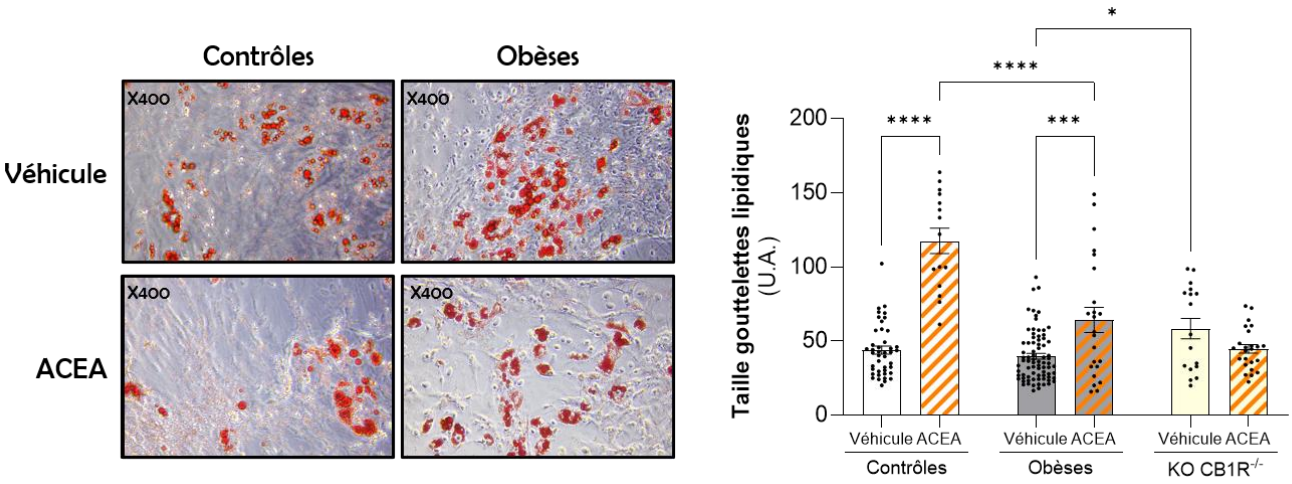


Figure 42 - Effet de l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération sur la taille des gouttelettes lipidiques des ADSC triées provenant de la FSV de souris contrôles, obèses ou KO CB1R$^{-/-}$ *: images représentatives de la coloration Oil Red O au jour 7 après traitement avec le véhicule ou l'ACEA pour les ADSC de souris contrôles et obèses, accompagnées de la taille relative des gouttelettes lipidiques mesurée sur le logiciel ImageJ. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Chaque point correspond à une gouttelette lipidique et l'analyse statistique a été réalisée par une ANOVA à deux facteurs appariée. (N = 25-80).*

Nous avons dans un premier temps analysé l'effet du traitement par l'agoniste de CB1R, appliqué pendant la phase de prolifération, sur la taille des adipocytes issus d'ADSC provenant de souris contrôles et obèses. Dans les deux cas, une augmentation significative de la taille des adipocytes est observée au J_7 après un traitement par l'ACEA. Chez les souris contrôles, l'ACEA augmente la taille des adipocytes d'un facteur 2,7, tandis que chez les souris obèses, cette augmentation est d'un facteur 1,6 (**Figure 42**). Afin de confirmer que cet effet est bien lié au traitement par l'ACEA, des ADSC issues de souris KO constitutives CB1R$^{-/-}$ ont également été utilisées. Avec ce modèle, le traitement par l'ACEA pendant la phase de prolifération n'induit aucun effet sur la taille des adipocytes (**Figure 42**). Ces résultats suggèrent que l'activation précoce de CB1R peut influencer ultérieurement la morphologie lipidique des adipocytes néoformés et leur capacité à accumuler les lipides sous forme de gouttelettes de plus grande taille. Toutefois, les cellules analysées à J_7 ne présentent pas nécessairement le phénotype d'adipocytes pleinement matures, et cette analyse ne permet pas de conclure directement à un effet de CB1R sur l'hypertrophie adipocytaire au sens physiopathologique. La caractérisation de cet effet nécessiterait notamment une maturation prolongée des cellules, une mesure de la taille cellulaire totale et l'analyse de l'organisation, du nombre et de la dynamique des gouttelettes lipidiques.

Nous avons ensuite analysé l'effet de l'origine des ADSC indépendamment du traitement. De façon surprenante, les cellules véhicule du groupe KO CB1R$^{-/-}$ présentent une taille significativement plus élevée que les ADSC provenant de souris obèses (**Figure 42**). Ce résultat pourrait suggérer un lien entre la signalisation de CB1R et le contrôle de la taille finale des adipocytes. Entre les deux groupes véhicule

issus de souris contrôles et obèses, il n'y a pas de différence statistiquement significative entre la taille des gouttelettes lipidiques. Cependant, lorsque ces cellules sont traitées avec l'agoniste CB1R, une augmentation plus faible de la taille des adipocytes est observée chez les ADSC provenant de souris obèses (**Figure 42**). Ce résultat suggère qu'un contexte d'obésité, associé à des taux plus élevés d'ECs dans le TAV (Barbosa et al., 2026), pourrait moduler le potentiel adipogénique des ADSC et conduire à une augmentation plus modérée de la taille des gouttelettes lipidiques que celle observée dans les ADSC issues de souris contrôles. Il ne permet toutefois pas de conclure à une hypertrophie adipocytaire plus ou moins importante dans ce modèle. Par ailleurs, l'activation chronique de CB1R est connue pour induire des mécanismes de tolérance, susceptibles de limiter la réponse cellulaire au cours du temps (Piscura et al., 2023). Ce phénomène pourrait traduire une moindre sensibilité des ADSC obèses à l'activation de CB1R, possiblement liée à une exposition chronique plus élevée aux ECs dans le TAV, et donc à un état de tolérance ou de désensibilisation partielle du système.

iii. Impact de l'activation de CB1R sur l'expression génique ($T_{50\%}$ à J_7)

Afin d'évaluer l'impact de l'activation de CB1R sur l'engagement adipocytaire et la différenciation, nous avons analysé par PCR l'expression des mêmes marqueurs adipocytaires que précédemment aux différents temps de culture, de $T_{50\%}$ de confluence à J_7 (**Figure 43**).

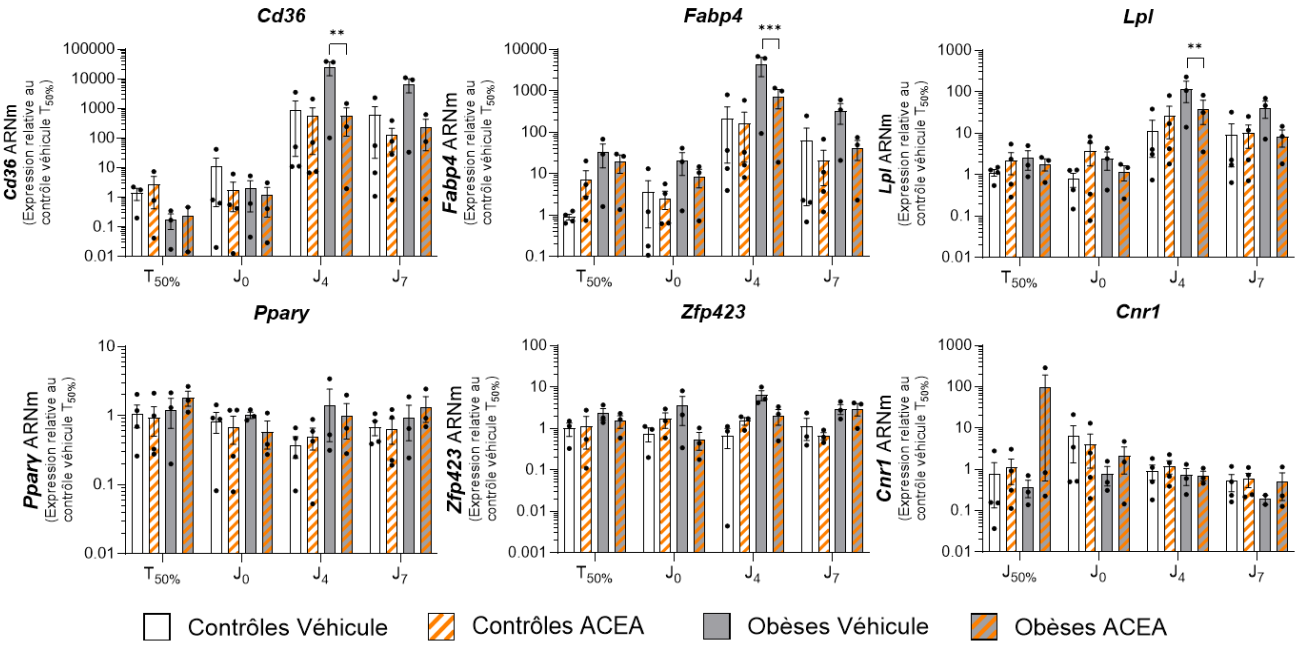


Figure 43 - Effet de l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération sur l'expression de marqueurs adipocytaires des ADSC triées de la FSV de souris contrôles et obèses *: Expression relative par rapport au véhicule ($T_{50\%}$) de Cd36, Fabp4, Lpl,* Ppary, *Zfp423* et *Cnr1* aux temps *$T_{50\%}$ de confluence, J_0, J_4 et J_7 après traitement pendant la phase proliférative avec le véhicule ou l'agoniste CB1R ACEA. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. Chaque point correspond à une paire appariée, et l'analyse statistique a été réalisée par 3-way ANOVA appariée (N = 4, en quadruplicat).*

Dans un premier temps, nous avons analysé l'évolution de l'expression génique au cours du temps. Comme attendu, l'induction de la différenciation par le milieu de différenciation s'accompagne d'une augmentation significative (données non représentées graphiquement) de l'expression de *Cd36, Fabp4* et *Lpl* à partir de J_4, suivie d'une diminution partielle de ces marqueurs en présence du milieu de maintien à partir de J7 (**Figure 43**). En revanche, l'expression de *Pparγ* et de *Zfp423* ne semble pas varier au cours du temps, ce qui peut sembler surprenant au regard de l'évolution des autres marqueurs adipocytaires (**Figure 43**). Toutefois, ces deux facteurs de transcription interviennent précocement dans le programme adipogénique : *Zfp423* est principalement impliqué dans l'engagement des progéniteurs vers la lignée adipocytaire, tandis que *PPARγ*, déjà exprimé dans les préadipocytes engagés, exerce surtout son rôle par l'activation de son activité transcriptionnelle plutôt que par de fortes variations de son expression génique (Gupta et al., 2010; Rosen and Spiegelman, 2014). Concernant *Cnr1*, son expression ne semble pas être modifiée au cours de la différenciation (**Figure 43**). Ce résultat est cohérent avec certaines données de la littérature montrant que ce gène est faiblement exprimé dans les préadipocytes et les ADSC par rapport aux adipocytes matures, bien que cette expression puisse varier selon le modèle étudié. Dans notre protocole de 7 jours, les cellules ne sont probablement pas encore arrivées à un stade de maturation suffisant pour observer une augmentation nette de son expression (Roche et al., 2006).

La deuxième variable étudiée est l'origine des ADSC, selon qu'elles proviennent de souris témoins ou obèses. Cette variable semble avoir un impact marqué sur l'expression des gènes adipocytaires. En effet, au J_4 dans un milieu de différenciation, les ADSC issues de souris obèses expriment davantage les gènes lipogéniques *Cd36* ($p < 0,0001$), *Fabp4* ($p < 0,0001$) et *Lpl* ($p < 0,01$) que les ADSC provenant de souris contrôles (données non représentées graphiquement) (**Figure 43**). En revanche, le faible effectif ne permet pas de conclure quant aux différences d'expression de *Cnr1* entre les deux groupes (**Figure 43**). Néanmoins, une tendance à sa diminution semble apparaître chez les ADSC isolées de souris obèses aux temps $T_{50\%}$, J_0 et J_7, qui pourrait s'expliquer par un phénomène de désensibilisation lié à une exposition plus importante aux ECs dans le TA des souris obèses (Barbosa et al., 2026).

Enfin, la troisième variable étudiée est l'effet du traitement par l'agoniste de CB1R appliqué pendant la phase proliférative sur la différenciation adipocytaire. Ce traitement induit une diminution significative de l'expression de *Cd36, Fabp4 et Lpl* au J_4, mais uniquement dans les ADSC issues de la FSV de souris obèses. À l'inverse, aucun effet du traitement par l'ACEA n'est observé dans les ADSC provenant de souris contrôles (**Figure 43**).

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par coloration ORO (**Figure 41**). En effet, l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération ne semble pas avoir d'effet sur les ADSC issues de la FSV de

souris contrôles. En revanche, la réponse diffère dans les ADSC provenant de la FSV de souris obèses, chez lesquelles l'activation de CB1R s'accompagne d'une diminution de l'expression des gènes adipocytaires au cours de la différenciation (**Figure *43***).

Ensemble, ces données suggèrent que l'activation de CB1R pendant la phase de prolifération exerce un effet direct sur les ADSC, se traduisant ultérieurement par une augmentation de la taille des gouttelettes lipidiques dans les adipocytes néoformés, effet qui disparaît dans le modèle KO CB1R$^{-/-}$. La portée de cet effet sur l'hypertrophie des adipocytes matures devra toutefois être déterminée dans des modèles de différenciation et de maturation prolongées. En parallèle, dans les ADSC issues de souris obèses, l'activation de CB1R tend à réduire l'accumulation lipidique et l'expression des gènes lipogéniques, tout en induisant une hypertrophie plus modérée que chez les souris contrôles, suggérant que l'état obèse et la suractivation chronique du SEC modulent la sensibilité des ADSC aux signaux de CB1R.

Ainsi, ces résultats soutiennent l'idée que CB1R joue un rôle dans l'engagement adipocytaire précoce et dans la morphologie lipidique des adipocytes nouvellement différenciés, avec des conséquences potentiellement différentes selon le contexte métabolique auquel les ADSC ont été exposées.

f. Analyse transcriptomique du tissu adipeux viscéral humain

Comme chez la souris, nous avons cherché à tester l'hypothèse selon laquelle les dérégulations métaboliques associées à l'obésité et/ou au diabète de type 2 pourraient influencer l'engagement des ADSC vers la lignée adipocytaire, possiblement *via* l'implication du SEC local. Pour cela, nous avons analysé les données transcriptomiques obtenues par RNA-seq à partir de biopsies de TAV prélevées chez des patients sains, atteints d'obésité ou atteints d'obésité et de diabète de type 2.

i. Méthodologie

Les participants ayant subi une chirurgie digestive abdominale au Centre Hospitalier Universitaire de Dijon ont été inclus dans cette étude transversale. Les critères généraux d'inclusion étaient les suivants : être âgé de 18 à 80 ans, ne présenter ni maladie inflammatoire chronique ni atteinte majeure d'un organe, et ne recevoir aucun traitement antidiabétique ou hypolipémiant. Les participants ont été répartis en trois groupes selon leur IMC et leur glycémie à jeun : témoins sains (CON), patients obèses non diabétiques (OND) et patients obèses atteints de diabète de type 2 (OD). Le protocole de l'étude a été approuvé par le comité d'éthique local (CPP, NCT04940962), et tous les participants ont fourni un consentement éclairé écrit.

Pour plus de détails, ces analyses portent sur les mêmes échantillons que ceux présentés dans l'article « Visceral fat endocannabinoid overproduction is associated with insulin resistance and tissue dysfunction in mice and humans ». Les échantillons d'ARN ont été transmis à la plateforme BMKGene pour séquençage. Le traitement bioinformatique et l'analyse différentielle des données de RNA-seq ont été réalisés à l'aide du logiciel Phantasus. Cette analyse comprenait notamment le contrôle qualité, la normalisation des données, l'identification des gènes différentiellement exprimés et les analyses d'enrichissement fonctionnel.

ii. Résultats et discussion

Tout d'abord, l'analyse du RNA-seq, réalisée en comparant le groupe OD au groupe CON pris comme référence, montre que l'association de l'obésité et du diabète entraîne la sous-régulation de 189 gènes et la sur-régulation de 390 gènes (**Figure 44A**). Afin d'approfondir l'interprétation de ces résultats, une analyse d'enrichissement fonctionnel a été menée, permettant de regrouper les gènes selon leurs fonctions biologiques et de mettre en évidence plusieurs voies métaboliques majeures altérées. Comme pour la souris, la base de données MSigDB (Molecular Signatures Database) a été utilisée afin d'explorer l'enrichissement de grands ensembles de gènes impliqués dans différents processus physiologiques (**Figure 44B**).

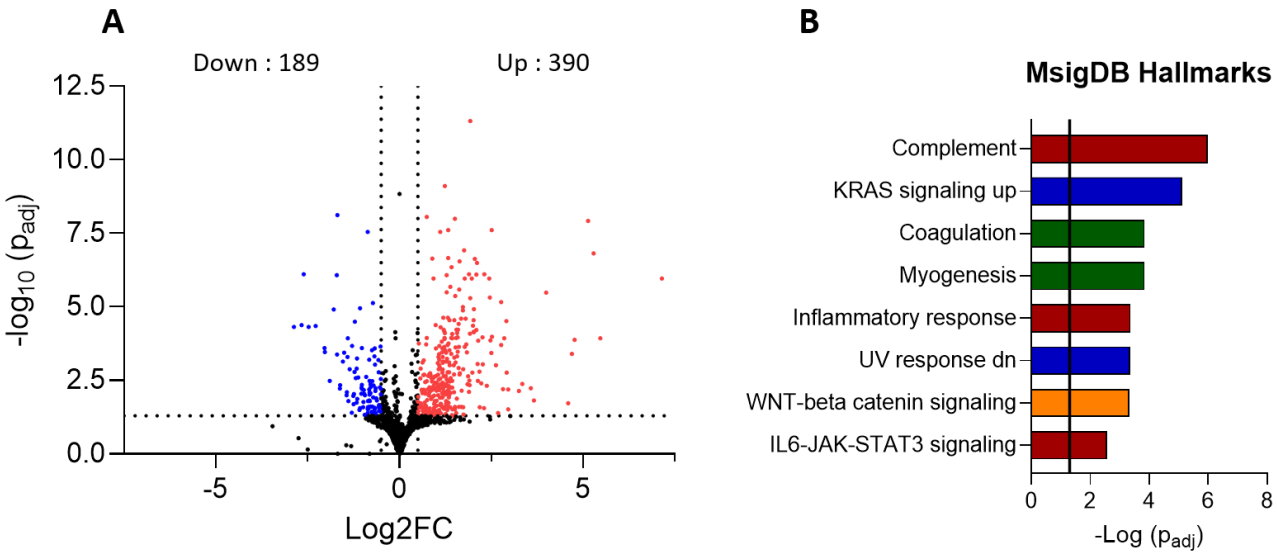


Figure 44 - Analyse transcriptomique différentielle et enrichissement fonctionnel dans le TAV de biopsies humaines *: (A) Volcano plot représentant les gènes différentiellement exprimés entre les patients sains (n = 7) et les patients obèses diabétiques de type 2 (n = 6). Les points rouges indiquent les gènes significativement sur-exprimés, les points bleus les gènes significativement sous-exprimés et les points noirs les gènes non significatifs. (B) Analyse d'enrichissement fonctionnel des voies Hallmarks de MsigDB, montrant les principales voies significativement enrichies parmi les gènes différentiellement exprimés, classées selon -log (padj). Les voies associées à l'inflammation (rouge), à l'adipogenèse (orange), au cycle cellulaire (bleu) ou au remodelage / fibrose de la niche (vert). La barre noire représente le seuil de significativité.*

L'analyse des signatures MSigDB suggère que l'association de l'obésité et du diabète est associée à une reprogrammation transcriptionnelle du TAV vers un phénotype inflammatoire, insulinorésistant et métaboliquement dysfonctionnel (Barbosa et al., 2026). Les voies fortement enrichies associées au complément, à IL6-JAK-STAT3 et à la réponse inflammatoire traduisent une activation marquée de l'immunité innée et des cascades pro-inflammatoires. Ces résultats concordent avec la littérature, qui décrit l'obésité viscérale comme un état d'inflammation chronique de bas grade associé à l'insulinorésistance (Kolb, 2022). Parallèlement, les signatures de myogenèse et de coagulation reflètent un remaniement du microenvironnement vasculaire, cohérent avec l'hypoxie, la fibrose et l'augmentation du risque cardiovasculaire caractéristiques du TAV obèse (AlZaim et al., 2023). Enfin, l'enrichissement des voies de signalisation KRAS et IL6-JAK-STAT3 suggère une modification des programmes cellulaires et de la régulation du cycle cellulaire de la fraction stromale vasculaire (Golay and Barbie, 2014; Hirano et al., 2000), tandis que les voies WNT-beta catenin signaling et IL6-JAK-STAT3 indiquent une altération des programmes impliqués dans la régulation de l'adipogenèse (Ambele et al., 2020).

Cependant, la signature dans la base de données MSigDB « Adipogenèse » n'est pas modifiée, comme observé précédemment dans le modèle murin. Par conséquent, nous avons analysé plus finement les gènes appartenant à cette famille afin d'identifier d'éventuelles altérations de certains régulateurs clés. Pour aller plus loin, une heatmap représentant les gènes les plus pertinents et significativement modifiés dans ces processus a été réalisée (**Figure 45**).

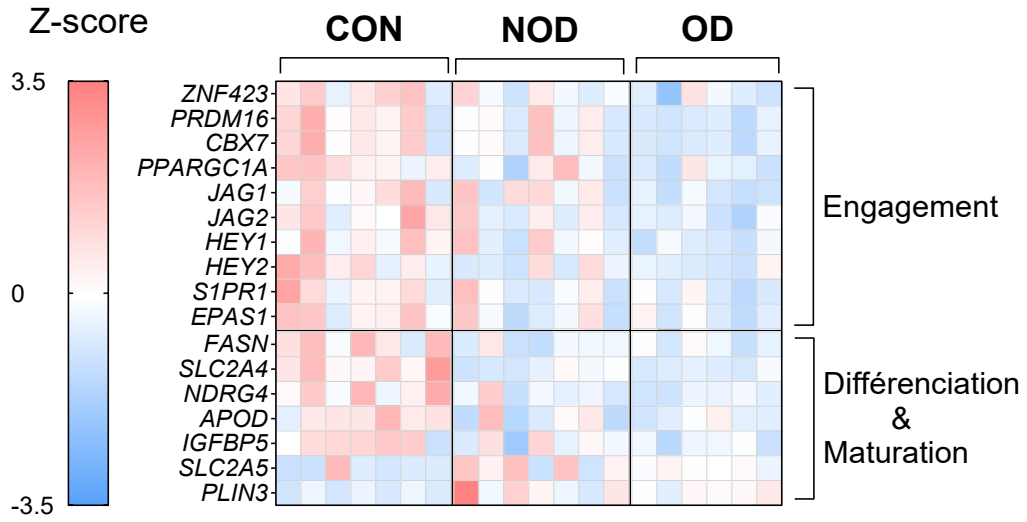


Figure 45 - Profil transcriptionnel des gènes impliqués dans l'engagement, la différenciation et la maturation adipocytaires dans le tissu adipeux viscéral de patients sains, obèses ou obèses diabétiques *: Heatmap représentant le Z-score des gènes associés à l'engagement adipogénique, à la différenciation adipocytaire et à la maturation terminale dans des échantillons de tissu adipeux viscéral de patients sains (CON), obèses (NOD) ou obèses diabétiques (OD). Les gènes sont regroupés selon deux modules fonctionnels : engagement (ZNF423,*

PRDM16, CBX7, PPARGC1A, JAG1, JAG2, HEY1, HEY2, S1PR1, EPAS1), différenciation & maturation (FASN, SLC2A4, NDRG4, APOD, IGFBP5, SLC2A5, PLIN3)

L'analyse transcriptionnelle suggère une altération du programme d'engagement adipocytaire, marquée par la sous-régulation de plusieurs gènes impliqués dans la détermination et l'acquisition de l'identité adipocytaire, notamment *ZNF423, PRDM16, CBX7* et *PPARGC1A*. Cette diminution traduit probablement une capacité réduite des cellules précurseurs à s'engager efficacement dans la lignée adipocytaire, en accord avec un TAV dont la dynamique d'expansion semble perturbée (**Figure 45**). Parallèlement, la baisse d'expression de gènes associés au maintien des cellules dans un état non différencié, tels que *JAG1, JAG2, HEY1, HEY2, TGFB1, S1PR1 et EPAS1*, suggère l'installation d'un environnement transcriptionnel défavorable à l'engagement adipocytaire précoce (**Figure 45**). Enfin, la sous-régulation de gènes impliqués dans la différenciation et la maturation adipocytaire, notamment *FASN, SLC2A4, NDRG4, APOD et IGFBP5,* associée à l'augmentation de gènes liés à une dysfonction adipocytaire, tels que *SLC2A5 et PLIN3*, suggère un phénotype plus dysfonctionnel, moins apte à mettre en place un programme adipocytaire mature et fonctionnel (**Figure 45**).

Ces données de transcriptomique sont en accord avec la littérature, qui montre que l'obésité, et plus encore le diabète de type 2, s'accompagnent d'une altération des cellules progénitrices adipocytaires du TAV, avec une diminution de leur capacité d'engagement et de différenciation, ainsi qu'une perte de plasticité du TA. Plusieurs travaux de single-cell et d'analyses fonctionnelles ont ainsi mis en évidence, dans le TAV obèse, une réorganisation des populations progénitrices, une hétérogénéité accrue et un glissement vers des états cellulaires moins favorables à un remodelage adipogénique sain (Lecoutre et al., 2025; H. Wang et al., 2024). Dans cette logique, nos résultats suggèrent que le TAV de patients obèses et obèses diabétiques présente un environnement transcriptionnel défavorable à l'engagement adipocytaire précoce.

Comme pour le modèle murin, ces observations doivent toutefois être interprétées avec prudence, car elles reposent sur l'analyse de biopsies de TAV entier. Or, ce tissu est majoritairement constitué d'adipocytes, tandis que les ADSC sont localisées dans la FSV, qui ne représente qu'une fraction minoritaire de l'ensemble tissulaire. Dans ce contexte, les variations transcriptomiques observées peuvent être diluées par le signal des autres populations cellulaires. Il est donc difficile d'attribuer ces modifications de façon spécifique aux ADSC ou aux progéniteurs adipocytaires.

Néanmoins, en cohérence avec les résultats obtenus chez la souris et avec nos données antérieures montrant une surproduction d'ECs dans le TAV viscéral obèse et diabétique (Barbosa et al., 2026), ces observations renforcent l'hypothèse d'une implication du SEC dans la régulation de l'engagement adipocytaire. En parallèle, l'exploitation de bases de données publiques intégrant des profils transcriptomiques et protéomiques constitue un outil particulièrement pertinent pour

approfondir ces mécanismes et apporter des éléments de réponse supplémentaires. Ces approches seront développées dans la partie suivante.

g. Utilisation des bases de données transcriptomiques et protéomiques

Bien que nos analyses transcriptomiques suggèrent une altération possible de l'adipogenèse et de l'engagement des progéniteurs adipocytaires dans le TAV obèse et obèse diabétique, les bases de données publiques actuellement disponibles ne permettent pas d'explorer directement ces processus dans les ADSC murines et humaines. En revanche, plusieurs jeux de données offrent l'opportunité d'étudier, dans d'autres types cellulaires où le CB1R est fonctionnellement exprimé, les conséquences de son activation sur des paramètres clés tels que la prolifération et les voies de signalisation associées. C'est dans cette optique que nous avons choisi d'exploiter des données transcriptomiques et protéomiques obtenues dans des cellules gliales humaines, afin de mieux caractériser les effets d'agonistes du CB1R sur la régulation de la prolifération et des programmes moléculaires, et d'en tirer, de manière prudente, des éléments de réflexion transposables à la compréhension du rôle du SEC dans la niche adipocytaire.

i. Méthodologie

Pour cela, nous avons exploité des données issues de deux bases de données publiques, l'une transcriptomique et l'autre protéomique. La première correspond à l'effet de l'agoniste du CB1R WIN55,212-2 sur des astrocytes humains primaires, à partir du jeu de données GSE160092 disponible dans Gene Expression Omnibus. La seconde regroupe des données protéomiques évaluant l'effet des agonistes du CB1R, ACEA et WIN55,212-2, sur la lignée humaine d'oligodendrocytes MO3.13, à partir du jeu de données PXD031923 déposé dans PRIDE *via* le consortium ProteomeXchange.

ii. Résultats et discussion

L'analyse des deux jeux de données met en évidence une reprogrammation des mécanismes prolifératifs après stimulation du CB1R, avec toutefois des effets contrastés selon les phases du cycle cellulaire (**Figure *46***). Dans les données transcriptomiques obtenues à partir d'astrocytes humains primaires, l'activation du CB1R par le WIN55,212-2 s'accompagne d'une augmentation de l'expression de certains régulateurs de la phase G1, notamment CCND3 et CDK4 (**Figure *46A***). En revanche, l'expression de MKI67 diminue, ce qui suggère une réduction globale de l'activité proliférative. Cette tendance est confirmée par la sous-régulation de plusieurs marqueurs clés du cycle cellulaire, incluant CDK6 et CCND2 en phase G1, CCNE2, CDK2, SKP1, CFDP1 et GNL3 lors de la transition G1/S, TOP2A, MCM2, MCM3, MCM4, MCM5, MCM8 et EIF3G en phase S, CCNA2 et RAD50 lors de la transition S/G2, ainsi que CCNB1, CCNB2, CDK1, SPAG5 et RanBP2 en phase G2/M (**Figure *46A***).

Dans les données protéomiques de la lignée MO3.13, l'effet des agonistes du CB1R apparaît plus nuancé. Certaines protéines impliquées dans le métabolisme et la phase S, telles que RPIA et PRPS2, sont augmentées, tandis que d'autres marqueurs associés à la progression du cycle cellulaire présentent une modulation variable selon la condition et la phase considérées (**Figure 46B**). En particulier, CENPE et CENPJ apparaissent augmentées après traitement par les agonistes, ce qui contraste avec la baisse observée pour plusieurs régulateurs impliqués dans les phases G1/G1-S et S/G2, comme SKP1, GNL3, EIF3G, CFDP1, RAD50, MCM3, RanBP2 et SPAG5 (**Figure 46B**).

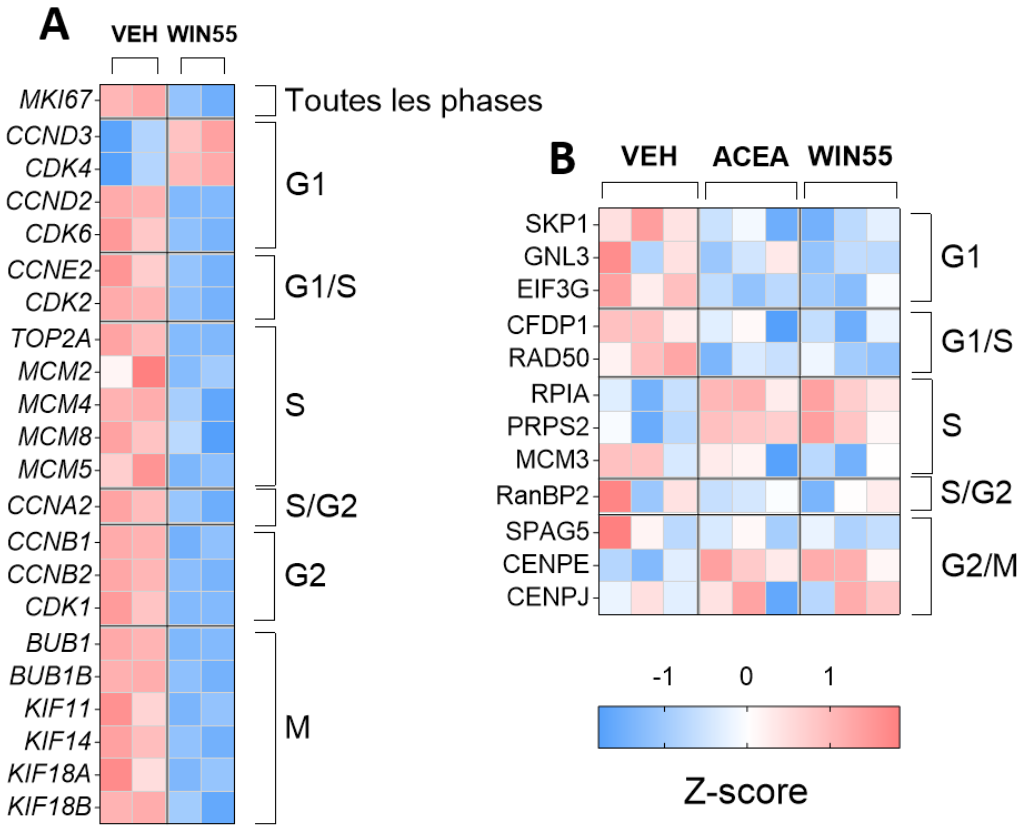


Figure 46 - Effet des agonistes du CB1R sur la prolifération des astrocytes humains primaires et de la lignée cellulaire d'oligodendrocytes humains MO3.13 *: (A) Analyse transcriptomique de l'effet du WIN55,212-2 sur les marqueurs de prolifération des astrocytes humains primaires (jeu de données GSE160092). (B) Analyse protéomique de l'effet de l'ACEA et du WIN55,212-2 sur les marqueurs de prolifération de la lignée cellulaire d'oligodendrocytes humains MO3.13 (jeu de données PXD031923). Les gènes/protéines affichés sont classés selon les phases du cycle cellulaire auxquelles ils sont associés.*

Ainsi, ces données suggèrent, non pas une inhibition uniforme de la prolifération, mais plutôt une réorganisation complexe des programmes du cycle cellulaire, avec des effets variables selon les phases considérées et selon le type cellulaire étudié.

En effet, l'hypothèse selon laquelle l'engagement des ADSC pourrait être altéré par une diminution de leur prolifération induite par l'ACEA n'a pas pu être confirmée sur la base de nos

expériences. Dans les cellules HEK surexprimant CB1R, nous avons bien observé une diminution de la prolifération cellulaire (**Figure *28***), alors que dans les préadipocytes 3T3-L1, nous avons au contraire mis en évidence une augmentation de la prolifération cellulaire (**Figure *38***). En raison de contraintes de temps et de disponibilité cellulaire, cette hypothèse n'a toutefois pas pu être testée directement dans notre modèle d'ADSC triées issues de souris contrôles et obèses.

Cependant, cette hypothèse est soutenue par l'analyse des données transcriptomiques et protéomiques issues d'astrocytes et d'oligodendrocytes (**Figure *46***) qui montre qu'une activation du CB1R s'accompagne d'une diminution de l'expression de plusieurs cyclines, kinases dépendantes des cyclines (CDK) et autres protéines impliquées dans la progression du cycle cellulaire (Lopez-Mejia et al., 2017; Sharma et al., 2025). Un effet antiprolifératif des agonistes du CB1R a également été rapporté dans des cellules cancéreuses, avec pour mécanisme proposé une activation de la voie ERK conduisant à l'induction des inhibiteurs de CDK, tels que p21 et p27, qui bloquent les points de contrôle du cycle cellulaire (Prateeksha et al., 2023). De même, dans les cellules β pancréatiques, l'activation de CB1R diminue l'expression de la cycline D2, entraînant un arrêt du cycle en phase G0/G1 (Kim et al., 2016). Bien que ces modèles cellulaires soient distincts de notre système d'étude, ces observations renforcent l'hypothèse d'un rôle potentiel de CB1R sur la prolifération des ADSC et ouvrent des perspectives pour l'identification des régulateurs du cycle cellulaire susceptibles de participer aux altérations de la niche adipocytaire.

Compte tenu de ces arguments, un protocole expérimental a été mis en place chez l'Homme (ECTADIF, NCT07567287), en s'appuyant sur les mêmes groupes de patients que ceux de la première publication, à savoir les groupes CON, OND et OD. Cette étude, qui débutera en septembre 2026, aura pour objectif d'explorer plus précisément l'effet de l'activation des CB1R sur la phase d'engagement des cellules progénitrices dans la voie adipocytaire, et de déterminer si les altérations observées chez l'Homme sont comparables à celles mises en évidence chez la souris.

3. Conclusion

Pour rappel, cette deuxième partie avait pour objectif de déterminer dans quelle mesure les ECs peuvent moduler l'étape d'engagement des ADSC du TAV vers la lignée adipocytaire, par l'intermédiaire de CB1R.

Chez les souris obèses soumises à un régime hyperlipidique, l'analyse transcriptomique du TAV montre une forte modification du tissu, avec un profil plus inflammatoire, insulinorésistant et dysfonctionnel, ainsi qu'une altération des voies liées à l'adipogenèse et au métabolisme lipidique. Au sein du module « adipogenèse », la sous-régulation coordonnée de gènes impliqués dans l'engagement, la différenciation, la maturation et l'augmentation de marqueurs de lipolyse et de

remodelage lipidique, suggère un TAV composé d'adipocytes hypertrophiques, moins lipogéniques et plus résistants à l'insuline (Liu et al., 2020). Ces données sont toutefois issues d'analyses sur tissu entier, où le signal des ADSC reste fortement dilué par la prédominance des adipocytes matures et des autres cellules stromales, ce qui impose une certaine prudence dans l'interprétation de ces résultats.

L'étude de la FSV de souris minces a permis de s'approcher davantage de la niche réelle des ADSC et de leurs interactions avec les autres composantes stromales et immunitaires. Dans ce modèle, la primo-culture est fortement enrichie en ADSC, mais demeure très hétérogène, avec une proportion non négligeable de macrophages, de cellules endothéliales et de péricytes, reflétant un microenvironnement complexe où les signaux paracrines peuvent moduler l'adipogenèse. L'activation de CB1R par l'ACEA, appliquée de manière transitoire pendant la phase proliférative, réduit de façon significative l'accumulation de lipides neutres et diminue l'expression de plusieurs gènes adipocytaires (*Cd36, Fabp4, Lpl, Pparγ*) au cours de la différenciation, sans effet détectable sur l'expression de Ki-67 dans les ADSC, ce qui suggère un impact préférentiel sur le programme adipogénique plutôt que sur la prolifération des ADSC dans ce contexte.

Chez les souris obèses, la FSV présente une signature plus inflammatoire, caractérisée par une forte proportion de macrophages et une diminution relative des cellules vasculaires, en cohérence avec les remaniements décrits dans le TAV obèse *in vivo* (AlZaim et al., 2023; Li et al., 2023). Dans ce modèle, l'effet de l'ACEA sur l'accumulation lipidique et sur l'expression des gènes adipocytaires apparaît plus modeste, probablement en raison de la contribution importante des macrophages aux signaux transcriptomiques lipogéniques. Néanmoins, la tendance à une diminution de *Fabp4 et Pparγ* après activation de CB1R suggère que, même dans un contexte pro-inflammatoire, CB1R peut limiter, au moins partiellement, l'engagement adipocytaire et la mise en place d'un phénotype adipocytaire pleinement différencié.

L'utilisation de la lignée préadipocytaire 3T3-L1 a apporté un point de vue complémentaire sur le rôle de CB1R dans un système déjà fortement engagé vers la lignée adipocytaire. Dans ce modèle, un traitement transitoire par ACEA pendant la phase de prolifération n'induit ni modification durable de l'accumulation lipidique, ni altération de l'expression des marqueurs adipocytaires au cours de la différenciation, suggérant l'absence d'effet majeur sur le développement du phénotype adipocytaire. En revanche, l'activation de CB1R semble augmenter la prolifération de ces préadipocytes, ce qui est cohérent avec certaines données de la littérature et souligne que le rôle de CB1R sur la prolifération dépend étroitement du degré d'engagement adipocytaire et du contexte cellulaire (Teixeira et al., 2010). Ces observations confortent l'idée que les 3T3-L1 constituent un modèle pertinent pour l'étude

de préadipocytes engagés, mais peu adapté à l'exploration des étapes précoces d'engagement des ADSC.

L'approche la plus directe pour évaluer les effets potentiels des ECs a reposé sur l'isolement et le tri de populations d'ADSC à partir de la FSV de souris contrôles et obèses, puis leur traitement par l'ACEA pendant la phase proliférative. Dans les ADSC de souris contrôles, un traitement transitoire par l'ACEA durant la phase de prolifération n'augmente pas l'accumulation lipidique globale, mais s'accompagne d'une augmentation significative de la taille des gouttelettes lipidiques observées dans les adipocytes nouvellement différenciés. Cet effet disparaît dans le modèle KO CB1R$^{-/-}$, ce qui soutient l'implication de CB1R dans la régulation de la morphologie lipidique au cours de la différenciation. Cependant, l'analyse réalisée à J_7 ne permet pas d'assimiler cet effet à une hypertrophie des adipocytes matures. Ce résultat soutient un rôle direct de CB1R dans la régulation de la morphologie lipidique au cours de la différenciation adipocytaire. Dans les ADSC de souris obèses, l'ACEA tend à diminuer l'accumulation lipidique et l'expression des gènes lipogéniques (*Cd36, Fabp4, Lpl*), tout en induisant une augmentation plus modérée de la taille des gouttelettes lipidiques que celle observée chez les souris contrôles. Ce résultat suggère qu'en contexte d'obésité et de suractivation chronique du SEC, il y a une modification de la sensibilité des ADSC aux signaux de CB1R, comme évoqué dans la littérature (Piscura et al., 2023).

Pris ensemble, ces résultats suggèrent que l'activation de CB1R peut influencer à la fois l'engagement adipocytaire précoce et la morphologie lipidique des adipocytes nouvellement différenciés. La contribution de ces effets à l'hypertrophie des adipocytes matures *in vivo* reste à déterminer. Ces données sont en accord avec la littérature, qui rapporte qu'en contexte d'obésité les ADSC présentent une altération de leur « stemness », une diminution de leur capacité proliférative et différenciative, ainsi qu'un maintien partiel de cette mémoire métabolique malgré une éventuelle perte de poids (Khalid et al., 2026).

L'analyse transcriptomique du TAV humain confirme, dans un contexte clinique d'obésité et de diabète de type 2, une reprogrammation du tissu vers un phénotype inflammatoire, insulinorésistant et vasculairement remanié, similaire à celui observé chez la souris, mais sans modification globale de la voie de signalisation « Adipogenèse ». Une analyse plus fine des gènes impliqués dans l'engagement, la différenciation et la maturation adipocytaires révèle toutefois une sous-régulation de régulateurs clés de l'identité adipocytaire (*ZNF423, PRDM16, PPARGC1A, CBX7*) et de gènes de maturation (*FASN, SLC2A4, APOD, IGFBP5*), associée à une augmentation de marqueurs de dysfonction adipocytaire (*SLC2A5, PLIN3*). Ces données suggèrent que l'adipogenèse, et en particulier la phase d'engagement des progéniteurs, pourrait être altérée dans le TAV obèse et obèse diabétique, sans qu'il soit possible de conclure de façon définitive.

Enfin, l'exploitation de bases de données transcriptomiques et protéomiques publiques dans des modèles de cellules gliales humaines a montré que l'activation de CB1R s'accompagne d'une modulation complexe des programmes de prolifération, avec une diminution de marqueurs globaux comme *MKI67* et de nombreuses cyclines et CDK, mais aussi des régulations positives plus ciblées selon les phases du cycle cellulaire. Bien que ces modèles soient distincts de la niche adipocytaire, ils apportent des éléments convergents en faveur d'un rôle de CB1R dans la régulation du cycle cellulaire et renforcent l'hypothèse d'un impact potentiel sur la dynamique du pool d'ADSC.

En conclusion, cette deuxième partie montre que le SEC et CB1R ne se contentent pas de moduler la fonction des adipocytes matures, mais interviennent également aux étapes précoces de l'engagement adipocytaire, en influençant à la fois l'activation du programme lipogénique et la taille finale des adipocytes, dans une logique fortement dépendante du contexte métabolique et de la composition cellulaire de la niche. Ainsi, nos résultats suggèrent que le SEC participe à la régulation de l'engagement adipocytaire et, plus largement, de la plasticité du TA, avec des conséquences locales susceptibles de limiter une expansion par hyperplasie au profit d'une hypertrophie adipocytaire.

4. Perspectives

Les résultats de cette partie ouvrent plusieurs perspectives pour préciser le rôle du SEC dans l'engagement adipocytaire.

Une première perspective consiste à consolider les observations réalisées sur les ADSC triées en augmentant le nombre d'expériences et en étendant les analyses fonctionnelles. Il sera notamment important de compléter les données de différenciation par une caractérisation de la prolifération et du phénotype des ADSC triées (souris contrôles et obèses) par cytométrie en flux, en suivant des marqueurs de cycle cellulaire et de pré-engagement dans la lignée adipocytaire.

Une seconde perspective consiste à préciser la signification fonctionnelle de l'augmentation de la taille des gouttelettes lipidiques observée après activation précoce de CB1R. Les analyses réalisées dans cette thèse ont été effectuées à J_7 de différenciation, à un stade où les cellules présentent encore plusieurs gouttelettes lipidiques et ne reproduisent pas nécessairement les caractéristiques morphologiques et fonctionnelles des adipocytes matures uniloculaires. Il sera donc nécessaire de prolonger la maturation adipocytaire et de mesurer conjointement la taille cellulaire, le nombre, la taille et la distribution des gouttelettes lipidiques, ainsi que l'expression de marqueurs de maturation terminale et de lipolyse. Ces approches permettront de déterminer si l'effet observé correspond à une modulation transitoire de la morphologie lipidique des adipocytes néoformés ou s'il contribue effectivement à l'installation d'un phénotype hypertrophique mature.

Une perspective complémentaire concerne l'exploitation plus poussée de la FSV entière, afin de tenir compte du microenvironnement complexe dans lequel évoluent les ADSC. Il serait particulièrement pertinent de reproduire les cultures de FSV mises en place dans cette thèse, puis de trier les différentes populations cellulaires (ADSC, macrophages, cellules endothéliales et péricytes) avant de réaliser des analyses transcriptomiques et protéomiques. Une telle stratégie permettrait de comparer, au sein d'une même culture, les réponses des différentes composantes de la niche à l'activation de CB1R et d'explorer les effets paracrines exercés par les cellules immunitaires ou endothéliales sur l'engagement adipocytaire.

Sur le plan des modèles cellulaires, une autre perspective importante consiste à utiliser, en parallèle des 3T3-L1, des modèles cellulaires moins engagés vers la lignée adipocytaire, tels que les 3T3-NIH. L'utilisation de 3T3-NIH permettrait ainsi de mieux caractériser les mécanismes impliqués dans la régulation de l'engagement adipocytaire par CB1R, indépendamment des contraintes liées à un programme adipocytaire déjà activé (Rahimi et al., 2022).

Dans ce contexte, il serait important d'explorer plus précisément les mécanismes qui régulent à la fois la prolifération et l'engagement adipocytaire dans ces modèles de cellules souches naïves, ainsi que dans les ADSC issues de la FSV :

- Sur le plan de la prolifération, les expériences réalisées dans cette thèse n'ont pas mis en évidence d'effet significatif de l'ACEA sur les ADSC. Néanmoins, plusieurs données de la littérature suggèrent que CB1R peut moduler le cycle cellulaire *via* la voie ERK, en influençant l'expression de régulateurs tels que p21, p27 ou la cycline D2, et donc la capacité des cellules progénitrices à proliférer avant leur engagement dans la différenciation (Jung et al., 2014; Naaz et al., 2004).

- Concernant l'engagement adipocytaire, la voie ERK apparaît également comme une cible prioritaire. Elle pourrait intervenir en amont de l'expression de *Pparγ* en modulant des acteurs précoces tels que Zfp423, WISP2 et Pref-1/Sox9, connus pour contrôler la transition entre un état indifférencié et un état engagé vers la lignée adipocytaire. L'étude de ces régulateurs permettra de déterminer si CB1R agit principalement en freinant l'entrée des cellules dans le programme adipogénique ou en modulant plus tardivement l'acquisition d'un phénotype adipocytaire fonctionnel (Hammarstedt et al., 2013; Hudak and Sul, 2013; Wei et al., 2013b).

- Au-delà de la voie ERK, l'engagement adipogénique dépend de réseaux de signalisation complémentaires, incluant notamment les voies Wnt/β-caténine, TGF-β/SMAD, Notch, Hedgehog et BMP4. L'étude de leur modulation après activation de CB1R permettrait de déterminer si les effets observés résultent d'une action directe de CB1R ou d'interactions avec

ces voies régulatrices et avec les signaux de la niche stromale. Cette approche serait particulièrement pertinente dans les primo-cultures de FSV, où les interactions entre cellules stromales, immunitaires et vasculaires peuvent influencer la réponse adipogénique (Hammarstedt et al., 2013; Hudak and Sul, 2013; Rosen and Spiegelman, 2014).

Du point de vue translationnel, la mise en place du nouveau protocole humain (ECTADIF, NCT07567287) constitue une perspective majeure pour tester la transposabilité des mécanismes identifiés chez la souris. Les premières inclusions de participants répartis dans les groupes CON, OND et OD permettront d'isoler des ADSC humaines et d'évaluer directement l'impact de l'activation de CB1R sur leur engagement adipocytaire, leur prolifération et leur capacité de différenciation. Ce protocole permettra notamment de distinguer les effets respectifs de l'obésité et du diabète de type 2 sur l'engagement adipocytaire, d'explorer d'éventuelles spécificités liées au sexe et de comparer ensemble les réponses des ADSC de TAV et de TASC d'un même individu.

Par ailleurs, l'extension de ces travaux à d'autres dépôts adipeux constitue une étape importante pour replacer le rôle du SEC dans une vision plus globale de la plasticité du TA. L'étude des TA sous-cutanés, mais également d'autres dépôts viscéraux qui augmentent au cours des pathologies métaboliques (TA mésentérique, périrénal, épicardique), permettrait de déterminer si les effets de CB1R sur l'engagement adipocytaire et la taille des adipocytes sont spécifiques au TAV épididymaire ou partagés par d'autres niches. Cette approche pourrait s'appuyer sur des analyses transcriptomiques comparatives et des cultures d'ADSC dérivées de différents dépôts adipeux.

Enfin, une perspective plus intégrative consisterait à développer des systèmes de co-culture permettant de mieux prendre en compte la dimension autocrine et paracrine du SEC. Il serait par exemple intéressant de co-cultiver des adipocytes matures sains ou obèses, capables de relarguer des ECs, avec des ADSC provenant de souris contrôles ou obèses, afin d'évaluer l'impact d'un environnement endocannabinoïde enrichi sur l'engagement adipocytaire, la prolifération et le profil transcriptomique des cellules stromales dérivées du TA. De tels modèles, éventuellement couplés à des mesures directes de sécrétion d'ECs et à des approches fonctionnelles (inhibition de CB1R, blocage de voies de signalisation comme ERK ou JAK-STAT), permettraient de mieux relier la surproduction locale d'ECs, mise en évidence dans la première partie de la thèse, aux altérations d'engagement et de plasticité observées dans cette seconde partie.

Ensemble, ces perspectives visent à passer d'une vision descriptive du rôle du SEC dans l'engagement adipocytaire à une compréhension plus mécanistique et intégrée, en combinant l'affinement des modèles murins, l'étude de nouvelles lignées cellulaires, l'extension aux tissus

humains et le développement de systèmes de co-culture, plus proches de la complexité de la niche adipocytaire.

Conclusion

Dans cette thèse, nous avons cherché à comprendre comment le SEC du TA participe à la mise en place et à la progression des complications métaboliques associées à l'obésité, en étudiant deux objectifs complémentaires. Le premier visait à caractériser, chez la souris et chez l'Homme, la production d'ECs par les différents dépôts adipeux en conditions pathologiques et à en préciser les facteurs métaboliques. Le second consistait à évaluer l'impact des ECs sur l'engagement adipogénique des ADSC, afin de mieux cerner le rôle du SEC dans la plasticité du compartiment adipocytaire et le basculement entre hyperplasie et hypertrophie.

Dans la première partie, l'approche fondée sur la quantification *ex vivo* de la sécrétion d'ECs par des explants appariés de TAV et de TASC a permis de montrer que la surproduction d'ECs est principalement observée au niveau viscéral et qu'elle est davantage associée à l'insulinorésistance qu'à l'obésité seule. Chez la souris nourrie avec un régime hyperlipidique, le TAV présente une augmentation marquée de la sécrétion d'ECs, associée à des signatures transcriptomiques d'inflammation, de reprogrammation lipidique et de dysfonction insulinique, alors que le TASC reste beaucoup moins affecté. De façon concordante, dans la cohorte humaine, seuls les patients obèses diabétiques de type 2 présentent une surproduction de 2-AG et d'AEA par les explants de TAV, malgré un degré d'obésité comparable à celui des obèses non diabétiques. Cela suggère que l'insulinorésistance et le déséquilibre métabolique associés au diabète de type 2 sont des déterminants majeurs de la dérégulation endocannabinoïde viscérale.

Un résultat important de cette première partie est l'absence de modification majeure de l'expression des enzymes canoniques de synthèse et de dégradation des ECs (NAPE-PLD, FAAH, DAGL, MAGL) et de CB1R dans le TAV obèse et diabétique, malgré la surproduction d'ECs. Les analyses fonctionnelles montrent également que le blocage aigu de CB1R ne réduit pas la sécrétion d'ECs. Ces résultats suggèrent que la dérégulation endocannabinoïde repose davantage sur des modifications des flux lipidiques, de la disponibilité des précurseurs et de voies de signalisation associées, notamment inflammatoires, purinergiques et liées à l'inflammasome, que sur une modulation directe de la machinerie enzymatique de synthèse et de dégradation des ECs.

La deuxième partie de la thèse a étendu ces observations en s'intéressant à la manière dont le SEC pourrait moduler l'engagement des ADSC vers la lignée adipocytaire. Les analyses transcriptomiques du TAV murin et humain montrent que l'obésité, surtout lorsqu'elle est associée au diabète de type 2, s'accompagne d'une altération coordonnée des programmes d'engagement, de différenciation et de maturation adipocytaire, associée à un phénotype d'adipocytes hypertrophiques,

moins lipogéniques et plus résistants à l'insuline. L'étude des primo-cultures de FSV chez la souris met en évidence un modèle hétérogène, où les ADSC coexistent avec des macrophages, des cellules endothéliales et des péricytes, fidèle à la niche adipocytaire. Dans ce contexte, l'activation de CB1R par l'ACEA pendant la phase proliférative réduit l'accumulation de lipides neutres et diminue l'expression de plusieurs gènes adipocytaires, suggérant un effet défavorable sur l'engagement adipocytaire plutôt qu'un simple décalage de la cinétique, sans impact net sur Ki-67 dans les ADSC.

Les expériences réalisées sur des ADSC triées à partir de souris contrôles et obèses apportent un éclairage plus direct sur l'action de CB1R. Dans les ADSC de souris contrôles, un traitement transitoire par l'ACEA durant la phase de prolifération n'augmente pas l'accumulation lipidique globale mais accroît la taille des adipocytes, un effet entièrement dépendant de CB1R puisqu'il disparaît dans le modèle KO $CB1R^{-/-}$. Dans les ADSC de souris obèses, l'activation de CB1R tend à réduire la lipogenèse et à limiter l'expression de marqueurs adipocytaires, tout en s'accompagnant d'une hypertrophie plus modérée, ce qui suggère que la mémoire métabolique et inflammatoire conditionne profondément la réponse des ADSC aux signaux endocannabinoïdes. Globalement, ces données indiquent que CB1R intervient dans l'activation précoce du programme adipocytaire et dans la morphologie lipidique des adipocytes néoformés. Elles ne permettent toutefois pas de conclure directement à un effet de CB1R sur l'hypertrophie des adipocytes matures, qui nécessiterait une évaluation spécifique dans des modèles de maturation prolongée ou *in vivo*. Ainsi, l'hypothèse selon laquelle une activation persistante de CB1R pourrait orienter l'expansion du TA vers un phénotype hypertrophique doit être confirmée.

Ainsi, l'ensemble de ces travaux contribue à repositionner le SEC, et en particulier le tonus endocannabinoïde du TAV, comme un acteur clé de la physiopathologie de l'obésité et du diabète de type 2, à la fois par ses effets sur la production locale d'ECs et par son influence sur la plasticité du compartiment adipocytaire. Ensemble, ces résultats fournissent une base solide pour envisager le SEC viscéral comme une cible d'intérêt dans la prévention et la prise en charge des complications cardio-métaboliques, mais aussi pour explorer, dans de futurs travaux, comment la modulation de CB1R et des voies associées pourrait restaurer une adipogenèse plus saine et une niche adipocytaire moins vulnérable aux dérèglements métaboliques.

Matériels et méthodes

1. Animaux et régimes

Les réglementations françaises officielles concernant l'utilisation et le bien-être des animaux de laboratoire ont été suivies tout au long des expérimentations. Le protocole expérimental a été approuvé par le comité d'éthique local (CE2A, Dijon, France) pour l'expérimentation animale (APAFIS #36850).

Des souris mâles C57BL/6J âgées de quatre semaines (Janvier Labs, Le Genest-Saint-Isle, France) ont été nourries soit avec un régime riche en graisses (Obèse ; Sniff #E15742-30, Soest, Allemagne), soit avec un régime standard (Contrôle ; Sniff #E157452-00, Soest, Allemagne) pendant 32 semaines. Après anesthésie par injection intrapéritonéale de kétamine/xylazine (100 mg/kg ; 10 mg/kg respectivement), les animaux ont été euthanasiés par exsanguination suivie d'une dislocation cervicale. Le TAV épididymaire a été prélevé pour l'isolement de la FSV et l'analyse transcriptomique par RNA-seq.

2. Culture cellulaire

a. Lignées cellulaires

i. Culture des HEK293 CB1Rm

Les cellules utilisées comme modèle d'étude sont des cellules HEK293 présentant une transfection stable du CB1R murin portant un tag HA en position N-terminale (HEK293 CB1Rm ; #EIU005, Kerafast, Boston, MA, États-Unis). Il s'agit de cellules embryonnaires rénales humaines immortalisées, génétiquement modifiées pour surexprimer le CB1R murin. Ces cellules présentent une faible adhérence et une inhibition de contact, nécessitant le revêtement préalable des plaques de culture (notamment les plaques 6 puits) avec de la poly-lysine (Advanced Biomatrix, #5048) afin d'améliorer leur adhérence.

Les cellules ont été cultivées dans un milieu de culture complet (MCC) composé de DMEM High Glucose GlutaMAX™ (Gibco, #11965092) supplémenté avec 10 % de sérum de veau fœtal (SVF) et placées dans un incubateur à 37°C, sous une atmosphère humidifiée contenant 5 % de CO_2. Le MCC a été renouvelé tous les deux jours. Lorsque les cellules ont atteint environ 90 % de confluence, elles ont été repiquées à l'aide de trypsine diluée au 20ème (0,05 % ; Merck, #59417C), à raison de 1×10^6 cellules par flacon de 75 cm², en moyenne une fois par semaine.

ii. Culture des 3T3-L1

La lignée cellulaire 3T3-L1 est un sous-clone de la lignée murine 3T3, initialement dérivée de fibroblastes d'embryons de souris Swiss albino (Todaro and Green, 1963). Les cellules 3T3-L1 sont des préadipocytes capables de se différencier en adipocytes matures et d'accumuler des lipides (Green and Kehinde, 1974). Elles sont largement utilisées comme modèle d'étude de l'adipogenèse, ainsi que dans les recherches sur l'obésité et le diabète.

Ces cellules immortalisées présentent une inhibition de contact et sont adhérentes. Elles ont été cultivées dans le même MCC que les cellules HEK293 CB1Rm, à savoir dans du DMEM High Glucose GlutaMAX™ (Gibco, #11965092) supplémenté avec 10 % de SVF, dans un incubateur à 37°C sous une atmosphère humidifiée contenant 5 % de CO_2. Le milieu de culture a été renouvelé tous les deux jours. Lorsque les cellules ont atteint environ 90 % de confluence, elles ont été repiquées à l'aide de trypsine diluée au 1/20ème (0,05 % ; Merck, #59417C), puis ensemencées à raison de 1×10^6 cellules par flacon de culture de 75 cm², permettant un repiquage en moyenne une fois par semaine.

b. Isolement et mise en culture de la FSV

Le protocole d'isolement et de mise en culture des cellules de la fraction stromale vasculaire est adapté de la publication de Liisberg Aune (Liisberg Aune et al., 2013). Après euthanasie des souris contrôles ou obèses par dislocation cervicale, le TAV a été prélevé, rincé au D-PBS (Gibco, #12559069), puis dissocié mécaniquement à l'aide de scalpels stériles. Le tissu a ensuite été soumis à une digestion enzymatique pendant 50 minutes à 37°C dans un milieu de digestion préparé extemporanément. Ce milieu de digestion était composé de la Collagénase D (II) à 1,5 U/mL (SERLABO 50 mg #CLSS-2), de la Dispase II à 2,4 U/mL (Roche 1000 mg) et du $CaCl_2$ à 10 mM (Sigma #C-34006). La digestion enzymatique a été complétée par une agitation manuelle pendant une minute toutes les 10 minutes. La digestion a été arrêtée par addition de MCC (DMEM/F12 (Gibco, 11320033), 10 % SVF, 1 % Pénicilline / Streptomycine à 10 000 U/mL (Gibco™, #15140-122)), puis l'homogénat a été centrifugé pendant 10 minutes à 700 g à 22°C. Le surnageant contenant les adipocytes matures a été éliminé. Le culot brunâtre correspondant à la FSV a été resuspendu dans du MCC, puis la suspension cellulaire obtenue a été filtrée à travers un filtre de 70 µm et centrifugée de nouveau dans les mêmes conditions. Après re-suspension du culot cellulaire dans du MCC, les cellules ont été comptées (EVE™ Plus, Ozyme, Saint-Cyr-l'École, France), puis ensemencées à une densité d'environ 100 000 cellules par puits dans des plaques 12 puits préalablement coatées de collagène (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France). Deux heures après l'ensemencement, les cellules adhérentes ont été lavées quatre fois avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium afin d'éliminer les hématies, les cellules immunitaires et les autres contaminants, puis incubées dans 2 mL de MCC.

c. Induction de la différenciation

Le premier changement de MCC a été réalisé après 72 heures. Puis, le MCC a été renouvelé toutes les 48 h jusqu'à atteindre 100 % de confluence (environ 10 jours après l'ensemencement). La différenciation adipocytaire a ensuite été induite à l'aide d'un milieu de différenciation composé de MCC supplémenté avec de l'insuline (5 µg/mL), de l'IBMX (0,5 mM), de la dexaméthasone (2,5 µM), de l'indométacine (125 µM) et de la rosiglitazone (0,5 mM) pendant 4 jours.

La différenciation a ensuite été maintenue pendant cinq jours maximum à l'aide d'un milieu de maintien supplémenté en insuline à 5 µg/mL. Les milieux de différenciation et de maintien ont été renouvelés toutes les 48 h.

d. Molécules

Le véhicule utilisé était le DMSO (Sigma-Aldrich, D2650-5x5 mL), à une concentration finale n'excédant pas 0,02 %, concentration rapportée comme n'affectant pas la viabilité et/ou la culture cellulaire.

L'agoniste du CB1R utilisé pour l'adipogenèse était l'ACEA, administré à une concentration finale de 1 µM (Tocris Biosciences, #13A/175908) et dilué dans le véhicule. L'antagoniste du CB1R était le rimonabant, également utilisé à une concentration finale de 1 µM (Sanofi, #SR141716), lui aussi dilué dans le DMSO.

3. Coloration à l'Oil Red O

La différenciation adipocytaire des cellules de la FSV a été évaluée par coloration à l'Oil Red O, permettant de visualiser les vacuoles lipidiques caractéristiques des adipocytes matures et de quantifier l'accumulation lipidique par spectrophotométrie. Le MCC a été retiré, puis les cellules ont été fixées au formol pendant 15 minutes, lavées et incubées pendant 5 minutes dans de l'isopropanol à 60 %. Elles ont ensuite été colorées pendant 20 minutes avec une solution d'Oil Red O (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France) préparée extemporanément à partir d'une solution stock à 0,5 % (m/v) (Oil Red O dissous dans l'isopropanol à 60 %), diluée aux deux tiers dans de l'eau distillée, puis clarifiée par passage à travers un filtre de 0,45 µm. Après plusieurs lavages à l'eau distillée, les cellules ont été observées et photographiées à l'aide d'un microscope à contraste de phase. La coloration a ensuite été éluée à l'aide de 130 µL d'isopropanol à 100 % par puits, sous agitation à l'aide d'un agitateur orbital (vitesse 450 rpm). Enfin, un volume de 100 µL de l'éluat a été transféré dans un puits d'une plaque 96 puits, et la densité optique a été mesurée à 492 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques Spark® (Tecan, Männedorf, Suisse).

Pour certaines expériences, les images acquises après coloration à l'Oil Red O ont également été utilisées afin d'évaluer l'effet des traitements sur la taille des adipocytes. Dix images ont été sélectionnées aléatoirement dans plusieurs puits répartis sur plusieurs plaques, de manière à prendre en compte la variabilité entre les puits et les plaques. L'analyse des images a été réalisée à l'aide du logiciel ImageJ. Après ouverture des images, l'échelle a été calibrée à partir de la barre d'échelle présente sur les acquisitions. Les adipocytes ont ensuite été individualisés à partir du contraste associé à la coloration des vacuoles lipidiques, puis leur surface a été mesurée. Les cellules partiellement visibles au bord des images ainsi que les objets ne correspondant pas à des adipocytes ont été exclus de l'analyse. La taille des adipocytes a été exprimée en surface cellulaire moyenne, en U.A., pour chaque condition expérimentale.

4. Analyse de l'expression protéique par cytométrie en flux

a. Préparation des cellules

Pour les cultures primaires issues de la FSV ainsi que pour les cellules 3T3-L1 et HEK293 CB1Rm, le MCC a été retiré, puis les cellules ont été lavées avec du D-PBS. Les cellules adhérentes ont ensuite été détachées par ajout de 1 mL de trypsine à 0,05 % (Merck, #59417C), puis l'activité enzymatique a été neutralisée par ajout de 1 mL de MCC. Enfin, les cellules ont été centrifugées pendant 5 minutes à 400 g à température ambiante avant le début du marquage.

Pour les expériences réalisées à partir de la FSV uniquement, les globules rouges ont été lysés à l'aide d'un tampon de lyse hypotonique (150 mM NH_4Cl, 10 mM $KHCO_3$, 0,1 mM EDTA) pendant 2 à 3 minutes à température ambiante, afin de purifier la suspension cellulaire. Après ajout de 10 mL de D-PBS, les cellules ont été centrifugées pendant 5 min à 400 g à température ambiante afin d'éliminer le tampon de lyse avant le début du marquage.

Les différentes conditions expérimentales (DMSO vs ACEA) ont été traitées séparément et n'ont pas été mélangées. Toutefois, un pool cellulaire a été constitué pour chaque condition, puis réparti en quatre tubes équivalents correspondant aux contrôles suivants : non marqué (autofluorescence), mono-marquages, contrôles isotypiques et FMO (Fluorescent en moins un), lorsque nécessaire.

b. Marquage de viabilité et des antigènes de surface

Après centrifugation à 400 g pendant 5 minutes à température ambiante, le culot cellulaire a été incubé pendant 20 min à l'obscurité avec 1 mL de marqueur de viabilité dilué au 1/10 000ème dans du PBS. Les marqueurs de viabilité ont été sélectionnés selon les protocoles expérimentaux, mais provenaient tous de la gamme BD Horizon™ Fixable Viability Stain. Les cellules ont ensuite été lavées

deux fois par ajout de 3 mL de PBS, chaque lavage étant suivi d'une centrifugation à 400 g pendant 5 minutes à température ambiante.

Le marquage des antigènes de surface a ensuite été réalisé. Les cellules ont été incubées avec les différents panels d'anticorps dirigés contre des antigènes de surface (Tableau 6 et Tableau 8) pendant 20 minutes à l'obscurité à température ambiante, à raison de 100 µL pour 1 x 10^6 cellules. Les anticorps ont été dilués dans un tampon de marquage adapté (BD Horizon™ Brilliant Stain Buffer, #563794). Les cellules ont ensuite été lavées avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium, puis centrifugées pendant 5 minutes à 400 g à 4°C.

À l'exception des protocoles dédiés à l'étude de la prolifération cellulaire par marquage du Ki-67, les cellules ont été resuspendues dans un volume approprié de PBS (environ 1 x 10^6 cellules/mL) afin d'être analysées en cytométrie en flux à l'aide du cytomètre Aurora (Cytek) de la plateforme ImaFlow (Université Bourgogne Europe).

Pour les cellules destinées au tri cellulaire, elles ont été resuspendues dans un tampon adapté au tri cellulaire et à l'analyse en cytométrie en flux (BD Horizon™ Pre-Sort Buffer, #563503) afin de préserver leur viabilité et leur intégrité, puis analysées et triées à l'aide d'un cytomètre trieur FACSAria™ (plateforme ImaFlow, Université Bourgogne Europe).

c. Fixation/perméabilisation et marquage intracellulaire

Le culot cellulaire a été resuspendu dans 1 mL de solution de fixation/perméabilisation froide (Miltenyi Biotec, #130-093-142), puis incubé pendant 25 min à l'obscurité à 4°C. Les cellules ont ensuite été lavées deux fois avec la solution de perméabilisation (Miltenyi Biotec, #130-093-142). Le culot a ensuite été resuspendu dans une solution de blocage des récepteurs Fc (FcR Blocking Reagent, Miltenyi Biotec), diluée au 1/50 dans le tampon de perméabilisation (réactif humain, # 130-059-901, ou murin, #130-092-575), puis incubé pendant 5 minutes à 4°C.

Après un lavage avec la solution de perméabilisation et une centrifugation pendant 5 min à 400 g à 4°C, le marquage des antigènes intracellulaires a été réalisé. Les cellules ont été incubées avec les différents panels d'anticorps dirigés contre des antigènes intracellulaires (Tableau 6 et Tableau 7) dans le tampon de perméabilisation pendant 20 minutes à l'obscurité à 4°C.

Enfin, les cellules ont été resuspendues dans un volume approprié de PBS (environ 1 x 10^6 cellules/mL) afin d'être analysées en cytométrie en flux à l'aide du cytomètre Aurora (Cytek) de la plateforme ImaFlow (Université Bourgogne Europe).

Tableau 6 - Panel d'anticorps utilisé pour l'étude de la FSV de souris contrôles et obèses (composition, prolifération et phénotype) : *Selon l'étude réalisée, certains anticorps n'ont pas été utilisés.*

Population	Marqueur	Clone	Concentration (100 µL)	Références
Cellules souches	Sca-1	D7	0,5	BD Biosciences, 562729
Cellules immunitaires	CD45	30-F11	1	BD Biosciences, 564279
Cellules endothéliales	CD31	MEC13.3	1,5	BD Biosciences, 553373
ADSC/préadipocytes	CD34	HM37	0,5	BioLegend, 128622
Macrophages	CD11b	M1/70	1	BD Biosciences, 557657
Péricytes	CD146	ME-gF1	1	BD Biosciences, 740095
Préadipocytes	CD24	M1/69	1	BD Biosciences, 757888
Adipocytes	CD36	HM36	1	e-Bio, 78-0362-82
Prolifération (intracellulaire)	Ki-67	B56 (RUO)	1	BD Biosciences, 569635

Tableau 7 - Panel d'anticorps utilisé pour l'étude de la prolifération des HEK 293 $CB1R_m$ et des 3T3-L1

Population	Marqueur	Clone	Concentration (100 µL)	Références
Prolifération (intracellulaire)	Ki-67	16A8	1	BioLegend, 652405

Tableau 8 - Panel d'anticorps utilisé pour le tri des ADSC de la FSV de souris contrôles et obèses

Population	Marqueur	Clone	Concentration (100 µL)	Références
Cellules souches	Sca-1	D7	0,5	BD Biosciences, 562729
Cellules immunitaires	CD45	30-F11	1	BD Biosciences, 564279
Cellules endothéliales	CD31	MEC13.3	1,5	BD Biosciences, 553373
ADSC/préadipocytes	CD34	HM37	0,5	BioLegend, 128622

5. Analyse de l'expression génique par RT-qPCR

a. Extraction de l'ARN des cellules en culture

Les ARN des cellules de la FSV ont été extraits à l'aide du Tri-Reagent (MRC, #TR-118). Le milieu de culture a été éliminé, puis les cellules ont été lavées deux fois avec 1 mL de PBS froid. Un volume de 500 µL de Tri-Reagent a été ajouté dans chaque puits, puis le lysat a été collecté. Après addition de 100 µL de chloroforme, les échantillons ont été incubés pendant 10 minutes à température ambiante, puis centrifugés pendant 15 minutes à 12 000 g à 4°C. La phase aqueuse contenant les ARN a été prélevée, puis les ARN ont été précipités par addition de 250 µL d'isopropanol. Après incubation de 10 minutes à température ambiante et centrifugation pendant 10 minutes à 12 000 g à 4°C, le culot d'ARN a été obtenu. Ce culot a été lavé avec 500 µL d'éthanol à 70%, séché à l'air libre, puis resuspendu dans 15 µL d'eau exempte de nucléases.

b. Réverse-transcription et qPCR

La concentration en ARN a été déterminée par mesure de l'absorbance à 260 nm à l'aide d'un spectrophotomètre Nanophotometer N50 (Implen, Munich, Allemagne). Le rapport des absorbances à 260 et 280 nm (A260/A280) a été utilisé pour évaluer la pureté des acides nucléiques. La synthèse d'ADN complémentaire (ADNc) a ensuite été réalisée par rétrotranscription (Tableau 9) à partir de 1 µg

d'ARN total, en utilisant le kit iScript™ Reverse Transcription Supermix for RT-qPCR (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France).

Tableau 9 - Programme de réverse-transcription des ARN

Étape	Température	Durée
Hybridation	25°C	5 minutes
Réverse-Transcription	46°C	20 minutes
Inactivation	95°C	1 minute

La PCR quantitative en temps réel a été réalisée selon le programme détaillé dans le Tableau 10, à partir de 20 ng d'ADNc, en présence de 300 nM de chaque amorce (sens et antisens) et du mélange réactionnel iQ™ SYBR® Green Supermix (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France). La plaque a ensuite été placée dans un thermocycleur QuantStudio 3 Real-Time PCR System (Thermo Fisher, Illkirch-Graffenstaden, France).

Tableau 10 - Programme d'amplification de la RT-qPCR

Étape	Température	Durée	Nombre de cycles
Dénaturation	95°C	10 minutes	1
Dénaturation	95 °C	15 secondes	40
Hybridation + Élongation	58 °C	1 minute	
Courbe de fusion	95 °C	15 secondes	1
	60 °C	1 minute	
	60 – 95 °C	+ 0,15 °C / seconde	
	95°C	15 secondes	

L'analyse a été réalisée à l'aide du système de PCR en temps réel QuantStudio 3 (Thermo Fisher, Illkirch-Graffenstaden, France).

Les séquences des amorces murines utilisées sont présentées dans le Tableau 11. L'expression de chaque gène a été quantifiée à l'aide d'une courbe standard établie à partir de dilutions en série d'ADNc (1/5, 1/10, 1/50, 1/100), puis normalisée à la moyenne géométrique des gènes de référence *Atp5f1e, Rpl38* et *Ppia* pour les analyses d'expression génique des cellules de la FSV.

Tableau 11 - Séquences des amorces sens et antisens murines.

Gène	Amorce sens (5' → 3')	Amorce antisens (3' → 5')
Atp5f1e	TGGACTCAGCTACATCCGATA	CAATTTTTACGTTGCTGCCAGA
Cd36	AATTAGTAGAACCGGGCCAC	CCAACTCCCAGGTACAATCA
Cnr1	CCGCAAAGATAGTCCCAATG	AACCCCACCCAGTTTGAAC
Fabp4	GAAGTGGGAGTGGGCTTTG	ATGATCATGTTGGGCTTGG
Lpl	CTTTCACTCGGATCCTCTCG	AGGTGGACATCGGAGAACTG
Mki67	CTGCCTGCGAAGAGAGCATC	AGCTCCACTTCGCCTTTTGG
Pparγ	ACCTCTGCTGGGGATCTGAA	ATCACGGAGAGGTCCACAGA
Ppia	AGGAAAACCGTGTACTATTAGCC	CTTGTCTGCAAACAGCTCAAAG
Pref-1	CAGTCTGCGCTTTTTGTGGTG	TCGATTCCACACATAGCGTTC
Rpl38	ATCAAGGACTTCCTGCTCACA	ACCAGGCTGTAAAGGTATCTG
Zfp423	GCGATCGGTGAAAGTTGAAG	ACTCTGGCTCTCCTTCCAG

6. Analyse du RNA-seq et des bases de données publiques

a. Analyse du « bulk » RNA-seq

L'extraction des ARN de TAV humains et murins a été réalisée à l'aide du kit NucleoSpin® RNA (Macherey-Nagel, #740955.50) à partir de 250 mg de TAV. La pureté des ARN (rapport A260/A280) et la concentration en ARN de chaque échantillon ont été évaluées à l'aide d'un spectrophotomètre NanoPhotometer® N50 Touch (Implen GmbH, Allemagne). Le séquençage a ensuite été réalisé par la société Biomarker Technologies (BMKGene, Münster, Allemagne).

L'analyse bio-informatique des données de séquençage brutes a été réalisée à l'aide de la plateforme en ligne Phantasus. Une analyse différentielle de l'expression génique a été réalisée à l'aide du package DESeq2 après normalisation des comptes de lectures. Ensuite, une analyse différentielle de l'expression génique a été effectuée afin de déterminer le $\log_2$(Fold Change) ($\log_2$(FC)), la p-value et la p-value ajustée (padj). Les gènes présentant un $|\log_2(FC)| > 0,5$ et une padj $< 0,05$ ont été considérés comme différentiellement exprimés. Les Z-scores ont ensuite été calculés afin de générer les heatmaps.

b. Analyse de bases de données publiques

La première base de données, obtenue *via* la plateforme Gene Expression Omnibus (GEO), concerne l'effet de l'agoniste du CB1R WIN55,212-2 sur des astrocytes humains primaires (jeu de données GSE160092). La seconde, obtenue *via* la plateforme PRIDE (ProteomeXchange Consortium),

regroupe des données protéomiques évaluant l'effet des agonistes CB1R ACEA et WIN55,212-2 sur la lignée cellulaire humaine d'oligodendrocytes MO3.13 (jeu de données PXD031923).

Les analyses bioinformatiques ont été réalisées sous RStudio et le logiciel en ligne Phantasus afin d'identifier les gènes différentiellement exprimés répondant aux critères suivants : une p-adj < 0,05 et un $|\log_2(FC)| > 0,5$, ainsi que les protéines présentant une p-value < 0,05 et un $|\log_2(FC)| > 0,5$ dans au moins une des conditions expérimentales. Les données sélectionnées ont ensuite été normalisées sous forme de Z-scores puis représentées sous forme de heatmaps.

7. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± erreur standard de la moyenne (SEM). La normalité des distributions a été évaluée à l'aide du test de Shapiro–Wilk. En fonction de ces résultats, la significativité entre deux groupes a été analysée à l'aide d'un test t de Student bilatéral (données paramétriques) ou d'un test de Mann–Whitney (données non paramétriques). Les différences entre plus de deux groupes ont été analysées par une analyse de variance (ANOVA) à un facteur, suivie d'un test de comparaisons multiples de Tukey pour les données paramétriques. Lorsque plusieurs facteurs étaient analysés simultanément, des ANOVA à deux facteurs (two-way ANOVA) ou à trois facteurs (three-way ANOVA) ont été réalisées, avec les tests post-hoc appropriés. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism 11.0.2 (San Diego, États-Unis). Les seuils de significativité ont été définis comme suit : * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001.

Bibliographie

Addy, C., Wright, H., Van Laere, K., Gantz, I., Erondu, N., Musser, B.J., Lu, K., Yuan, J., Sanabria-Bohórquez, S.M., Stoch, A., Stevens, C., Fong, T.M., De Lepeleire, I., Cilissen, C., Cote, J., Rosko, K., Gendrano, I.N., Nguyen, A.M., Gumbiner, B., Rothenberg, P., de Hoon, J., Bormans, G., Depré, M., Eng, W., Ravussin, E., Klein, S., Blundell, J., Herman, G.A., Burns, H.D., Hargreaves, R.J., Wagner, J., Gottesdiener, K., Amatruda, J.M., Heymsfield, S.B., 2008. The acyclic CB1R inverse agonist taranabant mediates weight loss by increasing energy expenditure and decreasing caloric intake. Cell Metab 7, 68–78. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.11.012

Aguado, T., Monory, K., Palazuelos, J., Stella, N., Cravatt, B., Lutz, B., Marsicano, G., Kokaia, Z., Guzmán, M., Galve-Roperh, I., 2005. The endocannabinoid system drives neural progenitor proliferation. FASEB J 19, 1704–1706. https://doi.org/10.1096/fj.05-3995fje

Ahn, S., Yi, S., Seo, W.J., Lee, M.J., Song, Y.K., Baek, S.Y., Yu, J., Hong, S.H., Lee, J., Shin, D.W., Jeong, L.S., Noh, M., 2015. A Cannabinoid Receptor Agonist N-Arachidonoyl Dopamine Inhibits Adipocyte Differentiation in Human Mesenchymal Stem Cells. Biomol Ther (Seoul) 23, 218–224. https://doi.org/10.4062/biomolther.2014.137

Ajoolabady, A., Liu, S., Klionsky, D.J., Lip, G.Y.H., Tuomilehto, J., Kavalakatt, S., Pereira, D.M., Samali, A., Ren, J., 2022. ER stress in obesity pathogenesis and management. Trends in Pharmacological Sciences 43, 97–109. https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.11.011

Alhouayek, M., Bottemanne, P., Subramanian, K.V., Lambert, D.M., Makriyannis, A., Cani, P.D., Muccioli, G.G., 2015. N-Acylethanolamine-hydrolyzing acid amidase inhibition increases colon N-palmitoylethanolamine levels and counteracts murine colitis. FASEB J 29, 650–661. https://doi.org/10.1096/fj.14-255208

AlZaim, I., de Rooij, L.P.M.H., Sheikh, B.N., Börgeson, E., Kalucka, J., 2023. The evolving functions of the vasculature in regulating adipose tissue biology in health and obesity. Nat Rev Endocrinol 19, 691–707. https://doi.org/10.1038/s41574-023-00893-6

Ambati, S., Kim, H.-K., Yang, J.-Y., Lin, J., Della-Fera, M.A., Baile, C.A., 2007. Effects of leptin on apoptosis and adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. Biochem Pharmacol 73, 378–384. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.10.009

Ambele, M.A., Dhanraj, P., Giles, R., Pepper, M.S., 2020. Adipogenesis: A Complex Interplay of Multiple Molecular Determinants and Pathways. Int J Mol Sci 21, 4283. https://doi.org/10.3390/ijms21124283

Arceri, L., Nguyen, T.K., Gibson, S., Baker, S., Wingert, R.A., 2023. Cannabinoid Signaling in Kidney Disease. Cells 12, 1419. https://doi.org/10.3390/cells12101419

Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Takahashi, M., Maeda, K., Miyagawa, J., Hotta, K., Shimomura, I., Nakamura, T., Miyaoka, K., Kuriyama, H., Nishida, M., Yamashita, S., Okubo, K., Matsubara, K., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., 1999. Paradoxical Decrease of an Adipose-Specific Protein, Adiponectin, in Obesity. Biochemical and Biophysical Research Communications 257, 79–83. https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.0255

Arner, P., Bernard, S., Salehpour, M., Possnert, G., Liebl, J., Steier, P., Buchholz, B.A., Eriksson, M., Arner, E., Hauner, H., Skurk, T., Rydén, M., Frayn, K.N., Spalding, K.L., 2011. Dynamics of human adipose lipid turnover in health and metabolic disease. Nature 478, 110–113. https://doi.org/10.1038/nature10426

Arner, P., Kriegholm, E., Engfeldt, P., Bolinder, J., 1990. Adrenergic regulation of lipolysis in situ at rest and during exercise. J. Clin. Invest. 85, 893–898. https://doi.org/10.1172/JCI114516

Arnone, M., Maruani, J., Chaperon, F., Thiébot, M.H., Poncelet, M., Soubrié, P., Le Fur, G., 1997. Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR 141716, an antagonist of central cannabinoid (CB1) receptors. Psychopharmacology (Berl) 132, 104–106. https://doi.org/10.1007/s002130050326

Aronne, L.J., Finer, N., Hollander, P.A., England, R.D., Klioze, S.S., Chew, R.D., Fountaine, R.J., Powell, C.M., Obourn, J.D., 2011. Efficacy and safety of CP-945,598, a selective cannabinoid CB1 receptor antagonist, on weight loss and maintenance. Obesity (Silver Spring) 19, 1404–1414. https://doi.org/10.1038/oby.2010.352

Arrabal, S., Lucena, M.A., Canduela, M.J., Ramos-Uriarte, A., Rivera, P., Serrano, A., Pavón, F.J., Decara, J., Vargas, A., Baixeras, E., Martín-Rufián, M., Márquez, J., Fernández-Llébrez, P., De Roos, B., Grandes, P., Rodríguez de Fonseca, F., Suárez, J., 2015. Pharmacological Blockade of Cannabinoid CB1 Receptors in Diet-Induced Obesity Regulates Mitochondrial Dihydrolipoamide Dehydrogenase in Muscle. PLoS One 10, e0145244. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145244

Avcilar, T., 2025. 32nd European Congress on Obesity (ECO 2025). Obes Facts 18, 1–656. https://doi.org/10.1159/000545547

Baer, P.C., 2014. Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells: An update on their phenotype in vivo and in vitro. WJSC 6, 256. https://doi.org/10.4252/wjsc.v6.i3.256

Barbosa, R., Leemput, J., Passilly-Degrace, P., Pointeau, O., Buch, C., de Barros, J.-P.P., Loriot, M., Lainé, A., Buet, L., Ortega-Deballon, P., Vergès, B., Demizieux, L., Jourdan, T., Degrace, P., 2026. Visceral fat

endocannabinoid overproduction is associated with insulin resistance and tissue dysfunction in mice and humans. Diabetologia. https://doi.org/10.1007/s00125-026-06886-0

Baron, M., Froguel, P., Bonnefond, A., 2020. Du nouveau dans la génétique des formes monogéniques d'obésité et son impact pour mieux en comprendre la physiopathologie. Med Sci (Paris) 36, 859–865. https://doi.org/10.1051/medsci/2020156

Bartelt, A., Heeren, J., 2014. Adipose tissue browning and metabolic health. Nat Rev Endocrinol 10, 24–36. https://doi.org/10.1038/nrendo.2013.204

Barthelemy, J., Bogard, G., Wolowczuk, I., 2023. Beyond energy balance regulation: The underestimated role of adipose tissues in host defense against pathogens. Front. Immunol. 14, 1083191. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1083191

Barutta, F., Mastrocola, R., Bellini, S., Bruno, G., Gruden, G., 2018. Cannabinoid Receptors in Diabetic Kidney Disease. Curr Diab Rep 18, 9. https://doi.org/10.1007/s11892-018-0975-7

Baynest, H.W., 2015. Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. J Diabetes Metab 06. https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000541

Behan-Bush, R.M., Liszewski, J.N., Schrodt, M.V., Vats, B., Li, X., Lehmler, H.-J., Klingelhutz, A.J., Ankrum, J.A., 2023. Toxicity Impacts on Human Adipose Mesenchymal Stem/Stromal Cells Acutely Exposed to Aroclor and Non-Aroclor Mixtures of Polychlorinated Biphenyl. Environ Sci Technol 57, 1731–1742. https://doi.org/10.1021/acs.est.2c07281

Bellocchio, L., Cervino, C., Vicennati, V., Pasquali, R., Et., A., 2008. Cannabinoid Type 1 Receptor: Another Arrow in the Adipocytes' Bow. Journal of Neuroendocrinology. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01682.x

Bennetzen, M.F., Nielsen, T.S., Paulsen, S.K., Bendix, J., Et., A., 2010. Reduced cannabinoid receptor 1 protein in subcutaneous adipose tissue of obese. European Journal of Clinical Investigation. https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2009.02231.x

Berger, M., Scheel, D.W., Macias, H., Miyatsuka, T., Kim, H., Hoang, P., Ku, G.M., Honig, G., Liou, A., Tang, Y., Regard, J.B., Sharifnia, P., Yu, L., Wang, J., Coughlin, S.R., Conklin, B.R., Deneris, E.S., Tecott, L.H., German, M.S., 2015. Gαi/o-coupled receptor signaling restricts pancreatic β-cell expansion. Proc Natl Acad Sci U S A 112, 2888–2893. https://doi.org/10.1073/pnas.1319378112

Bermúdez-Silva, F.J., Suárez, J., Baixeras, E., Cobo, N., Bautista, D., Cuesta-Muñoz, A.L., Fuentes, E., Juan-Pico, P., Castro, M.J., Milman, G., Mechoulam, R., Nadal, A., Rodríguez de Fonseca, F., 2008.

Presence of functional cannabinoid receptors in human endocrine pancreas. Diabetologia 51, 476–487. https://doi.org/10.1007/s00125-007-0890-y

Berry, R., Rodeheffer, M.S., 2013. Characterization of the adipocyte cellular lineage in vivo. Nat Cell Biol 15, 302–308. https://doi.org/10.1038/ncb2696

Berstein, G., Blank, J.L., Jhon, D.Y., Exton, J.H., Rhee, S.G., Ross, E.M., 1992. Phospholipase C-beta 1 is a GTPase-activating protein for Gq/11, its physiologic regulator. Cell 70, 411–418. https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90165-9

Beslay, M., Srour, B., Méjean, C., Allès, B., Fiolet, T., Debras, C., Chazelas, E., Deschasaux, M., Wendeu-Foyet, M.G., Hercberg, S., Galan, P., Monteiro, C.A., Deschamps, V., Calixto Andrade, G., Kesse-Guyot, E., Julia, C., Touvier, M., 2020. Ultra-processed food intake in association with BMI change and risk of overweight and obesity: A prospective analysis of the French NutriNet-Santé cohort. PLoS Med 17, e1003256. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003256

Beyer, C.E., Dwyer, J.M., Piesla, M.J., Platt, B.J., Shen, R., Rahman, Z., Chan, K., Manners, M.T., Samad, T.A., Kennedy, J.D., Bingham, B., Whiteside, G.T., 2010. Depression-like phenotype following chronic CB1 receptor antagonism. Neurobiology of Disease 39, 148–155. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.03.020

Bi, P., Shan, T., Liu, W., Yue, F., Yang, X., Liang, X.-R., Wang, J., Li, J., Carlesso, N., Liu, X., Kuang, S., 2014. Notch signaling regulates adipose browning and energy metabolism. Nat Med 20, 911–918. https://doi.org/10.1038/nm.3615

Bianco, A.C., Kim, B.W., 2006. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. J Clin Invest 116, 2571–2579. https://doi.org/10.1172/JCI29812

Biniazan, F., Stoian, A., Haykal, S., 2024. Adipose-Derived Stem Cells: Angiogenetic Potential and Utility in Tissue Engineering. Int J Mol Sci 25, 2356. https://doi.org/10.3390/ijms25042356

Birsoy, K., Chen, Z., Friedman, J., 2008. Transcriptional Regulation of Adipogenesis by KLF4. Cell Metabolism 7, 339–347. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.02.001

Bisogno, T., Howell, F., Williams, G., Minassi, A., Cascio, M.G., Ligresti, A., Matias, I., Schiano-Moriello, A., Paul, P., Williams, E.-J., Gangadharan, U., Hobbs, C., Di Marzo, V., Doherty, P., 2003. Cloning of the first sn1-DAG lipases points to the spatial and temporal regulation of endocannabinoid signaling in the brain. J Cell Biol 163, 463–468. https://doi.org/10.1083/jcb.200305129

Blaak, E., 2001. Gender differences in fat metabolism: Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care 4, 499–502. https://doi.org/10.1097/00075197-200111000-00006

Blandin, A., Dugail, I., Hilairet, G., Ponnaiah, M., Ghesquière, V., Froger, J., Ducheix, S., Fizanne, L., Boursier, J., Cariou, B., Lhomme, M., Le Lay, S., 2023. Lipidomic analysis of adipose-derived extracellular vesicles reveals specific EV lipid sorting informative of the obesity metabolic state. Cell Reports 42, 112169. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112169

Blankman, J.L., Simon, G.M., Cravatt, B.F., 2007. A comprehensive profile of brain enzymes that hydrolyze the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. Chem Biol 14, 1347–1356. https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2007.11.006

Blázquez-Medela, A.M., Jumabay, M., Boström, K.I., 2019. Beyond the Bone: Bone Morphogenetic Protein (BMP) Signaling in Adipose Tissue. Obes Rev 20, 648–658. https://doi.org/10.1111/obr.12822

Blouin, K., Boivin, A., Tchernof, A., 2008. Androgens and body fat distribution. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 108, 272–280. https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2007.09.001

Blüher, M., Engeli, S., Klöting, N., Berndt, J., Fasshauer, M., Bátkai, S., Pacher, P., Schön, M.R., Jordan, J., Stumvoll, M., 2006. Dysregulation of the Peripheral and Adipose Tissue Endocannabinoid System in Human Abdominal Obesity. Diabetes 55, 3053–3060. https://doi.org/10.2337/db06-0812

Boney, C.M., Fiedorek, F.T., Paul, S.R., Gruppuso, P.A., 1996. Regulation of preadipocyte factor-1 gene expression during 3T3-L1 cell differentiation. Endocrinology 137, 2923–2928. https://doi.org/10.1210/endo.137.7.8770915

Bouaboula, M., Hilairet, S., Marchand, J., Fajas, L., Et., A., 2005. Anandamide induced PPARγ transcriptional activation and 3T3-L1 preadipocyte differentiation. European Journal of Pharmacology. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.05.032

Bourin, P., Bunnell, B.A., Casteilla, L., Dominici, M., Katz, A.J., March, K.L., Redl, H., Rubin, J.P., Yoshimura, K., Gimble, J.M., 2013. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). Cytotherapy 15, 641–648. https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.02.006

Bowles, N.P., Karatsoreos, I.N., Li, X., Vemuri, V.K., Wood, J.-A., Li, Z., Tamashiro, K.L.K., Schwartz, G.J., Makriyannis, A.M., Kunos, G., Hillard, C.J., McEwen, B.S., Hill, M.N., 2015. A peripheral endocannabinoid mechanism contributes to glucocorticoid-mediated metabolic syndrome. Proceedings of the National Academy of Sciences 112, 285–290. https://doi.org/10.1073/pnas.1421420112

Bozaoglu, K., Bolton, K., McMillan, J., Zimmet, P., Jowett, J., Collier, G., Walder, K., Segal, D., 2007. Chemerin Is a Novel Adipokine Associated with Obesity and Metabolic Syndrome. Endocrinology 148, 4687–4694. https://doi.org/10.1210/en.2007-0175

Bozaoglu, K., Segal, D., Shields, K.A., Cummings, N., Curran, J.E., Comuzzie, A.G., Mahaney, M.C., Rainwater, D.L., VandeBerg, J.L., MacCluer, J.W., Collier, G., Blangero, J., Walder, K., Jowett, J.B.M., 2009. Chemerin Is Associated with Metabolic Syndrome Phenotypes in a Mexican-American Population. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 94, 3085–3088. https://doi.org/10.1210/jc.2008-1833

Braun, K., Oeckl, J., Westermeier, J., Li, Y., Klingenspor, M., 2018. Non-adrenergic control of lipolysis and thermogenesis in adipose tissues. Journal of Experimental Biology 221, jeb165381. https://doi.org/10.1242/jeb.165381

Briand-Mésange, F., Gennero, I., Salles, J., Trudel, S., Dahan, L., Ausseil, J., Payrastre, B., Salles, J.-P., Chap, H., 2024. From Classical to Alternative Pathways of 2-Arachidonoylglycerol Synthesis: AlterAGs at the Crossroad of Endocannabinoid and Lysophospholipid Signaling. Molecules 29, 3694. https://doi.org/10.3390/molecules29153694

Brissard, L., Leemput, J., Hichami, A., Passilly-Degrace, P., Maquart, G., Demizieux, L., Degrace, P., Khan, N.A., 2018. Orosensory Detection of Dietary Fatty Acids Is Altered in CB1R−/− Mice. Nutrients 10, 1347. https://doi.org/10.3390/nu10101347

Brooks, A.E.S., Iminitoff, M., Williams, E., Damani, T., Jackson-Patel, V., Fan, V., James, J., Dunbar, P.R., Feisst, V., Sheppard, H.M., 2020. Ex Vivo Human Adipose Tissue Derived Mesenchymal Stromal Cells (ASC) Are a Heterogeneous Population That Demonstrate Rapid Culture-Induced Changes. Front. Pharmacol. 10. https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01695

Buch, C., Muller, T., Leemput, J., Passilly-Degrace, P., Ortega-Deballon, P., Pais De Barros, J.-P., Vergès, B., Jourdan, T., Demizieux, L., Degrace, P., 2021. Endocannabinoids Produced by White Adipose Tissue Modulate Lipolysis in Lean but Not in Obese Rodent and Human. Front. Endocrinol. 12, 716431. https://doi.org/10.3389/fendo.2021.716431

Bunnell, B.A., Martin, E.C., Matossian, M.D., Brock, C.K., Nguyen, K., Collins-Burow, B., Burow, M.E., 2022. The effect of obesity on adipose-derived stromal cells and adipose tissue and their impact on cancer. Cancer Metastasis Rev 41, 549–573. https://doi.org/10.1007/s10555-022-10063-1

Busquets-Garcia, A., Bains, J., Marsicano, G., 2018. CB1 Receptor Signaling in the Brain: Extracting Specificity from Ubiquity. Neuropsychopharmacology 43, 4–20. https://doi.org/10.1038/npp.2017.206

Cabral, G.A., Griffin-Thomas, L., 2009. Emerging Role of the CB2 Cannabinoid Receptor in Immune Regulation and Therapeutic Prospects. Expert Rev Mol Med 11, e3. https://doi.org/10.1017/S1462399409000957

Campfield, L.A., Smith, F.J., Guisez, Y., Devos, R., Burn, P., 1995. Recombinant Mouse OB Protein: Evidence for a Peripheral Signal Linking Adiposity and Central Neural Networks. Science, New Series 269, 546–549.

Cani, P.D., Geurts, L., Matamoros, S., Plovier, H., Et., A., 2014. Glucose metabolism: Focus on gut microbiota, the endocannabinoid system and beyond. Diabetes & Metabolism. https://doi.org/10.1016/j.diabet.2014.02.004

Cao, Z., Umek, R.M., McKnight, S.L., 1991. Regulated expression of three C/EBP isoforms during adipose conversion of 3T3-L1 cells. Genes Dev 5, 1538–1552. https://doi.org/10.1101/gad.5.9.1538

Caplan, A.I., 2017. Mesenchymal Stem Cells: Time to Change the Name! Stem Cells Transl Med 6, 1445–1451. https://doi.org/10.1002/sctm.17-0051

Carpentier, A.C., 2021. 100th anniversary of the discovery of insulin perspective: insulin and adipose tissue fatty acid metabolism. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 320, E653–E670. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00620.2020

Castellano-Castillo, D., Denechaud, P.-D., Fajas, L., Moreno-Indias, I., Oliva-Olivera, W., Tinahones, F., Queipo-Ortuño, M.I., Cardona, F., 2019. Human adipose tissue H3K4me3 histone mark in adipogenic, lipid metabolism and inflammatory genes is positively associated with BMI and HOMA-IR. PLoS One 14, e0215083. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215083

Castoldi, A., Naffah de Souza, C., Câmara, N.O.S., Moraes-Vieira, P.M., 2016. The Macrophage Switch in Obesity Development. Front Immunol 6, 637. https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00637

Cave, E., Crowther, N.J., 2019. The Use of 3T3-L1 Murine Preadipocytes as a Model of Adipogenesis. Methods Mol Biol 1916, 263–272. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_25

Cawthorn, W.P., Scheller, E.L., MacDougald, O.A., 2012. Adipose tissue stem cells meet preadipocyte commitment: going back to the future. Journal of Lipid Research 53, 227–246. https://doi.org/10.1194/jlr.R021089

Chanda, D., Kim, D.-K., Li, T., Kim, Y.-H., Koo, S.-H., Lee, C.-H., Chiang, J.Y.L., Choi, H.-S., 2011. Cannabinoid Receptor Type 1 (CB1R) Signaling Regulates Hepatic Gluconeogenesis via Induction of Endoplasmic Reticulum-bound Transcription Factor cAMP-responsive Element-binding Protein H (CREBH) in Primary Hepatocytes. J Biol Chem 286, 27971–27979. https://doi.org/10.1074/jbc.M111.224352

Chanda, D., Kim, Y.-H., Kim, D.-K., Lee, M.-W., Lee, S.-Y., Park, T.-S., Koo, S.-H., Lee, C.-H., Choi, H.-S., 2012. Activation of cannabinoid receptor type 1 (Cb1r) disrupts hepatic insulin receptor signaling via cyclic AMP-response element-binding protein H (Crebh)-mediated induction of Lipin1 gene. J Biol Chem 287, 38041–38049. https://doi.org/10.1074/jbc.M112.377978

Chandel, N.S., McClintock, D.S., Feliciano, C.E., Wood, T.M., Melendez, J.A., Rodriguez, A.M., Schumacker, P.T., 2000. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1alpha during hypoxia: a mechanism of O2 sensing. J Biol Chem 275, 25130–25138. https://doi.org/10.1074/jbc.M001914200

Chavakis, T., Alexaki, V.I., Ferrante, A.W., 2023. Macrophage function in adipose tissue homeostasis and metabolic inflammation. Nat Immunol 24, 757–766. https://doi.org/10.1038/s41590-023-01479-0

Chen, C.-T., Shih, Y.-R.V., Kuo, T.K., Lee, O.K., Wei, Y.-H., 2008. Coordinated Changes of Mitochondrial Biogenesis and Antioxidant Enzymes During Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. Stem Cells 26, 960–968. https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0509

Cheng, L., Wang, J., Dai, H., Duan, Y., An, Y., Shi, L., Lv, Y., Li, H., Wang, C., Ma, Q., Li, Y., Li, P., Du, H., Zhao, B., 2021. Brown and beige adipose tissue: a novel therapeutic strategy for obesity and type 2 diabetes mellitus. Adipocyte 10, 48–65. https://doi.org/10.1080/21623945.2020.1870060

Chevaleyre, V., Takahashi, K.A., Castillo, P.E., 2006. Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in the CNS. Annu Rev Neurosci 29, 37–76. https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.112834

Chicca, A., Marazzi, J., Nicolussi, S., Gertsch, J., 2012. Evidence for Bidirectional Endocannabinoid Transport across Cell Membranes. J Biol Chem 287, 34660–34682. https://doi.org/10.1074/jbc.M112.373241

Childers, S.R., Deadwyler, S.A., 1996. Role of cyclic AMP in the actions of cannabinoid receptors. Biochem Pharmacol 52, 819–827. https://doi.org/10.1016/0006-2952(96)00419-4

Choi, J.R., Yong, K.W., Wan Safwani, W.K.Z., 2017. Effect of hypoxia on human adipose-derived mesenchymal stem cells and its potential clinical applications. Cell Mol Life Sci 74, 2587–2600. https://doi.org/10.1007/s00018-017-2484-2

Chorvat, R.J., Berbaum, J., Seriacki, K., McElroy, J.F., 2012. JD-5006 and JD-5037: Peripherally restricted (PR) cannabinoid-1 receptor blockers related to SLV-319 (Ibipinabant) as metabolic disorder therapeutics devoid of CNS liabilities. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.08.004

Choy, L., Skillington, J., Derynck, R., 2000. Roles of Autocrine TGF-β Receptor and Smad Signaling in Adipocyte Differentiation. J Cell Biol 149, 667–682. https://doi.org/10.1083/jcb.149.3.667

Christodoulides, C., Lagathu, C., Sethi, J.K., Vidal-Puig, A., 2009. Adipogenesis and WNT signalling. Trends Endocrinol Metab 20, 16–24. https://doi.org/10.1016/j.tem.2008.09.002

Chua, J.T., Argueta, D.A., DiPatrizio, N.V., Kovesdy, C.P., Vaziri, N.D., Kalantar-Zadeh, K., Moradi, H., 2019. Endocannabinoid System and the Kidneys: From Renal Physiology to Injury and Disease. Cannabis & Cannabinoid Research 4, 10–20. https://doi.org/10.1089/can.2018.0060

Cinar, R., Iyer, M.R., Kunos, G., 2020. The therapeutic potential of second and third generation CB1R antagonists. Pharmacol Ther 208, 107477. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107477

Cinar, R., Iyer, M.R., Liu, Z., Cao, Z., Jourdan, T., Erdelyi, K., Godlewski, G., Szanda, G., Liu, J., Park, J.K., Mukhopadhyay, B., Rosenberg, A.Z., Liow, J.-S., Lorenz, R.G., Pacher, P., Innis, R.B., Kunos, G., 2016. Hybrid inhibitor of peripheral cannabinoid-1 receptors and inducible nitric oxide synthase mitigates liver fibrosis. JCI Insight 1, 87336. https://doi.org/10.1172/jci.insight.87336

Cinti, S., 2009. Transdifferentiation properties of adipocytes in the adipose organ. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 297, E977–E986. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00183.2009

Clark, E.R., Clark, E.L., 1940. Microscopic studies of the new formation of fat in living adult rabbits. Am. J. Anat. 67, 255–285. https://doi.org/10.1002/aja.1000670204

Clément, K., Vaisse, C., Lahlou, N., Cabrol, S., Pelloux, V., Cassuto, D., Gourmelen, M., Dina, C., Chambaz, J., Lacorte, J.-M., Basdevant, A., Bougnères, P., Lebouc, Y., Froguel, P., Guy-Grand, B., 1998. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. Nature 392, 398–401. https://doi.org/10.1038/32911

Cocucci, E., Meldolesi, J., 2015. Ectosomes and exosomes: shedding the confusion between extracellular vesicles. Trends in Cell Biology 25, 364–372. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.01.004

Cohen, Y., Kolodziej, A., Morningstar, M., 2024. Seventeen years since rimonabant's downfall: reassessing its suicidality risk profile. Obesity (Silver Spring) 32, 1235–1244. https://doi.org/10.1002/oby.24019

Contreras-Lopez, R., Elizondo-Vega, R., Paredes, M.J., Luque-Campos, N., Torres, M.J., Tejedor, G., Vega-Letter, A.M., Figueroa-Valdés, A., Pradenas, C., Oyarce, K., Jorgensen, C., Khoury, M., Garcia-Robles, M. de L.A., Altamirano, C., Djouad, F., Luz-Crawford, P., 2020. HIF1α-dependent metabolic reprogramming governs mesenchymal stem/stromal cell immunoregulatory functions. FASEB J 34, 8250–8264. https://doi.org/10.1096/fj.201902232R

Cota, D., Marsicano, G., Tschöp, M., Grübler, Y., Flachskamm, C., Schubert, M., Auer, D., Yassouridis, A., Thöne-Reineke, C., Ortmann, S., Tomassoni, F., Cervino, C., Nisoli, E., Linthorst, A.C.E., Pasquali, R., Lutz, B., Stalla, G.K., Pagotto, U., 2003. The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. J Clin Invest 112, 423–431. https://doi.org/10.1172/JCI17725

Cousin, B., Cinti, S., Morroni, M., Raimbault, S., Ricquier, D., Pénicaud, L., Casteilla, L., 1992. Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization. Journal of Cell Science 103, 931–942. https://doi.org/10.1242/jcs.103.4.931

Cravatt, B.F., Demarest, K., Patricelli, M.P., Bracey, M.H., Giang, D.K., Martin, B.R., Lichtman, A.H., 2001. Supersensitivity to anandamide and enhanced endogenous cannabinoid signaling in mice lacking fatty acid amide hydrolase. Proc Natl Acad Sci U S A 98, 9371–9376. https://doi.org/10.1073/pnas.161191698

Cravatt, B.F., Giang, D.K., Mayfield, S.P., Boger, D.L., Lerner, R.A., Gilula, N.B., 1996. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. Nature 384, 83–87. https://doi.org/10.1038/384083a0

Crespillo, A., Suárez, J., Bermúdez-Silva, F.J., Rivera, P., Vida, M., Alonso, M., Palomino, A., Lucena, M.A., Serrano, A., Pérez-Martín, M., Macias, M., Fernández-Llébrez, P., Rodríguez de Fonseca, F., 2011. Expression of the cannabinoid system in muscle: effects of a high-fat diet and CB1 receptor blockade. Biochem J 433, 175–185. https://doi.org/10.1042/BJ20100751

Crisan, M., Corselli, M., Chen, C.-W., Péault, B., 2011. Multilineage stem cells in the adult: A perivascular legacy? Organogenesis 7, 101–104. https://doi.org/10.4161/org.7.2.16150

Crisan, M., Yap, S., Casteilla, L., Chen, C.-W., Corselli, M., Park, T.S., Andriolo, G., Sun, B., Zheng, B., Zhang, L., Norotte, C., Teng, P.-N., Traas, J., Schugar, R., Deasy, B.M., Badylak, S., Bűhring, H.-J.,

Giacobino, J.-P., Lazzari, L., Huard, J., Péault, B., 2008. A Perivascular Origin for Mesenchymal Stem Cells in Multiple Human Organs. Cell Stem Cell 3, 301–313. https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.07.003

Cristancho, A.G., Lazar, M.A., 2011. Forming functional fat: a growing understanding of adipocyte differentiation. Nat Rev Mol Cell Biol 12, 722–734. https://doi.org/10.1038/nrm3198

Cuevas-Sierra, A., Ramos-Lopez, O., Riezu-Boj, J.I., Milagro, F.I., Martinez, J.A., 2019. Diet, Gut Microbiota, and Obesity: Links with Host Genetics and Epigenetics and Potential Applications. Advances in Nutrition 10, S17–S30. https://doi.org/10.1093/advances/nmy078

Curran, F., Davis, M.E., Murphy, K., Tersigni, N., King, A., Ngo, N., O'Donoghue, G., 2023. Correlates of physical activity and sedentary behavior in adults living with overweight and obesity: A systematic review. Obesity Reviews 24, e13615. https://doi.org/10.1111/obr.13615

Cutler, D., Lleras-Muney, A., 2006. Education and Health: Evaluating Theories and Evidence (No. w12352). National Bureau of Economic Research, Cambridge, MA. https://doi.org/10.3386/w12352

D'Addario, C., Micioni Di Bonaventura, M.V., Pucci, M., Romano, A., Gaetani, S., Ciccocioppo, R., Cifani, C., Maccarrone, M., 2014. Endocannabinoid signaling and food addiction. Neurosci Biobehav Rev 47, 203–224. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.08.008

Dalle, S., Schouten, M., Deboutte, J., de Lange, E., Ramaekers, M., Koppo, K., 2024. The molecular signature of the peripheral cannabinoid receptor 1 antagonist AM6545 in adipose, liver and muscle tissue. Toxicol Appl Pharmacol 491, 117081. https://doi.org/10.1016/j.taap.2024.117081

Dalle, S., Schouten, M., Meeus, G., Slagmolen, L., Koppo, K., 2022. Molecular networks underlying cannabinoid signaling in skeletal muscle plasticity. Journal of Cellular Physiology 237, 3517–3540. https://doi.org/10.1002/jcp.30837

Dao, M., François, H., 2021. Cannabinoid Receptor 1 Inhibition in Chronic Kidney Disease: A New Therapeutic Toolbox. Front Endocrinol (Lausanne) 12, 720734. https://doi.org/10.3389/fendo.2021.720734

Darlington, G.J., Ross, S.E., MacDougald, O.A., 1998. The Role of C/EBP Genes in Adipocyte Differentiation. Journal of Biological Chemistry 273, 30057–30060. https://doi.org/10.1074/jbc.273.46.30057

Davies, B.S.J., Beigneux, A.P., Barnes, R.H., Tu, Y., Gin, P., Weinstein, M.M., Nobumori, C., Nyrén, R., Goldberg, I., Olivecrona, G., Bensadoun, A., Young, S.G., Fong, L.G., 2010. GPIHBP1 Is Responsible for

the Entry of Lipoprotein Lipase into Capillaries. Cell Metabolism 12, 42–52. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.04.016

Delgado-Peraza, F., Ahn, K.H., Nogueras-Ortiz, C., Mungrue, I.N., Mackie, K., Kendall, D.A., Yudowski, G.A., 2016. Mechanisms of Biased β-Arrestin-Mediated Signaling Downstream from the Cannabinoid 1 Receptor. Mol Pharmacol 89, 618–629. https://doi.org/10.1124/mol.115.103176

Derkinderen, P., Ledent, C., Parmentier, M., Girault, J.A., 2001. Cannabinoids activate p38 mitogen-activated protein kinases through CB1 receptors in hippocampus. J Neurochem 77, 957–960. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00333.x

Després, J.-P., Golay, A., Sjöström, L., 2005. Effects of Rimonabant on Metabolic Risk Factors in Overweight Patients with Dyslipidemia. N Engl J Med 353, 2121–2134. https://doi.org/10.1056/NEJMoa044537

Després, J.-P., Ross, R., Boka, G., Alméras, N., Lemieux, I., ADAGIO-Lipids Investigators, 2009. Effect of rimonabant on the high-triglyceride/ low-HDL-cholesterol dyslipidemia, intraabdominal adiposity, and liver fat: the ADAGIO-Lipids trial. Arterioscler Thromb Vasc Biol 29, 416–423. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.108.176362

Devane, W.A., Hanuš, L., Breuer, A., Pertwee, R.G., Stevenson, L.A., Griffin, G., Gibson, D., Mandelbaum, A., Etinger, A., Mechoulam, R., 1992. Isolation and Structure of a Brain Constituent That Binds to the Cannabinoid Receptor. Science 258, 1946–1949. https://doi.org/10.1126/science.1470919

Devaux, M., Sassi, F., 2013. Social inequalities in obesity and overweight in 11 OECD countries. The European Journal of Public Health 23, 464–469. https://doi.org/10.1093/eurpub/ckr058

Deveaux, V., Cadoudal, T., Ichigotani, Y., Teixeira-Clerc, F., Louvet, A., Manin, S., Nhieu, J.T.-V., Belot, M.P., Zimmer, A., Even, P., Cani, P.D., Knauf, C., Burcelin, R., Bertola, A., Le Marchand-Brustel, Y., Gual, P., Mallat, A., Lotersztajn, S., 2009. Cannabinoid CB2 receptor potentiates obesity-associated inflammation, insulin resistance and hepatic steatosis. PLoS One 4, e5844. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005844

Di Marzo, V., 2018. New approaches and challenges to targeting the endocannabinoid system. Nat Rev Drug Discov 17, 623–639. https://doi.org/10.1038/nrd.2018.115

Di Marzo, V., Goparaju, S.K., Wang, L., Liu, J., Bátkai, S., Járai, Z., Fezza, F., Miura, G.I., Palmiter, R.D., Sugiura, T., Kunos, G., 2001. Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. Nature 410, 822–825. https://doi.org/10.1038/35071088

Díaz-Flores, L., Gutiérrez, R., Madrid, J.F., Varela, H., Valladares, F., Acosta, E., Martín-Vasallo, P., Díaz-Flores, L., 2009. Pericytes. Morphofunction, interactions and pathology in a quiescent and activated mesenchymal cell niche. Histol Histopathol 24, 909–969. https://doi.org/10.14670/HH-24.909

Dinh, T.P., Carpenter, D., Leslie, F.M., Freund, T.F., Katona, I., Sensi, S.L., Kathuria, S., Piomelli, D., 2002. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. Proc Natl Acad Sci U S A 99, 10819–10824. https://doi.org/10.1073/pnas.152334899

DiPatrizio, N.V., Joslin, A., Jung, K.-M., Piomelli, D., 2013. Endocannabinoid signaling in the gut mediates preference for dietary unsaturated fats. FASEB J 27, 2513–2520. https://doi.org/10.1096/fj.13-227587

Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F.C., Krause, D.S., Deans, R.J., Keating, A., Prockop, D.J., Horwitz, E.M., 2006. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy 8, 315–317. https://doi.org/10.1080/14653240600855905

Dong, Z., Fu, Y., Cai, Z., Dai, H., He, Y., 2025. Recent advances in adipose-derived mesenchymal stem cell-derived exosomes for regulating macrophage polarization. Front Immunol 16, 1525466. https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1525466

Dörnyei, G., Vass, Z., Juhász, C.B., Nádasy, G.L., Hunyady, L., Szekeres, M., 2023. Role of the Endocannabinoid System in Metabolic Control Processes and in the Pathogenesis of Metabolic Syndrome: An Update. Biomedicines 11, 306. https://doi.org/10.3390/biomedicines11020306

Drehmer, D.L., de Aguiar, A.M., Brandt, A.P., Petiz, L., Cadena, S.M.S.C., Rebelatto, C.K., Brofman, P.R.S., Filipak Neto, F., Dallagiovanna, B., Abud, A.P.R., 2016. Metabolic switches during the first steps of adipogenic stem cells differentiation. Stem Cell Res 17, 413–421. https://doi.org/10.1016/j.scr.2016.09.001

Drewnowski, A., Specter, S., 2004. Poverty and obesity: the role of energy density and energy costs. The American Journal of Clinical Nutrition 79, 6–16. https://doi.org/10.1093/ajcn/79.1.6

Duerrschmid, C., He, Y., Wang, C., Li, C., Bournat, J.C., Romere, C., Saha, P.K., Lee, M.E., Phillips, K.J., Jain, M., Jia, P., Zhao, Z., Farias, M., Wu, Q., Milewicz, D.M., Sutton, V.R., Moore, D.D., Butte, N.F., Krashes, M.J., Xu, Y., Chopra, A.R., 2017. Asprosin is a centrally acting orexigenic hormone. Nat Med 23, 1444–1453. https://doi.org/10.1038/nm.4432

Dugas, L.R., Fuller, M., Gilbert, J., Layden, B.T., 2016. The obese gut microbiome across the epidemiologic transition. Emerg Themes Epidemiol 13, 2. https://doi.org/10.1186/s12982-015-0044-5

Eckardt, K., Sell, H., Taube, A., Koenen, M., Platzbecker, B., Cramer, A., Horrighs, A., Lehtonen, M., Tennagels, N., Eckel, J., 2009. Cannabinoid type 1 receptors in human skeletal muscle cells participate in the negative crosstalk between fat and muscle. Diabetologia 52, 664–674. https://doi.org/10.1007/s00125-008-1240-4

Edwards, A., DeSante, S., Spencer, C.D., Hyland, L., Smith, A., Sankhe, A.S., Szilvásy-Szabó, A., Fekete, C., Hill, M.N., Chee, M.J., Abizaid, A., 2025. Ghrelin Recruits the Endocannabinoid System to Modulate Food Reward. J Neurosci 45, e1620242024. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1620-24.2024

Eirin, A., Thaler, R., Glasstetter, L.M., Xing, L., Zhu, X.-Y., Osborne, A.C., Mondesir, R., Bhagwate, A.V., Lerman, A., van Wijnen, A.J., Lerman, L.O., 2024. Obesity-driven mitochondrial dysfunction in human adipose tissue-derived mesenchymal stem/stromal cells involves epigenetic changes. Cell Death Dis 15, 387. https://doi.org/10.1038/s41419-024-06774-8

Ejarque, M., Ceperuelo-Mallafré, V., Serena, C., Maymo-Masip, E., Duran, X., Díaz-Ramos, A., Millan-Scheiding, M., Núñez-Álvarez, Y., Núñez-Roa, C., Gama, P., Garcia-Roves, P.M., Peinado, M.A., Gimble, J.M., Zorzano, A., Vendrell, J., Fernández-Veledo, S., 2019. Adipose tissue mitochondrial dysfunction in human obesity is linked to a specific DNA methylation signature in adipose-derived stem cells. Int J Obes 43, 1256–1268. https://doi.org/10.1038/s41366-018-0219-6

Eldeeb, K., Leone-Kabler, S., Howlett, A.C., 2016. CB1 cannabinoid receptor-mediated increases in cyclic AMP accumulation are correlated with reduced Gi/o function. J Basic Clin Physiol Pharmacol 27, 311–322. https://doi.org/10.1515/jbcpp-2015-0096

Elsen, M., Raschke, S., Tennagels, N., Schwahn, U., Jelenik, T., Roden, M., Romacho, T., Eckel, J., 2014. BMP4 and BMP7 induce the white-to-brown transition of primary human adipose stem cells. Am J Physiol Cell Physiol 306, C431-440. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00290.2013

Emont, M.P., Jacobs, C., Essene, A.L., Pant, D., Tenen, D., Colleluori, G., Di Vincenzo, A., Jørgensen, A.M., Dashti, H., Stefek, A., McGonagle, E., Strobel, S., Laber, S., Agrawal, S., Westcott, G.P., Kar, A., Veregge, M.L., Gulko, A., Srinivasan, H., Kramer, Z., De Filippis, E., Merkel, E., Ducie, J., Boyd, C.G., Gourash, W., Courcoulas, A., Lin, S.J., Lee, B.T., Morris, D., Tobias, A., Khera, A.V., Claussnitzer, M., Pers, T.H., Giordano, A., Ashenberg, O., Regev, A., Tsai, L.T., Rosen, E.D., 2022. A single-cell atlas of human and mouse white adipose tissue. Nature 603, 926–933. https://doi.org/10.1038/s41586-022-04518-2

Engeli, S., Böhnke, J., Feldpausch, M., Gorzelniak, K., Janke, J., Bátkai, S., Pacher, P., Harvey-White, J., Luft, F.C., Sharma, A.M., Jordan, J., 2005. Activation of the Peripheral Endocannabinoid System in Human Obesity. Diabetes 54, 2838–2843. https://doi.org/10.2337/diabetes.54.10.2838

Engeli, S., Lehmann, A., Kaminski, J., Haas, V., Janke, J., Zoerner, A.A., Luft, F.C., Tsikas, D., Jordan, J., 2014. Influence of dietary fat intake on the endocannabinoid system in lean and obese subjects. Obesity 22. https://doi.org/10.1002/oby.20728

Engin, A., 2024. Adipose Tissue Hypoxia in Obesity: Clinical Reappraisal of Hypoxia Hypothesis, in: Engin, A.B., Engin, A. (Eds.), Obesity and Lipotoxicity, Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer International Publishing, Cham, pp. 329–356. https://doi.org/10.1007/978-3-031-63657-8_11

Ernst, M.C., Haidl, I.D., Zúñiga, L.A., Dranse, H.J., Rourke, J.L., Zabel, B.A., Butcher, E.C., Sinal, C.J., 2012. Disruption of the Chemokine-Like Receptor-1 (CMKLR1) Gene Is Associated with Reduced Adiposity and Glucose Intolerance. Endocrinology 153, 672–682. https://doi.org/10.1210/en.2011-1490

Esau, C., Kang, X., Peralta, E., Hanson, E., Marcusson, E.G., Ravichandran, L.V., Sun, Y., Koo, S., Perera, R.J., Jain, R., Dean, N.M., Freier, S.M., Bennett, C.F., Lollo, B., Griffey, R., 2004. MicroRNA-143 regulates adipocyte differentiation. J Biol Chem 279, 52361–52365. https://doi.org/10.1074/jbc.C400438200

Esposito, I., Proto, M.C., Gazzerro, P., Laezza, C., Miele, C., Alberobello, A.T., D'Esposito, V., Beguinot, F., Formisano, P., Bifulco, M., 2008. The cannabinoid CB1 receptor antagonist rimonabant stimulates 2-deoxyglucose uptake in skeletal muscle cells by regulating the expression of phosphatidylinositol-3-kinase. Mol Pharmacol 74, 1678–1686. https://doi.org/10.1124/mol.108.049205

Fabbrini, E., Sullivan, S., Klein, S., 2010. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. Hepatology 51, 679–689. https://doi.org/10.1002/hep.23280

Fain, J.N., 2010. Release of Inflammatory Mediators by Human Adipose Tissue Is Enhanced in Obesity and Primarily by the Nonfat Cells: A Review. Mediators Inflamm 2010, 513948. https://doi.org/10.1155/2010/513948

Farmer, S.R., 2006. Transcriptional control of adipocyte formation. Cell Metab 4, 263–273. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.07.001

Farrington-Rock, C., Crofts, N.J., Doherty, M.J., Ashton, B.A., Griffin-Jones, C., Canfield, A.E., 2004. Chondrogenic and Adipogenic Potential of Microvascular Pericytes. Circulation 110, 2226–2232. https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000144457.55518.E5

Felder, C.C., Briley, E.M., Axelrod, J., Simpson, J.T., Mackie, K., Devane, W.A., 1993. Anandamide, an endogenous cannabimimetic eicosanoid, binds to the cloned human cannabinoid receptor and stimulates receptor-mediated signal transduction. Proc Natl Acad Sci U S A 90, 7656–7660. https://doi.org/10.1073/pnas.90.16.7656

Fillmore, N., Huqi, A., Jaswal, J.S., Mori, J., Paulin, R., Haromy, A., Onay-Besikci, A., Ionescu, L., Thébaud, B., Michelakis, E., Lopaschuk, G.D., 2015. Effect of Fatty Acids on Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Energy Metabolism and Survival. PLoS One 10, e0120257. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120257

Fontaine, C., Cousin, W., Plaisant, M., Dani, C., Peraldi, P., 2008. Hedgehog signaling alters adipocyte maturation of human mesenchymal stem cells. Stem Cells 26, 1037–1046. https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0974

Foti, R., Storti, G., Palmesano, M., Scioli, M.G., Fiorelli, E., Terriaca, S., Cervelli, G., Kim, B.S., Orlandi, A., Cervelli, V., 2024. Senescence in Adipose-Derived Stem Cells: Biological Mechanisms and Therapeutic Challenges. Int J Mol Sci 25, 8390. https://doi.org/10.3390/ijms25158390

Frank, P., Jokela, M., Batty, G.D., Lassale, C., Steptoe, A., Kivimäki, M., 2022. Overweight, obesity, and individual symptoms of depression: A multicohort study with replication in UK Biobank. Brain, Behavior, and Immunity 105, 192–200. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2022.07.009

Frigolet, M.E., Gutiérrez-Aguilar, R., 2023. The colors of adipose tissue. GMM 156, 3932. https://doi.org/10.24875/GMM.M20000356

Fu, J., Gaetani, S., Oveisi, F., Lo Verme, J., Serrano, A., Rodríguez De Fonseca, F., Rosengarth, A., Luecke, H., Di Giacomo, B., Tarzia, G., Piomelli, D., 2003. Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR-alpha. Nature 425, 90–93. https://doi.org/10.1038/nature01921

Fu, Y., Luo, N., Klein, R.L., Garvey, W.T., 2005. Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. J Lipid Res 46, 1369–1379. https://doi.org/10.1194/jlr.M400373-JLR200

Furnham, A., Tan, T., McManus, C., 1997. Waist-to-hip ratio and preferences for body shape: A replication and extension. Personality and Individual Differences 22, 539–549. https://doi.org/10.1016/S0191-8869(96)00241-3

Gaengel, K., Genové, G., Armulik, A., Betsholtz, C., 2009. Endothelial-Mural Cell Signaling in Vascular Development and Angiogenesis. ATVB 29, 630–638. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.161521

Galiègue, S., Mary, S., Marchand, J., Dussossoy, D., Carrière, D., Carayon, P., Bouaboula, M., Shire, D., Le Fur, G., Casellas, P., 1995. Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. Eur J Biochem 232, 54–61. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1995.tb20780.x

Gandolfi, S., Pileyre, B., Drouot, L., Dubus, I., Auquit-Auckbur, I., Martinet, J., 2023. Stromal vascular fraction in the treatment of myositis. Cell Death Discov. 9, 346. https://doi.org/10.1038/s41420-023-01605-9

Gao, A.W., Cantó, C., Houtkooper, R.H., 2014. Mitochondrial response to nutrient availability and its role in metabolic disease. EMBO Mol Med 6, 580–589. https://doi.org/10.1002/emmm.201303782

Gao, H., Volat, F., Sandhow, L., Galitzky, J., Nguyen, T., Esteve, D., Åström, G., Mejhert, N., Ledoux, S., Thalamas, C., Arner, P., Guillemot, J.-C., Qian, H., Rydén, M., Bouloumié, A., 2017. CD36 Is a Marker of Human Adipocyte Progenitors with Pronounced Adipogenic and Triglyceride Accumulation Potential. Stem Cells 35, 1799–1814. https://doi.org/10.1002/stem.2635

Gaoni, Y., Mechoulam, R., 1964. Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. J. Am. Chem. Soc. 86, 1646–1647. https://doi.org/10.1021/ja01062a046

García-Rubio, J., León, J., Redruello-Romero, A., Pavón, E., Cozar, A., Tamayo, F., Caba-Molina, M., Salmerón, J., Carazo, Á., 2018. weight loss induced by bariatric surgery.

Garipcan, B., Maenz, S., Pham, T., Settmacher, U., Jandt, K.D., Zanow, J., Bossert, J., 2011. Image Analysis of Endothelial Microstructure and Endothelial Cell Dimensions of Human Arteries – A Preliminary Study. Adv Eng Mater 13. https://doi.org/10.1002/adem.201080076

Gary-Bobo, M., Elachouri, G., Scatton, B., Le Fur, G., Oury-Donat, F., Bensaid, M., 2006. The cannabinoid CB1 receptor antagonist rimonabant (SR141716) inhibits cell proliferation and increases markers of adipocyte maturation in cultured mouse 3T3 F442A preadipocytes. Mol Pharmacol 69, 471–478. https://doi.org/10.1124/mol.105.015040

Gasperi, V., Fezza, F., Pasquariello, N., Bari, M., Oddi, S., Agrò, A.F., Maccarrone, M., 2007. Endocannabinoids in adipocytes during differentiation and their role in glucose uptake. Cell Mol Life Sci 64, 219–229. https://doi.org/10.1007/s00018-006-6445-4

Gasperi, V., Fezza, F., Pasquariello, N., Bari, M., Oddi, S., Agrò, A.F., Maccarrone, M., 2006. Endocannabinoids in adipocytes during differentiation and their role in glucose uptake. Cell Mol Life Sci 64, 219–229. https://doi.org/10.1007/s00018-006-6445-4

Ge, Q., Maury, E., Rycken, L., Gérard, J., Et., A., 2012. Endocannabinoids regulate adipokine production and the immune balance of omental adipose tissue in human obesity. International Journal of Obesity. https://doi.org/10.1038/ijo.2012.123

Geng, J., Zhang, X., Prabhu, S., Shahoei, S.H., Nelson, E.R., Swanson, K.S., Anastasio, M.A., Smith, A.M., 2021. 3D microscopy and deep learning reveal the heterogeneity of crown-like structure

microenvironments in intact adipose tissue. Science Advances 7, eabe2480. https://doi.org/10.1126/sciadv.abe2480

George, D.T., Herion, D.W., Jones, C.L., Phillips, M.J., Hersh, J., Hill, D., Heilig, M., Ramchandani, V.A., Geyer, C., Spero, D.E., Singley, E.D., O'Malley, S.S., Bishai, R., Rawlings, R.R., Kunos, G., 2010. Rimonabant (SR141716) has no effect on alcohol self-administration or endocrine measures in nontreatment-seeking heavy alcohol drinkers. Psychopharmacology (Berl) 208, 37–44. https://doi.org/10.1007/s00213-009-1704-3

Golay, H.G., Barbie, D.A., 2014. Targeting cytokine networks in KRAS-driven tumorigenesis. Expert Review of Anticancer Therapy 14, 869–871. https://doi.org/10.1586/14737140.2014.928596

Gonthier, M., Hoareau, L., Festy, F., Matias, I., Valenti, M., Bès-Houtmann, S., Rouch, C., Silva, C.R., Chesne, S., d'Hellencourt, C.L., Césari, M., Di Marzo, V., Roche, R., 2007. Identification of Endocannabinoids and Related Compounds in Human Fat Cells. Obesity 15, 837–845. https://doi.org/10.1038/oby.2007.581

González-Mariscal, I., Krzysik-Walker, S.M., Doyle, M.E., Liu, Q.-R., Cimbro, R., Santa-Cruz Calvo, S., Ghosh, S., Cieśla, Ł., Moaddel, R., Carlson, O.D., Witek, R.P., O'Connell, J.F., Egan, J.M., 2016a. Human CB1 Receptor Isoforms, present in Hepatocytes and β-cells, are Involved in Regulating Metabolism. Sci Rep 6, 33302. https://doi.org/10.1038/srep33302

González-Mariscal, I., Krzysik-Walker, S.M., Kim, W., Rouse, M., Egan, J.M., 2016b. Blockade of Cannabinoid 1 Receptor Improves GLP-1R Mediated Insulin Secretion in Mice. Mol Cell Endocrinol 423, 1–10. https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.12.015

González-Mariscal, I., Montoro, R.A., O'Connell, J.F., Kim, Y., Gonzalez-Freire, M., Liu, Q.-R., Alfaras, I., Carlson, O.D., Lehrmann, E., Zhang, Y., Becker, K.G., Hardivillé, S., Ghosh, P., Egan, J.M., 2019. Muscle cannabinoid 1 receptor regulates Il-6 and myostatin expression, governing physical performance and whole-body metabolism. FASEB J 33, 5850–5863. https://doi.org/10.1096/fj.201801145R

Goralski, K.B., McCarthy, T.C., Hanniman, E.A., Zabel, B.A., Butcher, E.C., Parlee, S.D., Muruganandan, S., Sinal, C.J., 2007. Chemerin, a Novel Adipokine That Regulates Adipogenesis and Adipocyte Metabolism. Journal of Biological Chemistry 282, 28175–28188. https://doi.org/10.1074/jbc.M700793200

Govers, R., Coster, A.C.F., James, D.E., 2004. Insulin Increases Cell Surface GLUT4 Levels by Dose Dependently Discharging GLUT4 into a Cell Surface Recycling Pathway. Molecular and Cellular Biology 24, 6456–6466. https://doi.org/10.1128/MCB.24.14.6456-6466.2004

Green, H., Kehinde, O., 1974. Sublines of mouse 3T3 cells that accumulate lipid. Cell 1, 113–116. https://doi.org/10.1016/0092-8674(74)90126-3

Griffin, M.J., 2022. On the Immunometabolic Role of NF-κB in Adipocytes. Immunometabolism 4, e220003. https://doi.org/10.20900/immunometab20220003

Griffin, M.J., Zhou, Y., Kang, S., Zhang, X., Mikkelsen, T.S., Rosen, E.D., 2013. Early B-cell Factor-1 (EBF1) Is a Key Regulator of Metabolic and Inflammatory Signaling Pathways in Mature Adipocytes. J Biol Chem 288, 35925–35939. https://doi.org/10.1074/jbc.M113.491936

Guglielmi, V., Cardellini, M., Cinti, F., Corgosinho, F., Cardolini, I., D'Adamo, M., Zingaretti, M.C., Bellia, A., Lauro, D., Gentileschi, P., Federici, M., Cinti, S., Sbraccia, P., 2015. Omental adipose tissue fibrosis and insulin resistance in severe obesity. Nutr Diabetes 5, e175. https://doi.org/10.1038/nutd.2015.22

Guilak, F., Lott, K.E., Awad, H.A., Cao, Q., Hicok, K.C., Fermor, B., Gimble, J.M., 2006. Clonal analysis of the differentiation potential of human adipose-derived adult stem cells. J Cell Physiol 206, 229–237. https://doi.org/10.1002/jcp.20463

Guimarães-Camboa, N., Cattaneo, P., Sun, Y., Moore-Morris, T., Gu, Y., Dalton, N.D., Rockenstein, E., Masliah, E., Peterson, K.L., Stallcup, W.B., Chen, J., Evans, S.M., 2017. Pericytes of Multiple Organs Do Not Behave as Mesenchymal Stem Cells In Vivo. Cell Stem Cell 20, 345-359.e5. https://doi.org/10.1016/j.stem.2016.12.006

Guo, J., Ikeda, S.R., 2004. Endocannabinoids modulate N-type calcium channels and G-protein-coupled inwardly rectifying potassium channels via CB1 cannabinoid receptors heterologously expressed in mammalian neurons. Mol Pharmacol 65, 665–674. https://doi.org/10.1124/mol.65.3.665

Guo, K.-Y., Halo, P., Leibel, R.L., Zhang, Y., 2004. Effects of obesity on the relationship of leptin mRNA expression and adipocyte size in anatomically distinct fat depots in mice. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 287, R112–R119. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00028.2004

Gupta, R.K., Arany, Z., Seale, P., Mepani, R.J., Ye, L., Conroe, H.M., Roby, Y.A., Kulaga, H., Reed, R.R., Spiegelman, B.M., 2010. Transcriptional control of preadipocyte determination by Zfp423. Nature 464, 619–623. https://doi.org/10.1038/nature08816

Gupta, R.K., Mepani, R.J., Kleiner, S., Lo, J.C., Khandekar, M.J., Cohen, P., Frontini, A., Bhowmick, D.C., Ye, L., Cinti, S., Spiegelman, B.M., 2012. Zfp423 Expression Identifies Committed Preadipocytes and Localizes to Adipose Endothelial and Perivascular Cells. Cell Metab 15, 230–239. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.01.010

Gustafson, B., Gogg, S., Hedjazifar, S., Jenndahl, L., Hammarstedt, A., Smith, U., 2009. Inflammation and impaired adipogenesis in hypertrophic obesity in man. Am J Physiol Endocrinol Metab 297, E999–E1003. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00377.2009

Gustafson, B., Hammarstedt, A., Hedjazifar, S., Hoffmann, J.M., Svensson, P.-A., Grimsby, J., Rondinone, C., Smith, U., 2015a. BMP4 and BMP Antagonists Regulate Human White and Beige Adipogenesis. Diabetes 64, 1670–1681. https://doi.org/10.2337/db14-1127

Gustafson, B., Hedjazifar, S., Gogg, S., Hammarstedt, A., Smith, U., 2015b. Insulin resistance and impaired adipogenesis. Trends in Endocrinology & Metabolism 26, 193–200. https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.01.006

Gustafson, B., Nerstedt, A., Smith, U., 2019. Reduced subcutaneous adipogenesis in human hypertrophic obesity is linked to senescent precursor cells. Nat Commun 10, 2757. https://doi.org/10.1038/s41467-019-10688-x

Hagberg, C.E., Spalding, K.L., 2024. White adipocyte dysfunction and obesity-associated pathologies in humans. Nat Rev Mol Cell Biol 25, 270–289. https://doi.org/10.1038/s41580-023-00680-1

Haj-Dahmane, S., Shen, R.-Y., Elmes, M.W., Studholme, K., Kanjiya, M.P., Bogdan, D., Thanos, P.K., Miyauchi, J.T., Tsirka, S.E., Deutsch, D.G., Kaczocha, M., 2018. Fatty-acid–binding protein 5 controls retrograde endocannabinoid signaling at central glutamate synapses. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 115, 3482–3487. https://doi.org/10.1073/pnas.1721339115

Halberg, N., Khan, T., Trujillo, M.E., Wernstedt-Asterholm, I., Attie, A.D., Sherwani, S., Wang, Z.V., Landskroner-Eiger, S., Dineen, S., Magalang, U.J., Brekken, R.A., Scherer, P.E., 2009. Hypoxia-Inducible Factor 1α Induces Fibrosis and Insulin Resistance in White Adipose Tissue. Mol Cell Biol 29, 4467–4483. https://doi.org/10.1128/MCB.00192-09

Hammarstedt, A., Gogg, S., Hedjazifar, S., Nerstedt, A., Smith, U., 2018a. Impaired Adipogenesis and Dysfunctional Adipose Tissue in Human Hypertrophic Obesity. Physiol Rev 98, 1911–1941. https://doi.org/10.1152/physrev.00034.2017

Hammarstedt, A., Hedjazifar, S., Jenndahl, L., Gogg, S., Grünberg, J., Gustafson, B., Klimcakova, E., Stich, V., Langin, D., Laakso, M., Smith, U., 2013. WISP2 regulates preadipocyte commitment and PPARγ activation by BMP4. Proc Natl Acad Sci U S A 110, 2563–2568. https://doi.org/10.1073/pnas.1211255110

Hammarstedt, A., Syed, I., Vijayakumar, A., Eliasson, B., Gogg, S., Kahn, B.B., Smith, U., 2018b. Adipose tissue dysfunction is associated with low levels of the novel Palmitic Acid Hydroxystearic Acids. Sci Rep 8, 15757. https://doi.org/10.1038/s41598-018-34113-3

Hansen, J.B., Jørgensen, C., Petersen, R.K., Hallenborg, P., De Matteis, R., Bøye, H.A., Petrovic, N., Enerbäck, S., Nedergaard, J., Cinti, S., te Riele, H., Kristiansen, K., 2004. Retinoblastoma protein functions as a molecular switch determining white versus brown adipocyte differentiation. Proc Natl Acad Sci U S A 101, 4112–4117. https://doi.org/10.1073/pnas.0301964101

Hansen, K.B., Rosenkilde, M.M., Knop, F.K., Wellner, N., Diep, T.A., Rehfeld, J.F., Andersen, U.B., Holst, J.J., Hansen, H.S., 2011. 2-Oleoyl Glycerol Is a GPR119 Agonist and Signals GLP-1 Release in Humans. J Clin Endocrinol Metab 96, E1409–E1417. https://doi.org/10.1210/jc.2011-0647

Harte, A.L., Tripathi, G., Piya, M.K., Barber, T.M., Clapham, J.C., Al-Daghri, N., Al-Disi, D., Kumsaiyai, W., Saravanan, P., Fowler, A.E., O'Hare, J.P., Kumar, S., McTernan, P.G., 2013. NFκB as a potent regulator of inflammation in human adipose tissue, influenced by depot, adiposity, T2DM status, and TNFα. Obesity (Silver Spring) 21, 2322–2330. https://doi.org/10.1002/oby.20336

Hayashi, Y., 2021. Glucagon regulates lipolysis and fatty acid oxidation through inositol triphosphate receptor 1 in the liver. J of Diabetes Invest 12, 32–34. https://doi.org/10.1111/jdi.13315

Hepler, C., Shan, B., Zhang, Q., Henry, G.H., Shao, M., Vishvanath, L., Ghaben, A.L., Mobley, A.B., Strand, D., Hon, G.C., Gupta, R.K., 2018. Identification of functionally distinct fibro-inflammatory and adipogenic stromal subpopulations in visceral adipose tissue of adult mice. Elife 7, e39636. https://doi.org/10.7554/eLife.39636

Hepler, C., Shao, M., Xia, J.Y., Ghaben, A.L., Pearson, M.J., Vishvanath, L., Sharma, A.X., Morley, T.S., Holland, W.L., Gupta, R.K., 2017a. Directing visceral white adipocyte precursors to a thermogenic adipocyte fate improves insulin sensitivity in obese mice. eLife 6, e27669. https://doi.org/10.7554/eLife.27669

Hepler, C., Vishvanath, L., Gupta, R.K., 2017b. Sorting out adipocyte precursors and their role in physiology and disease. Genes Dev 31, 127–140. https://doi.org/10.1101/gad.293704.116

Herkenham, M., Lynn, A.B., Little, M.D., Johnson, M.R., Melvin, L.S., de Costa, B.R., Rice, K.C., 1990. Cannabinoid receptor localization in brain. Proc Natl Acad Sci U S A 87, 1932–1936. https://doi.org/10.1073/pnas.87.5.1932

Heyman, E., Gamelin, F.-X., Aucouturier, J., Di Marzo, V., 2012. The role of the endocannabinoid system in skeletal muscle and metabolic adaptations to exercise: potential implications for the treatment of obesity. Obesity Reviews. https://doi.org/10.1111/j.1467-789x.2012.01026.x

Heymsfield, S.B., Greenberg, A.S., Fujioka, K., Dixon, R.M., Kushner, R., Hunt, T., Lubina, J.A., Patane, J., Self, B., Hunt, P., McCamish, M., 1999. Recombinant Leptin for Weight Loss in Obese and Lean Adults: A Randomized, Controlled, Dose-Escalation Trial. JAMA 282, 1568. https://doi.org/10.1001/jama.282.16.1568

Hillard, C.J., 2018. Circulating Endocannabinoids: From Whence Do They Come and Where are They Going? Neuropsychopharmacology 43, 155–172. https://doi.org/10.1038/npp.2017.130

Himms-Hagen, J., Melnyk, A., Zingaretti, M.C., Ceresi, E., Barbatelli, G., Cinti, S., 2000. Multilocular fat cells in WAT of CL-316243-treated rats derive directly from white adipocytes. American Journal of Physiology-Cell Physiology 279, C670–C681. https://doi.org/10.1152/ajpcell.2000.279.3.C670

Hirano, T., Ishihara, K., Hibi, M., 2000. Roles of STAT3 in mediating the cell growth, differentiation and survival signals relayed through the IL-6 family of cytokine receptors. Oncogene 19, 2548–2556. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1203551

Horton, J.D., Goldstein, J.L., Brown, M.S., 2002. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. J Clin Invest 109, 1125–1131. https://doi.org/10.1172/JCI15593

Hosogai, N., Fukuhara, A., Oshima, K., Miyata, Y., Tanaka, S., Segawa, K., Furukawa, S., Tochino, Y., Komuro, R., Matsuda, M., Shimomura, I., 2007. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. Diabetes 56, 901–911. https://doi.org/10.2337/db06-0911

Howlett, A.C., Blume, L.C., Dalton, G.D., 2010. CB1 Cannabinoid Receptors and their Associated Proteins. Curr Med Chem 17, 1382–1393. https://doi.org/10.2174/092986710790980023

Howlett, A.C., Shim, J.-Y., 2013. Cannabinoid Receptors and Signal Transduction, in: Madame Curie Bioscience Database [Internet]. Landes Bioscience.

Hryciw, D.H., McAinch, A.J., 2016. Cannabinoid receptors in the kidney. Curr Opin Nephrol Hypertens 25, 459–464. https://doi.org/10.1097/MNH.0000000000000249

Hu, C., Fan, L., Cen, P., Chen, E., Jiang, Z., Li, L., 2016. Energy Metabolism Plays a Critical Role in Stem Cell Maintenance and Differentiation. Int J Mol Sci 17, 253. https://doi.org/10.3390/ijms17020253

Huang, H., Song, T.-J., Li, X., Hu, L., He, Q., Liu, M., Lane, M.D., Tang, Q.-Q., 2009. BMP signaling pathway is required for commitment of C3H10T1/2 pluripotent stem cells to the adipocyte lineage. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 106, 12670–12675. https://doi.org/10.1073/pnas.0906266106

Huang, S., Xiao, P., Sun, J., 2020. Structural basis of signaling of cannabinoids receptors: paving a way for rational drug design in controling mutiple neurological and immune diseases. Sig Transduct Target Ther 5, 127. https://doi.org/10.1038/s41392-020-00240-5

Hudak, C.S., Gulyaeva, O., Wang, Y., Park, S., Lee, L., Kang, C., Sul, H.S., 2014. Pref-1 Marks Very Early Mesenchymal Precursors Required for Adipose Tissue Development and Expansion. Cell Reports 8, 678–687. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.06.060

Hudak, C.S., Sul, H.S., 2013. Pref-1, a Gatekeeper of Adipogenesis. Front Endocrinol (Lausanne) 4, 79. https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00079

Hwang, J.W., So, Y.-S., Bae, G.-U., Kim, S.-N., Kim, Y.K., 2019. Protein arginine methyltransferase 6 suppresses adipogenic differentiation by repressing peroxisome proliferator-activated receptor γ activity. Int J Mol Med 43, 2462–2470. https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4147

Iannotti, F.A., Di Marzo, V., 2025. The endocannabinoidomes: Pharmacological redundancy and promiscuity, and multi-kingdom variety of sources and molecular targets. Pharmacological Reviews 77, 100070. https://doi.org/10.1016/j.pharmr.2025.100070

Ibrahim, M.M., 2010. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. Obesity Reviews 11, 11–18. https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2009.00623.x

Idris, A.I., Sophocleous, A., Landao-Bassonga, E., Canals, M., Milligan, G., Baker, D., Van'T Hof, R.J., Ralston, S.H., 2009. Cannabinoid Receptor Type 1 Protects against Age- Related Osteoporosis by Regulating Osteoblast and Adipocyte Differentiation in Marrow Stromal Cells. Cell Metabolism 10, 139–147. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.07.006

Iizuka, K., Horikawa, Y., 2008. ChREBP: a glucose-activated transcription factor involved in the development of metabolic syndrome. Endocr J 55, 617–624. https://doi.org/10.1507/endocrj.k07e-110

Jacquot, L., Pointeau, O., Roger-Villeboeuf, C., Passilly-Degrace, P., Belkaid, R., Regazzoni, I., Leemput, J., Buch, C., Demizieux, L., Vergès, B., Degrace, P., Crater, G., Jourdan, T., 2023. Therapeutic potential of a novel peripherally restricted CB1R inverse agonist on the progression of diabetic nephropathy. Front Nephrol 3, 1138416. https://doi.org/10.3389/fneph.2023.1138416

Jaitin, D.A., Adlung, L., Thaiss, C.A., Weiner, A., Li, B., Descamps, H., Lundgren, P., Bleriot, C., Liu, Z., Deczkowska, A., Keren-Shaul, H., David, E., Zmora, N., Eldar, S.M., Lubezky, N., Shibolet, O., Hill, D.A., Lazar, M.A., Colonna, M., Ginhoux, F., Shapiro, H., Elinav, E., Amit, I., 2019. Lipid-Associated Macrophages Control Metabolic Homeostasis in a Trem2-Dependent Manner. Cell 178, 686-698.e14. https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.05.054

James, A.W., Leucht, P., Levi, B., Carre, A.L., Xu, Y., Helms, J.A., Longaker, M.T., 2010. Sonic Hedgehog influences the balance of osteogenesis and adipogenesis in mouse adipose-derived stromal cells. Tissue Eng Part A 16, 2605–2616. https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2010.0048

Jamshidi, N., Taylor, D.A., 2001. Anandamide administration into the ventromedial hypothalamus stimulates appetite in rats. Br J Pharmacol 134, 1151–1154. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704379

Jang, Y., Park, Y.-K., Lee, J.-E., Wan, D., Tran, N., Gavrilova, O., Ge, K., 2021. MED1 is a lipogenesis coactivator required for postnatal adipose expansion. Genes Dev 35, 713–728. https://doi.org/10.1101/gad.347583.120

Jiang, Y., Liu, P., Jiao, W., Meng, J., Feng, J., 2018. Gax suppresses chemerin/CMKLR1-induced preadipocyte biofunctions through the inhibition of Akt/mTOR and ERK signaling pathways. Journal Cellular Physiology 233, 572–586. https://doi.org/10.1002/jcp.25918

Jin-Feng, F., Ping-Ping, W., Xiong, F., Chin-Ping, T., Chun, C., Yun-Ping, P., 2025. Dietary Polyphenols in Obesity Management: Critical Insights on Health Benefits and Mechanisms of Action. Journal of Food Science 90, e70267. https://doi.org/10.1111/1750-3841.70267

Jourdan, T., Godlewski, G., Cinar, R., Bertola, A., Szanda, G., Liu, J., Tam, J., Han, T., Mukhopadhyay, B., Skarulis, M.C., Ju, C., Aouadi, M., Czech, M.P., Kunos, G., 2013. Activation of the Nlrp3 inflammasome in infiltrating macrophages by endocannabinoids mediates beta cell loss in type 2 diabetes. Nat Med 19, 1132–1140. https://doi.org/10.1038/nm.3265

Jourdan, T., Szanda, G., Cinar, R., Godlewski, G., Holovac, D.J., Park, J.K., Nicoloro, S., Shen, Y., Liu, J., Rosenberg, A.Z., Liu, Z., Czech, M.P., Kunos, G., 2017. Developmental Role of Macrophage Cannabinoid-1 Receptor Signaling in Type 2 Diabetes. Diabetes 66, 994–1007. https://doi.org/10.2337/db16-1199

Jourdan, T., Szanda, G., Rosenberg, A.Z., Tam, J., Earley, B.J., Godlewski, G., Cinar, R., Liu, Z., Liu, J., Ju, C., Pacher, P., Kunos, G., 2014. Overactive cannabinoid 1 receptor in podocytes drives type 2 diabetic nephropathy. Proc Natl Acad Sci U S A 111, E5420-5428. https://doi.org/10.1073/pnas.1419901111

Js, Y., W, C., 2016. Proliferation, survival and metabolism: the role of PI3K/AKT/mTOR signalling in pluripotency and cell fate determination. Development (Cambridge, England) 143. https://doi.org/10.1242/dev.137075

Juan-Picó, P., Fuentes, E., Javier Bermúdez-Silva, F., Javier Díaz-Molina, F., Ripoll, C., Rodríguez De Fonseca, F., Nadal, A., 2006. Cannabinoid receptors regulate Ca2+ signals and insulin secretion in pancreatic β-cell. Cell Calcium 39, 155–162. https://doi.org/10.1016/j.ceca.2005.10.005

Jung, H.-W., Park, I., Ghil, S., 2014. Cannabinoid receptor activation inhibits cell cycle progression by modulating 14-3-3β. Cell Mol Biol Lett 19, 347–360. https://doi.org/10.2478/s11658-014-0200-x

Jung, K.-M., Lin, L., Piomelli, D., 2022. The endocannabinoid system in the adipose organ. Rev Endocr Metab Disord 23, 51–60. https://doi.org/10.1007/s11154-020-09623-z

Kabashima, T., Kawaguchi, T., Wadzinski, B.E., Uyeda, K., 2003. Xylulose 5-phosphate mediates glucose-induced lipogenesis by xylulose 5-phosphate-activated protein phosphatase in rat liver. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100, 5107–5112. https://doi.org/10.1073/pnas.0730817100

Kang, H., Lee, J., 2024. Adipose tissue macrophage heterogeneity in the single-cell genomics era. Mol Cells 47, 100031. https://doi.org/10.1016/j.mocell.2024.100031

Kapetanos, K., Asimakopoulos, D., Christodoulou, N., Vogt, A., Khan, W., 2021. Chronological Age Affects MSC Senescence In Vitro—A Systematic Review. International Journal of Molecular Sciences 22, 7945. https://doi.org/10.3390/ijms22157945

Karki, P., Rangaswamy, M., 2023. A Review of Historical Context and Current Research on Cannabis Use in India. Indian J Psychol Med 45, 105–116. https://doi.org/10.1177/02537176221109272

Kesharwani, D., Brown, A.C., 2024. Navigating the Adipocyte Precursor Niche: Cell-Cell Interactions, Regulatory Mechanisms and Implications for Adipose Tissue Homeostasis. J Cell Signal 5, 65–86. https://doi.org/10.33696/signaling.5.114

Khalid, M., Frommer, M.L., Abu-Hanna, J., Langridge, B.J., Calero Pages, C., Awad, L., Butler, P.E.M., 2026. Influence of Donor Obesity on Adipose-Derived Stem Cell Function and Therapeutic Efficacy. Cells 15, 946. https://doi.org/10.3390/cells15100946

Khamis, A.M., 2023. Pathophysiology, Diagnostic Criteria, and Approaches to Type 2 Diabetes Remission. Cureus. https://doi.org/10.7759/cureus.33908

Kilroy, G.E., Foster, S.J., Wu, X., Ruiz, J., Sherwood, S., Heifetz, A., Ludlow, J.W., Stricker, D.M., Potiny, S., Green, P., Halvorsen, Y.-D.C., Cheatham, B., Storms, R.W., Gimble, J.M., 2007. Cytokine profile of

human adipose-derived stem cells: Expression of angiogenic, hematopoietic, and pro-inflammatory factors. Journal of Cellular Physiology 212, 702–709. https://doi.org/10.1002/jcp.21068

Kim, J., Lee, K.J., Kim, J.S., Rho, J.G., Shin, J.J., Song, W.K., Lee, E.K., Egan, J.M., Kim, W., 2016. Cannabinoids Regulate Bcl-2 and Cyclin D2 Expression in Pancreatic β Cells. PLoS One 11, e0150981. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150981

Kim, J., Tang, Q.-Q., Li, X., Lane, M.D., 2007. Effect of phosphorylation and S–S bond-induced dimerization on DNA binding and transcriptional activation by C/EBPβ. Proc Natl Acad Sci U S A 104, 1800–1804. https://doi.org/10.1073/pnas.0611137104

Kim, W., Doyle, M.E., Liu, Z., Lao, Q., Shin, Y.-K., Carlson, O.D., Kim, H.S., Thomas, S., Napora, J.K., Lee, E.K., Moaddel, R., Wang, Y., Maudsley, S., Martin, B., Kulkarni, R.N., Egan, J.M., 2011. Cannabinoids Inhibit Insulin Receptor Signaling in Pancreatic β-Cells. Diabetes 60, 1198–1209. https://doi.org/10.2337/db10-1550

Kim, W.K., Lee, C.Y., Kang, M.S., Kim, M.H., Ryu, Y.H., Bae, K.-H., Shin, S.J., Lee, S.C., Ko, Y., 2008. Effects of leptin on lipid metabolism and gene expression of differentiation-associated growth factors and transcription factors during differentiation and maturation of 3T3-L1 preadipocytes. Endocr J 55, 827–837. https://doi.org/10.1507/endocrj.k08e-115

Kirkham, T.C., 2005. Endocannabinoids in the regulation of appetite and body weight. Behav Pharmacol 16, 297–313. https://doi.org/10.1097/00008877-200509000-00004

Klingenspor, M., Fromme, T., Hughes, D.A., Manzke, L., Polymeropoulos, E., Riemann, T., Trzcionka, M., Hirschberg, V., Jastroch, M., 2008. An ancient look at UCP1. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics 1777, 637–641. https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2008.03.006

Knani, I., Earley, B.J., Udi, S., Nemirovski, A., Hadar, R., Gammal, A., Cinar, R., Hirsch, H.J., Pollak, Y., Gross, I., Eldar-Geva, T., Reyes-Capo, D.P., Han, J.C., Haqq, A.M., Gross-Tsur, V., Wevrick, R., Tam, J., 2016. Targeting the endocannabinoid/CB1 receptor system for treating obesity in Prader-Willi syndrome. Mol Metab 5, 1187–1199. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.10.004

Knop, F.K., Kunos, G., Dicker, D., Paquette, J.-S., Aronne, L., Frenkel, O., Holst-Hansen, T., Lalonde, K., Lee, J., Crater, G., trial investigators, 2025. Efficacy and safety of monlunabant in adults with obesity and metabolic syndrome: a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2a trial. Lancet Diabetes Endocrinol 13, 911–923. https://doi.org/10.1016/S2213-8587(25)00216-5

Kohno, M., Hasegawa, H., Inoue, A., Muraoka, M., Miyazaki, T., Oka, K., Yasukawa, M., 2006. Identification of N-arachidonylglycine as the endogenous ligand for orphan G-protein-coupled

receptor GPR18. Biochem Biophys Res Commun 347, 827–832. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.06.175

Kola, B., Hubina, E., Tucci, S.A., Kirkham, T.C., Garcia, E.A., Mitchell, S.E., Williams, L.M., Hawley, S.A., Hardie, D.G., Grossman, A.B., Korbonits, M., 2005. Cannabinoids and ghrelin have both central and peripheral metabolic and cardiac effects via AMP-activated protein kinase. J Biol Chem 280, 25196–25201. https://doi.org/10.1074/jbc.C500175200

Kolb, H., 2022. Obese visceral fat tissue inflammation: from protective to detrimental? BMC Med 20, 494. https://doi.org/10.1186/s12916-022-02672-y

Kozak, K.R., Crews, B.C., Morrow, J.D., Wang, L.-H., Ma, Y.H., Weinander, R., Jakobsson, P.-J., Marnett, L.J., 2002. Metabolism of the endocannabinoids, 2-arachidonylglycerol and anandamide, into prostaglandin, thromboxane, and prostacyclin glycerol esters and ethanolamides. J Biol Chem 277, 44877–44885. https://doi.org/10.1074/jbc.M206788200

Krishna Kumar, K., Shalev-Benami, M., Robertson, M.J., Hu, H., Banister, S.D., Hollingsworth, S.A., Latorraca, N.R., Kato, H.E., Hilger, D., Maeda, S., Weis, W.I., Farrens, D.L., Dror, R.O., Malhotra, S.V., Kobilka, B.K., Skiniotis, G., 2019. Structure of a Signaling Cannabinoid Receptor 1-G Protein Complex. Cell 176, 448-458.e12. https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.11.040

Kuda, O., Brezinova, M., Rombaldova, M., Slavikova, B., Posta, M., Beier, P., Janovska, P., Veleba, J., Kopecky, J., Kudova, E., Pelikanova, T., Kopecky, J., 2016. Docosahexaenoic Acid–Derived Fatty Acid Esters of Hydroxy Fatty Acids (FAHFAs) With Anti-inflammatory Properties. Diabetes 65, 2580–2590. https://doi.org/10.2337/db16-0385

Kuryłowicz, A., 2023. Estrogens in Adipose Tissue Physiology and Obesity-Related Dysfunction. Biomedicines 11, 690. https://doi.org/10.3390/biomedicines11030690

Lafontan, M., Langin, D., 2009. Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. Progress in Lipid Research 48, 275–297. https://doi.org/10.1016/j.plipres.2009.05.001

Lai, P.-Y., Tsai, C.-B., Tseng, M.-J., 2013. Active form Notch4 promotes the proliferation and differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. Biochemical and Biophysical Research Communications 430, 1132–1139. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.12.024

Lapid, K., Lim, A., Clegg, D.J., Zeve, D., Graff, J.M., 2014. Oestrogen signalling in white adipose progenitor cells inhibits differentiation into brown adipose and smooth muscle cells. Nat Commun 5, 5196. https://doi.org/10.1038/ncomms6196

Le Lay, S., Scherer, P.E., 2025. Exploring adipose tissue-derived extracellular vesicles in inter-organ crosstalk: Implications for metabolic regulation and adipose tissue function. Cell Reports 44, 115732. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2025.115732

LeBlanc, S.E., Konda, S., Wu, Q., Hu, Y.-J., Oslowski, C.M., Sif, S., Imbalzano, A.N., 2012. Protein arginine methyltransferase 5 (Prmt5) promotes gene expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ2 (PPARγ2) and its target genes during adipogenesis. Mol Endocrinol 26, 583–597. https://doi.org/10.1210/me.2011-1162

Lecoutre, S., Rebière, C., Maqdasy, S., Lambert, M., Dussaud, S., Abatan, J.B., Dugail, I., Gautier, E.L., Clément, K., Marcelin, G., 2025. Enhancing adipose tissue plasticity: progenitor cell roles in metabolic health. Nat Rev Endocrinol 21, 272–288. https://doi.org/10.1038/s41574-024-01071-y

Lee, A.R., Moon, D.K., Siregar, A., Moon, S.Y., Jeon, R.-H., Son, Y.-B., Kim, B.G., Hah, Y.-S., Hwang, S.-C., Byun, J.-H., Woo, D.K., 2019. Involvement of mitochondrial biogenesis during the differentiation of human periosteum-derived mesenchymal stem cells into adipocytes, chondrocytes and osteocytes. Arch Pharm Res 42, 1052–1062. https://doi.org/10.1007/s12272-019-01198-x

Lee, E.K., Lee, M.J., Abdelmohsen, K., Kim, W., Kim, M.M., Srikantan, S., Martindale, J.L., Hutchison, E.R., Kim, H.H., Marasa, B.S., Selimyan, R., Egan, J.M., Smith, S.R., Fried, S.K., Gorospe, M., 2011. miR-130 Suppresses Adipogenesis by Inhibiting Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Expression. Mol Cell Biol 31, 626–638. https://doi.org/10.1128/MCB.00894-10

Lee, Y., Tharp, W.G., Dixon, A.E., Spaulding, L., Trost, S., Nair, S., Permana, P.A., Pratley, R.E., 2009. Dysregulation of cannabinoid CB1 receptor expression in subcutaneous adipocytes of obese individuals. Animal Cells and Systems 13, 371–379. https://doi.org/10.1080/19768354.2009.9647232

Lefterova, M.I., Haakonsson, A.K., Lazar, M.A., Mandrup, S., 2014. PPARγ and the global map of adipogenesis and beyond. Trends Endocrinol Metab 25, 293–302. https://doi.org/10.1016/j.tem.2014.04.001

Leo, L.M., Abood, M.E., 2021. CB1 Cannabinoid Receptor Signaling and Biased Signaling. Molecules 26, 5413. https://doi.org/10.3390/molecules26175413

Li, E., Shan, H., Chen, L., Long, A., Zhang, Y., Liu, Y., Jia, L., Wei, F., Han, J., Li, T., Liu, X., Deng, H., Wang, Y., 2019. OLFR734 Mediates Glucose Metabolism as a Receptor of Asprosin. Cell Metabolism 30, 319-328.e8. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.05.022

Li, J., Li, Y., Zhou, X., Yang, S., Liu, D., Wen, H., Chen, X., Duan, C., Yu, M., Zhang, M., Tang, B., Wang, Y., Wang, L., Wu, Y., 2025. Adipocytes orchestrate obesity-related chronic inflammation through β2-microglobulin. Sig Transduct Target Ther 10, 394. https://doi.org/10.1038/s41392-025-02486-3

Li, X., Ren, Y., Chang, K., Wu, W., Griffiths, H.R., Lu, S., Gao, D., 2023. Adipose tissue macrophages as potential targets for obesity and metabolic diseases. Front. Immunol. 14. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1153915

Liao, Z.-Z., Ran, L., Qi, X.-Y., Wang, Y.-D., Wang, Y.-Y., Yang, J., Liu, J.-H., Xiao, X.-H., 2022. Adipose endothelial cells mastering adipose tissues metabolic fate. Adipocyte 11, 108–119. https://doi.org/10.1080/21623945.2022.2028372

Liisberg Aune, U., Ruiz, L., Kajimura, S., 2013. Isolation and Differentiation of Stromal Vascular Cells to Beige/Brite Cells. JoVE 50191. https://doi.org/10.3791/50191

Lin, Q., Gao, Z., Alarcon, R.M., Ye, J., Yun, Z., 2009. A role of miR-27 in the regulation of adipogenesis. FEBS J 276, 2348–2358. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.06967.x

Lipina, C., Vaanholt, L.M., Davidova, A., Mitchell, S.E., Storey-Gordon, E., Hambly, C., Irving, A.J., Speakman, J.R., Hundal, H.S., 2016. CB1 receptor blockade counters age-induced insulin resistance and metabolic dysfunction. Aging Cell 15, 325–335. https://doi.org/10.1111/acel.12438

Liu, B., Song, S., Jones, P.M., Persaud, S.J., 2015. GPR55: from orphan to metabolic regulator? Pharmacol Ther 145, 35–42. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.06.007

Liu, C., Wu, J., Zhu, J., Kuei, C., Yu, J., Shelton, J., Sutton, S.W., Li, X., Yun, S.J., Mirzadegan, T., Mazur, C., Kamme, F., Lovenberg, T.W., 2009. Lactate inhibits lipolysis in fat cells through activation of an orphan G-protein-coupled receptor, GPR81. J Biol Chem 284, 2811–2822. https://doi.org/10.1074/jbc.M806409200

Liu, F., He, J., Wang, H., Zhu, D., Bi, Y., 2020. Adipose Morphology: a Critical Factor in Regulation of Human Metabolic Diseases and Adipose Tissue Dysfunction. Obes Surg 30, 5086–5100. https://doi.org/10.1007/s11695-020-04983-6

Liu, J., Gao, B., Mirshahi, F., Sanyal, A.J., Khanolkar, A.D., Makriyannis, A., Kunos, G., 2000. Functional CB1 cannabinoid receptors in human vascular endothelial cells. Biochem J 346 Pt 3, 835–840.

Liu, J., Wang, L., Harvey-White, J., Osei-Hyiaman, D., Razdan, R., Gong, Q., Chan, A.C., Zhou, Z., Huang, B.X., Kim, H.-Y., Kunos, G., 2006. A biosynthetic pathway for anandamide. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 103, 13345–13350. https://doi.org/10.1073/pnas.0601832103

Liu, Q.-R., Aseer, K.R., Yao, Q., Zhong, X., Ghosh, P., O'Connell, J.F., Egan, J.M., 2022. Anti-Inflammatory and Pro-Autophagy Effects of the Cannabinoid Receptor CB2R: Possibility of Modulation in Type 1 Diabetes. Front. Pharmacol. 12. https://doi.org/10.3389/fphar.2021.809965

Liu, S., Xu, R., Gerin, I., Cawthorn, W.P., MacDougald, O.A., Chen, X.-W., Saltiel, A.R., Koenig, R.J., Xu, B., 2014. SRA Regulates Adipogenesis by Modulating p38/JNK Phosphorylation and Stimulating Insulin Receptor Gene Expression and Downstream Signaling. PLoS One 9, e95416. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095416

Liu, X., Yuan, M., Xiang, Q., Li, Z., Xu, F., Chen, W., Chen, J., Huang, J., Yu, N., Zhou, Z., Long, X., 2022. Single-cell RNA sequencing of subcutaneous adipose tissues identifies therapeutic targets for cancer-associated lymphedema. Cell Discov 8, 58. https://doi.org/10.1038/s41421-022-00402-5

Liu, Y.L., Connoley, I.P., Wilson, C.A., Stock, M.J., 2005. Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 on oxygen consumption and soleus muscle glucose uptake in Lep(ob)/Lep(ob) mice. Int J Obes (Lond) 29, 183–187. https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802847

Liu, Z., Iyer, M.R., Godlewski, G., Jourdan, T., Liu, J., Coffey, N.J., Zawatsky, C.N., Puhl, H.L., Wess, J., Meister, J., Liow, J.-S., Innis, R.B., Hassan, S.A., Lee, Y.S., Kunos, G., Cinar, R., 2021. Functional Selectivity of a Biased Cannabinoid-1 Receptor (CB1R) Antagonist. ACS Pharmacol Transl Sci 4, 1175–1187. https://doi.org/10.1021/acsptsci.1c00048

Lo Verme, J., Fu, J., Astarita, G., La Rana, G., Russo, R., Calignano, A., Piomelli, D., 2005. The nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor-alpha mediates the anti-inflammatory actions of palmitoylethanolamide. Mol Pharmacol 67, 15–19. https://doi.org/10.1124/mol.104.006353

Lombardi, M., Scaroni, F., Gabrielli, M., Raffaele, S., Bonfanti, E., Filipello, F., Giussani, P., Picciolini, S., de Rosbo, N.K., Uccelli, A., Golia, M.T., D'Arrigo, G., Rubino, T., Hooshmand, K., Legido-Quigley, C., Fenoglio, C., Gualerzi, A., Fumagalli, M., Verderio, C., 2024. Extracellular vesicles released by microglia and macrophages carry endocannabinoids which foster oligodendrocyte differentiation. Front Immunol 15, 1331210. https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1331210

Londoño Gentile, T., Lu, C., Lodato, P.M., Tse, S., Olejniczak, S.H., Witze, E.S., Thompson, C.B., Wellen, K.E., 2013. DNMT1 Is Regulated by ATP-Citrate Lyase and Maintains Methylation Patterns during Adipocyte Differentiation. Mol Cell Biol 33, 3864–3878. https://doi.org/10.1128/MCB.01495-12

Lopez-Mejia, I.C., Castillo-Armengol, J., Lagarrigue, S., Fajas, L., 2017. Role of cell cycle regulators in adipose tissue and whole body energy homeostasis. Cell Mol Life Sci 75, 975–987. https://doi.org/10.1007/s00018-017-2668-9

Lu, H.-C., Mackie, K., 2016. An Introduction to the Endogenous Cannabinoid System. Biol Psychiatry 79, 516–525. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.07.028

Maccarrone, M., Finazzi-Agró, A., 2003. The endocannabinoid system, anandamide and the regulation of mammalian cell apoptosis. Cell Death Differ 10, 946–955. https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401284

Maeda, N., Shimomura, I., Kishida, K., Nishizawa, H., Matsuda, M., Nagaretani, H., Furuyama, N., Kondo, H., Takahashi, M., Arita, Y., Komuro, R., Ouchi, N., Kihara, S., Tochino, Y., Okutomi, K., Horie, M., Takeda, S., Aoyama, T., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., 2002. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. Nat Med 8, 731–737. https://doi.org/10.1038/nm724

Maffei, M., Halaas, J., Ravussin, E., Pratley, R.E., Lee, G.H., Zhang, Y., Fei, H., Kim, S., Lallone, R., Ranganathan, S., 1995. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. Nat Med 1, 1155–1161. https://doi.org/10.1038/nm1195-1155

Maharjan, B.R., McLennan, S.V., Twigg, S.M., Williams, P.F., 2022. The Effect of TGFβ1 in Adipocyte on Inflammatory and Fibrotic Markers at Different Stages of Adipocyte Differentiation. Pathophysiology 29, 640–649. https://doi.org/10.3390/pathophysiology29040050

Mahoney, J.P., Sunahara, R.K., 2016. Mechanistic insights into GPCR-G protein interactions. Curr Opin Struct Biol 41, 247–254. https://doi.org/10.1016/j.sbi.2016.11.005

Malfitano, A.M., Basu, S., Maresz, K., Bifulco, M., Dittel, B.N., 2014. What We Know and Don't Know About the Cannabinoid Receptor 2 (CB2). Semin Immunol 26, 369–379. https://doi.org/10.1016/j.smim.2014.04.002

Maliniak, M.L., Miller-Kleinhenz, J., Cronin-Fenton, D.P., Lash, T.L., Gogineni, K., Janssen, E.A.M., McCullough, L.E., 2021. Crown-Like Structures in Breast Adipose Tissue: Early Evidence and Current Issues in Breast Cancer. Cancers (Basel) 13, 2222. https://doi.org/10.3390/cancers13092222

Manini, T.M., 2010. Energy expenditure and aging. Ageing Research Reviews 9, 1–11. https://doi.org/10.1016/j.arr.2009.08.002

Maslowska, M., Sniderman, A., Germinario, R., Cianflone, K., 1997. ASP stimulates glucose transport in cultured human adipocytes. Int J Obes 21, 261–266. https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0800396

Massier, L., Jalkanen, J., Elmastas, M., Zhong, J., Wang, T., Nono Nankam, P.A., Frendo-Cumbo, S., Bäckdahl, J., Subramanian, N., Sekine, T., Kerr, A.G., Tseng, B.T.P., Laurencikiene, J., Buggert, M., Lourda, M., Kublickiene, K., Bhalla, N., Andersson, A., Valsesia, A., Astrup, A., Blaak, E.E., Ståhl, P.L., Viguerie, N., Langin, D., Wolfrum, C., Blüher, M., Rydén, M., Mejhert, N., 2023. An integrated single cell

and spatial transcriptomic map of human white adipose tissue. Nat Commun 14, 1438. https://doi.org/10.1038/s41467-023-36983-2

Masuzaki, H., Paterson, J., Shinyama, H., Morton, N.M., Mullins, J.J., Seckl, J.R., Flier, J.S., 2001. A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. Science 294, 2166–2170. https://doi.org/10.1126/science.1066285

Matias, I., Belluomo, I., Cota, D., 2016. The Fat Side of the Endocannabinoid System: Role of Endocannabinoids in the Adipocyte. Cannabis and Cannabinoid Research. https://doi.org/10.1089/can.2016.0014

Matias, I., Gonthier, M.-P., Orlando, P., Martiadis, V., De Petrocellis, L., Cervino, C., Petrosino, S., Hoareau, L., Festy, F., Pasquali, R., Roche, R., Maj, M., Pagotto, U., Monteleone, P., Di Marzo, V., 2006. Regulation, function, and dysregulation of endocannabinoids in models of adipose and beta-pancreatic cells and in obesity and hyperglycemia. J Clin Endocrinol Metab 91, 3171–3180. https://doi.org/10.1210/jc.2005-2679

Matsuda, L.A., Young, A.C., 1990. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned eDNA 346.

Mayr, B., Montminy, M., 2001. Transcriptional regulation by the phosphorylation-dependent factor CREB. Nat Rev Mol Cell Biol 2, 599–609. https://doi.org/10.1038/35085068

Meadows, A., Lee, J.H., Wu, C.-S., Wei, Q., Pradhan, G., Yafi, M., Lu, H.-C., Sun, Y., 2016. Deletion of G-protein-coupled receptor 55 promotes obesity by reducing physical activity. Int J Obes (Lond) 40, 417–424. https://doi.org/10.1038/ijo.2015.209

Mechoulam, R., Ben-Shabat, S., Hanus, L., Ligumsky, M., Kaminski, N.E., Schatz, A.R., Gopher, A., Almog, S., Martin, B.R., Compton, D.R., Pertwee, R.G., Griffin, G., Bayewitch, M., Barg, J., Vogel, Z., 1995. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. Biochemical Pharmacology 50, 83–90. https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)00109-D

Mechoulam, R., Lander, N., Varkony, T.H., Kimmel, I., Et., A., 1980. Stereochemical requirements for cannabinoid activity. Journal of Medicinal Chemistry. https://doi.org/10.1021/jm00184a002

Mehrpouya-Bahrami, P., Chitrala, K.N., Ganewatta, M.S., Tang, C., Murphy, E.A., Enos, R.T., Velazquez, K.T., McCellan, J., Nagarkatti, M., Nagarkatti, P., 2017. Blockade of CB1 cannabinoid receptor alters gut microbiota and attenuates inflammation and diet-induced obesity. Sci Rep 7, 15645. https://doi.org/10.1038/s41598-017-15154-6

Mehrpouya-Bahrami, P., Miranda, K., Singh, N.P., Zumbrun, E.E., Nagarkatti, M., Nagarkatti, P.S., 2019. Role of microRNA in CB1 antagonist–mediated regulation of adipose tissue macrophage polarization and chemotaxis during diet-induced obesity. J Biol Chem 294, 7669–7681. https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.005094

Melzner, I., Scott, V., Dorsch, K., Fischer, P., Wabitsch, M., Brüderlein, S., Hasel, C., Möller, P., 2002. Leptin gene expression in human preadipocytes is switched on by maturation-induced demethylation of distinct CpGs in its proximal promoter. J Biol Chem 277, 45420–45427. https://doi.org/10.1074/jbc.M208511200

Merrick, D., Sakers, A., Irgebay, Z., Okada, C., Calvert, C., Morley, M.P., Percec, I., Seale, P., 2019. Identification of a mesenchymal progenitor cell hierarchy in adipose tissue. Science 364, eaav2501. https://doi.org/10.1126/science.aav2501

Meyer, J., Salamon, A., Mispagel, S., Kamp, G., Peters, K., 2018. Energy metabolic capacities of human adipose-derived mesenchymal stromal cells in vitro and their adaptations in osteogenic and adipogenic differentiation. Exp Cell Res 370, 632–642. https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.07.028

Miao, Y., Qin, H., Zhong, Y., Huang, K., Rao, C., 2021. Novel adipokine asprosin modulates browning and adipogenesis in white adipose tissue.

Mikkelsen, T.S., Ku, M., Jaffe, D.B., Issac, B., Lieberman, E., Giannoukos, G., Alvarez, P., Brockman, W., Kim, T.-K., Koche, R.P., Lee, W., Mendenhall, E., O'Donovan, A., Presser, A., Russ, C., Xie, X., Meissner, A., Wernig, M., Jaenisch, R., Nusbaum, C., Lander, E.S., Bernstein, B.E., 2007. Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells. Nature 448, 553–560. https://doi.org/10.1038/nature06008

Mikkelsen, T.S., Xu, Z., Zhang, X., Wang, L., Gimble, J.M., Lander, E.S., Rosen, E.D., 2010. Comparative epigenomic analysis of murine and human adipogenesis. Cell 143, 156–169. https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.09.006

Mirabelli, M., Misiti, R., Sicilia, L., Brunetti, F.S., Chiefari, E., Brunetti, A., Foti, D.P., 2024. Hypoxia in Human Obesity: New Insights from Inflammation towards Insulin Resistance—A Narrative Review. International Journal of Molecular Sciences 25, 9802. https://doi.org/10.3390/ijms25189802

Miranda, K., Mehrpouya-Bahrami, P., Nagarkatti, P.S., Nagarkatti, M., 2019. Cannabinoid Receptor 1 Blockade Attenuates Obesity and Adipose Tissue Type 1 Inflammation Through miR-30e-5p Regulation of Delta-Like-4 in Macrophages and Consequently Downregulation of Th1 Cells. Front. Immunol. 10. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01049

Miranville, A., Herling, A.W., Biemer-Daub, G., Voss, M.D., 2010. Reversal of inflammation-induced impairment of glucose uptake in adipocytes by direct effect of CB1 antagonism on adipose tissue macrophages. Obesity (Silver Spring) 18, 2247–2254. https://doi.org/10.1038/oby.2010.81

Mitchell, J.B., McIntosh, K., Zvonic, S., Garrett, S., Floyd, Z.E., Kloster, A., Di Halvorsen, Y., Storms, R.W., Goh, B., Kilroy, G., Wu, X., Gimble, J.M., 2006. Immunophenotype of Human Adipose-Derived Cells: Temporal Changes in Stromal-Associated and Stem Cell–Associated Markers. Stem Cells 24, 376–385. https://doi.org/10.1634/stemcells.2005-0234

Montague, C.T., Farooqi, I.S., Whitehead, J.P., Soos, M.A., Rau, H., Wareham, N.J., Sewter, C.P., Digby, J.E., Mohammed, S.N., Hurst, J.A., Cheetham#, C.H., Earley#, A.R., Barnett, A.H., Prins, J.B., O'Rahilly, S., 1997. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. Nature 387, 903–908. https://doi.org/10.1038/43185

Moreira, F.A., Crippa, J.A.S., 2009. The psychiatric side-effects of rimonabant. Braz J Psychiatry 31, 145–153. https://doi.org/10.1590/s1516-44462009000200012

Mori, T., Sakaue, H., Iguchi, H., Gomi, H., Okada, Y., Takashima, Y., Nakamura, K., Nakamura, T., Yamauchi, T., Kubota, N., Kadowaki, T., Matsuki, Y., Ogawa, W., Hiramatsu, R., Kasuga, M., 2005. Role of Krüppel-like factor 15 (KLF15) in transcriptional regulation of adipogenesis. J Biol Chem 280, 12867–12875. https://doi.org/10.1074/jbc.M410515200

Morrison, M.F., Ceesay, P., Gantz, I., Kaufman, K.D., Lines, C.R., 2010. Randomized, controlled, double-blind trial of taranabant for smoking cessation. Psychopharmacology (Berl) 209, 245–253. https://doi.org/10.1007/s00213-010-1790-2

Morrison, S.J., Spradling, A.C., 2008. Stem cells and niches: mechanisms that promote stem cell maintenance throughout life. Cell 132, 598–611. https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.038

Muhindo, E., 2026. | International Academic Association Journal. URL https://www.iaajournals.org/extracellular-vesicles-from-obese-adipose-tissue-hidden-messengers-in-the-onset-of-type-2-diabetes/ (accessed 5.5.26).

Munro, S., Thomas, K.L., Abu-Shaar, M., 1993. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. Nature 365, 61–65. https://doi.org/10.1038/365061a0

Muralidhar Reddy, P., Maurya, N., Velmurugan, B.K., 2019. Medicinal Use of Synthetic Cannabinoids—a Mini Review. Curr Pharmacol Rep 5, 1–13. https://doi.org/10.1007/s40495-018-0165-y

Murataeva, N., Straiker, A., Mackie, K., 2014. Parsing the players: 2-arachidonoylglycerol synthesis and degradation in the CNS. Br J Pharmacol 171, 1379–1391. https://doi.org/10.1111/bph.12411

Murphy, J.M., Horton, N.J., Burke, J.D., Monson, R.R., Laird, N.M., Lesage, A., Sobol, A.M., 2009. Obesity and weight gain in relation to depression: findings from the Stirling County Study. Int J Obes 33, 335–341. https://doi.org/10.1038/ijo.2008.273

Muruganandan, S., Parlee, S.D., Rourke, J.L., Ernst, M.C., Goralski, K.B., Sinal, C.J., 2011. Chemerin, a Novel Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ (PPARγ) Target Gene That Promotes Mesenchymal Stem Cell Adipogenesis. Journal of Biological Chemistry 286, 23982–23995. https://doi.org/10.1074/jbc.M111.220491

Myers, M.N., Abou-Rjeileh, U., Chirivi, M., Parales-Girón, J., Lock, A.L., Tam, J., Zachut, M., Contreras, G.A., 2023. Cannabinoid-1 receptor activation modulates lipid mobilization and adipogenesis in the adipose tissue of dairy cows. Journal of Dairy Science 106, 3650–3661. https://doi.org/10.3168/jds.2022-22556

Naaz, A., Holsberger, D.R., Iwamoto, G.A., Nelson, A., Kiyokawa, H., Cooke, P.S., 2004. Loss of cyclin-dependent kinase inhibitors produces adipocyte hyperplasia and obesity. FASEB J 18, 1925–1927. https://doi.org/10.1096/fj.04-2631fje

Nakata, M., Yada, T., 2008. Cannabinoids inhibit insulin secretion and cytosolic Ca2+ oscillation in islet beta-cells via CB1 receptors. Regul Pept 145, 49–53. https://doi.org/10.1016/j.regpep.2007.08.009

Narasimhan, A., Flores, R.R., Camell, C.D., Bernlohr, D.A., Robbins, P.D., Niedernhofer, L.J., 2022. Cellular Senescence in Obesity and Associated Complications: a New Therapeutic Target. Curr Diab Rep 22, 537–548. https://doi.org/10.1007/s11892-022-01493-w

Neeland, I.J., Ayers, C.R., Rohatgi, A.K., Turer, A.T., Berry, J.D., Das, S.R., Vega, G.L., Khera, A., McGuire, D.K., Grundy, S.M., De Lemos, J.A., 2013. Associations of visceral and abdominal subcutaneous adipose tissue with markers of cardiac and metabolic risk in obese adults. Obesity 21. https://doi.org/10.1002/oby.20135

Nguyen, P.T., Schmid, C.L., Raehal, K.M., Selley, D.E., Bohn, L.M., Sim-Selley, L.J., 2012. β-arrestin2 regulates cannabinoid CB1 receptor signaling and adaptation in a central nervous system region-dependent manner. Biol Psychiatry 71, 714–724. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2011.11.027

Nguyen, T., Thomas, B.F., Zhang, Y., 2019. Overcoming the psychiatric side effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonists: current approaches for therapeutics development. Curr Top Med Chem 19, 1418–1435. https://doi.org/10.2174/1568026619666190708164841

Nielsen, F.M., Riis, S.E., Andersen, J.I., Lesage, R., Fink, T., Pennisi, C.P., Zachar, V., 2016. Discrete adipose-derived stem cell subpopulations may display differential functionality after in vitro expansion

despite convergence to a common phenotype distribution. Stem Cell Res Ther 7, 177. https://doi.org/10.1186/s13287-016-0435-8

Nissen, S.E., Nicholls, S.J., Wolski, K., Rodés-Cabau, J., Cannon, C.P., Deanfield, J.E., Després, J.-P., Kastelein, J.J.P., Steinhubl, S.R., Kapadia, S., Yasin, M., Ruzyllo, W., Gaudin, C., Job, B., Hu, B., Bhatt, D.L., Lincoff, A.M., Tuzcu, E.M., STRADIVARIUS Investigators, 2008. Effect of rimonabant on progression of atherosclerosis in patients with abdominal obesity and coronary artery disease: the STRADIVARIUS randomized controlled trial. JAMA 299, 1547–1560. https://doi.org/10.1001/jama.299.13.1547

Nogueiras, R., Rohner-Jeanrenaud, F., Woods, S.C., Tschöp, M.H., 2008. The endocannabinoid system and the control of glucose homeostasis. J Neuroendocrinol 20 Suppl 1, 147–151. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01692.x

Obregon, M.-J., 2008. Thyroid hormone and adipocyte differentiation. Thyroid 18, 185–195. https://doi.org/10.1089/thy.2007.0254

O'Hare, J.D., Zielinski, E., Cheng, B., Scherer, T., Buettner, C., 2011. Central endocannabinoid signaling regulates hepatic glucose production and systemic lipolysis. Diabetes 60, 1055–1062. https://doi.org/10.2337/db10-0962

Ohsaki, Y., Cheng, J., Suzuki, M., Shinohara, Y., Fujita, A., Fujimoto, T., 2009. Biogenesis of cytoplasmic lipid droplets: From the lipid ester globule in the membrane to the visible structure. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids 1791, 399–407. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2008.10.002

Oishi, Y., Manabe, I., Tobe, K., Tsushima, K., Shindo, T., Fujiu, K., Nishimura, G., Maemura, K., Yamauchi, T., Kubota, N., Suzuki, R., Kitamura, T., Akira, S., Kadowaki, T., Nagai, R., 2005. Krüppel-like transcription factor KLF5 is a key regulator of adipocyte differentiation. Cell Metab 1, 27–39. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2004.11.005

Oka, S., Nakajima, K., Yamashita, A., Kishimoto, S., Sugiura, T., 2007. Identification of GPR55 as a lysophosphatidylinositol receptor. Biochem Biophys Res Commun 362, 928–934. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.08.078

Okamoto, Y., Morishita, J., Tsuboi, K., Tonai, T., Ueda, N., 2004. Molecular Characterization of a Phospholipase D Generating Anandamide and Its Congeners. Journal of Biological Chemistry 279, 5298–5305. https://doi.org/10.1074/jbc.M306642200

Ong, W.K., Tan, C.S., Chan, K.L., Goesantoso, G.G., Chan, X.H.D., Chan, E., Yin, J., Yeo, C.R., Khoo, C.M., So, J.B.Y., Shabbir, A., Toh, S.-A., Han, W., Sugii, S., 2014. Identification of Specific Cell-Surface Markers of Adipose-Derived Stem Cells from Subcutaneous and Visceral Fat Depots. Stem Cell Reports 2, 171–179. https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2014.01.002

Osei-Hyiaman, D., DePetrillo, M., Pacher, P., Liu, J., Radaeva, S., Bátkai, S., Harvey-White, J., Mackie, K., Offertáler, L., Wang, L., Kunos, G., 2005. Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. J Clin Invest 115, 1298–1305. https://doi.org/10.1172/JCI23057

Osei-Hyiaman, D., Liu, J., Zhou, L., Godlewski, G., Harvey-White, J., Jeong, W., Bátkai, S., Marsicano, G., Lutz, B., Buettner, C., Kunos, G., 2008. Hepatic CB1 receptor is required for development of diet-induced steatosis, dyslipidemia, and insulin and leptin resistance in mice. J Clin Invest 118, 3160–3169. https://doi.org/10.1172/JCI34827

O'Sullivan, S.E., 2016. An update on PPAR activation by cannabinoids. Br J Pharmacol 173, 1899–1910. https://doi.org/10.1111/bph.13497

O'Sullivan, S.E., Kendall, D.A., 2010. Cannabinoid activation of peroxisome proliferator-activated receptors: Potential for modulation of inflammatory disease. Immunobiology, Special Issue: Cannabinoids and Immunology 215, 611–616. https://doi.org/10.1016/j.imbio.2009.09.007

Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Maeda, K., Kuriyama, H., Okamoto, Y., Hotta, K., Nishida, M., Takahashi, M., Nakamura, T., Yamashita, S., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., 1999. Novel Modulator for Endothelial Adhesion Molecules: Adipocyte-Derived Plasma Protein Adiponectin. Circulation 100, 2473–2476. https://doi.org/10.1161/01.CIR.100.25.2473

Pachón-Peña, G., Yu, G., Tucker, A., Wu, X., Vendrell, J., Bunnell, B.A., Gimble, J.M., 2011. Stromal stem cells from adipose tissue and bone marrow of age-matched female donors display distinct immunophenotypic profiles. J Cell Physiol 226, 843–851. https://doi.org/10.1002/jcp.22408

Pagano, C., Pilon, C., Calcagno, A., Urbanet, R., Rossato, M., Milan, G., Bianchi, K., Rizzuto, R., Bernante, P., Federspil, G., Vettor, R., 2007. The Endogenous Cannabinoid System Stimulates Glucose Uptake in Human Fat Cells via Phosphatidylinositol 3-Kinase and Calcium-Dependent Mechanisms. J Clin Endocrinol Metab 92, 4810–4819. https://doi.org/10.1210/jc.2007-0768

Pagano, C., Rossato, M., Vettor, R., 2008. Endocannabinoids, Adipose Tissue and Lipid Metabolism. J Neuroendocrinology 20, 124–129. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01690.x

Pagano Zottola, A.C., Severi, I., Cannich, A., Ciofi, P., Cota, D., Marsicano, G., Giordano, A., Bellocchio, L., 2022. Expression of Functional Cannabinoid Type-1 (CB1) Receptor in Mitochondria of White Adipocytes. Cells 11, 2582. https://doi.org/10.3390/cells11162582

Pain, S., 2015. A potted history. Nature 525, S10–S11. https://doi.org/10.1038/525S10a

Pakhare, M., Anjankar, A., 2024. Critical Correlation Between Obesity and Cardiovascular Diseases and Recent Advancements in Obesity. Cureus. https://doi.org/10.7759/cureus.51681

Pant, R., Firmal, P., Shah, V.K., Alam, A., Chattopadhyay, S., 2021. Epigenetic Regulation of Adipogenesis in Development of Metabolic Syndrome. Front Cell Dev Biol 8, 619888. https://doi.org/10.3389/fcell.2020.619888

Pasquale, E.D., Chahinian, H., Sanchez, P., Fantini, J., 2009. The Insertion and Transport of Anandamide in Synthetic Lipid Membranes Are Both Cholesterol-Dependent. PLOS ONE 4, e4989. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004989

Pataky, M.W., Young, W.F., Nair, K.S., 2021. Hormonal and Metabolic Changes of Aging and the Influence of Lifestyle Modifications. Mayo Clinic Proceedings 96, 788–814. https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.07.033

Pataky, Z., Gasteyger, C., Ziegler, O., Rissanen, A., Hanotin, C., Golay, A., 2013. Efficacy of rimonabant in obese patients with binge eating disorder. Exp Clin Endocrinol Diabetes 121, 20–26. https://doi.org/10.1055/s-0032-1329957

Pérez, L.M., Bernal, A., de Lucas, B., San Martin, N., Mastrangelo, A., García, A., Barbas, C., Gálvez, B.G., 2015. Altered Metabolic and Stemness Capacity of Adipose Tissue-Derived Stem Cells from Obese Mouse and Human. PLoS One 10, e0123397. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123397

Pérez, L.M., Bernal, A., San Martín, N., Lorenzo, M., Fernández-Veledo, S., Gálvez, B.G., 2013. Metabolic Rescue of Obese Adipose-Derived Stem Cells by Lin28/Let7 Pathway. Diabetes 62, 2368–2379. https://doi.org/10.2337/db12-1220

Pertwee, R.G., Howlett, A.C., Abood, M.E., Alexander, S.P.H., Di Marzo, V., Elphick, M.R., Greasley, P.J., Hansen, H.S., Kunos, G., Mackie, K., Mechoulam, R., Ross, R.A., 2010. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid Receptors and Their Ligands: Beyond CB1 and CB2. Pharmacol Rev 62, 588–631. https://doi.org/10.1124/pr.110.003004

Petersen, M.C., Shulman, G.I., 2018. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. Physiological Reviews 98, 2133–2223. https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017

Petruschke, T., Hauner, H., 1993. Tumor necrosis factor-alpha prevents the differentiation of human adipocyte precursor cells and causes delipidation of newly developed fat cells. J Clin Endocrinol Metab 76, 742–747. https://doi.org/10.1210/jcem.76.3.8445033

Pham, D.-V., Nguyen, T.-K., Park, P.-H., 2023. Adipokines at the crossroads of obesity and mesenchymal stem cell therapy. Exp Mol Med 55, 313–324. https://doi.org/10.1038/s12276-023-00940-2

Piazza, P.V., Cota, D., Marsicano, G., 2017. The CB1 Receptor as the Cornerstone of Exostasis. Neuron 93, 1252–1274. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.02.002

Picó, C., Palou, M., Pomar, C.A., Rodríguez, A.M., Palou, A., 2022. Leptin as a key regulator of the adipose organ. Rev Endocr Metab Disord 23, 13–30. https://doi.org/10.1007/s11154-021-09687-5

Piomelli, D., 2003. The molecular logic of endocannabinoid signalling. Nature Reviews Neuroscience. https://doi.org/10.1038/nrn1247

Piscura, M.K., Henderson-Redmond, A.N., Barnes, R.C., Mitra, S., Guindon, J., Morgan, D.J., 2023. Mechanisms of Cannabinoid Tolerance. Biochem Pharmacol 214, 115665. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115665

Pi-Sunyer, F.X., Aronne, L.J., Heshmati, H.M., Devin, J., Rosenstock, J., RIO-North America Study Group, 2006. Effect of rimonabant, a cannabinoid-1 receptor blocker, on weight and cardiometabolic risk factors in overweight or obese patients: RIO-North America: a randomized controlled trial. JAMA 295, 761–775. https://doi.org/10.1001/jama.295.7.761

Pointeau, O., Ba, A.I., Geissler, A., Barbosa, R., Basu, A., Muhammad, A., Nivot, M., Loriot, M., Leemput, J., Passilly-Degrace, P., Causse, S., Demizieux, L., François, H., Vergès, B., Duan, J., Gaucher, G., Harvey, M., Degrace, P., Crater, G., Cinar, R., Jourdan, T., 2025a. Blockade of cannabinoid CB1 receptors potentiates the anti-fibrotic effects mediated by SGLT2 inhibition in a mouse model of diabetic nephropathy. Br J Pharmacol 182, 5355–5377. https://doi.org/10.1111/bph.70118

Pointeau, O., Barbosa, R., Degrace, P., Vergès, B., Jourdan, T., 2025b. Les antagonistes des récepteurs aux cannabinoïdes de type 1 (CB1) à action périphérique ont-ils un avenir dans le traitement de l'obésité et du diabète de type 2 ? Médecine des Maladies Métaboliques 19, 100–109. https://doi.org/10.1016/j.mmm.2024.11.001

Poitout, V., Robertson, R.P., 2008. Glucolipotoxicity: Fuel Excess and β-Cell Dysfunction. Endocr Rev 29, 351–366. https://doi.org/10.1210/er.2007-0023

Pokrywczynska, M., Maj, M., Kloskowski, T., Buhl, M., Balcerczyk, D., Jundziłł, A., Szeliski, K., Rasmus, M., Drewa, T., 2020. Molecular Aspects of Adipose-Derived Stromal Cell Senescence in a Long-Term

Culture: A Potential Role of Inflammatory Pathways. Cell Transplant 29, 0963689720917341. https://doi.org/10.1177/0963689720917341

Prateeksha, P., Sharma, V.K., Singh, S.M., Sharma, M., Diwan, D., Hesham, A.E.-L., Guleria, S., Nguyen, Q.D., Gupta, V.K., Singh, B.N., 2023. Tetrahydrocannabinols: potential cannabimimetic agents for cancer therapy. Cancer Metastasis Rev 42, 823–845. https://doi.org/10.1007/s10555-023-10078-2

Pressly, J.D., Soni, H., Jiang, S., Wei, J., Liu, R., Moore, B.M., Adebiyi, A., Park, F., 2019. Activation of the cannabinoid receptor 2 increases renal perfusion. Physiol Genomics 51, 90–96. https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00001.2019

Puigserver, P., Adelmant, G., Wu, Z., Fan, M., Xu, J., O'Malley, B., Spiegelman, B.M., 1999. Activation of PPARgamma coactivator-1 through transcription factor docking. Science 286, 1368–1371. https://doi.org/10.1126/science.286.5443.1368

Pyrina, I., Chung, K.-J., Michailidou, Z., Koutsilieris, M., Chavakis, T., Chatzigeorgiou, A., 2020. Fate of Adipose Progenitor Cells in Obesity-Related Chronic Inflammation. Front Cell Dev Biol 8, 644. https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00644

Qi, Y., Takahashi, N., Hileman, S.M., Patel, H.R., Berg, A.H., Pajvani, U.B., Scherer, P.E., Ahima, R.S., 2004. Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. Nat Med 10, 524–529. https://doi.org/10.1038/nm1029

Quach, J.M., Walker, E.C., Allan, E., Solano, M., Yokoyama, A., Kato, S., Sims, N.A., Gillespie, M.T., Martin, T.J., 2011. Zinc Finger Protein 467 Is a Novel Regulator of Osteoblast and Adipocyte Commitment. Journal of Biological Chemistry 286, 4186–4198. https://doi.org/10.1074/jbc.M110.178251

Rahimi, A.M., Cai, M., Hoyer-Fender, S., 2022. Heterogeneity of the NIH3T3 Fibroblast Cell Line. Cells 11, 2677. https://doi.org/10.3390/cells11172677

Rakotoarivelo, V., Sihag, J., Flamand, N., 2021. Role of the Endocannabinoid System in the Adipose Tissue with Focus on Energy Metabolism. Cells 10, 1279. https://doi.org/10.3390/cells10061279

Ramakrishnan, V.M., Boyd, N.L., 2018. The Adipose Stromal Vascular Fraction as a Complex Cellular Source for Tissue Engineering Applications. Tissue Eng Part B Rev 24, 289–299. https://doi.org/10.1089/ten.teb.2017.0061

Ramirez, A.K., Dankel, S.N., Rastegarpanah, B., Cai, W., Xue, R., Crovella, M., Tseng, Y.-H., Kahn, C.R., Kasif, S., 2020. Single-cell transcriptional networks in differentiating preadipocytes suggest drivers

associated with tissue heterogeneity. Nat Commun 11, 2117. https://doi.org/10.1038/s41467-020-16019-9

Ravinet Trillou, C., Delgorge, C., Menet, C., Arnone, M., Soubrié, P., 2004. CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. Int J Obes Relat Metab Disord 28, 640–648. https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802583

Reggio, P.H., 2010. Endocannabinoid Binding to the Cannabinoid Receptors: What Is Known and What Remains Unknown. Curr Med Chem 17, 1468–1486. https://doi.org/10.2174/092986710790980005

Renner, S., Blutke, A., Dobenecker, B., Dhom, G., Müller, T.D., Finan, B., Clemmensen, C., Bernau, M., Novak, I., Rathkolb, B., Senf, S., Zöls, S., Roth, M., Götz, A., Hofmann, S.M., Hrabě de Angelis, M., Wanke, R., Kienzle, E., Scholz, A.M., DiMarchi, R., Ritzmann, M., Tschöp, M.H., Wolf, E., 2018. Metabolic syndrome and extensive adipose tissue inflammation in morbidly obese Göttingen minipigs. Mol Metab 16, 180–190. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.06.015

Rinaldi-Carmona, M., Barth, F., Héaulme, M., Shire, D., Calandra, B., Congy, C., Martinez, S., Maruani, J., Néliat, G., Caput, D., 1994. SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. FEBS Lett 350, 240–244. https://doi.org/10.1016/0014-5793(94)00773-x

Roato, I., Alotto, D., Belisario, D.C., Casarin, S., Fumagalli, M., Cambieri, I., Piana, R., Stella, M., Ferracini, R., Castagnoli, C., n.d. Adipose Derived-Mesenchymal Stem Cells Viability and Differentiating Features for Orthopaedic Reparative Applications: Banking of Adipose Tissue. 2016. https://doi.org/10.1155/2016/4968724

Robinson, J.D., Cinciripini, P.M., Karam-Hage, M., Aubin, H.-J., Dale, L.C., Niaura, R., Anthenelli, R.M., STRATUS Group, 2018. Pooled analysis of three randomized, double-blind, placebo controlled trials with rimonabant for smoking cessation. Addict Biol 23, 291–303. https://doi.org/10.1111/adb.12508

Rocha, S., Proença, C., Carvalho, F., Fernandes, E., 2026. Adipose Tissue Plasticity and Adipogenesis: From Cellular Mechanisms to Therapeutic Targets in Obesity. Curr Obes Rep 15, 52. https://doi.org/10.1007/s13679-026-00733-4

Roche, R., Hoareau, L., Bes-Houtmann, S., Gonthier, M.-P., Laborde, C., Baron, J.-F., Haffaf, Y., Cesari, M., Festy, F., 2006. Presence of the cannabinoid receptors, CB1 and CB2, in human omental and subcutaneous adipocytes. Histochem Cell Biol 126, 177–187. https://doi.org/10.1007/s00418-005-0127-4

Rodbell, M., 1964. Metabolism of Isolated Fat Cells. Journal of Biological Chemistry 239, 375–380. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)51687-2

Rodeheffer, M.S., Birsoy, K., Friedman, J.M., 2008. Identification of white adipocyte progenitor cells in vivo. Cell 135, 240–249. https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.09.036

Rodríguez de Fonseca, F., Navarro, M., Gómez, R., Escuredo, L., Nava, F., Fu, J., Murillo-Rodríguez, E., Giuffrida, A., LoVerme, J., Gaetani, S., Kathuria, S., Gall, C., Piomelli, D., 2001. An anorexic lipid mediator regulated by feeding. Nature 414, 209–212. https://doi.org/10.1038/35102582

Roger, C., Buch, C., Muller, T., Leemput, J., Demizieux, L., Passilly-Degrace, P., Cinar, R., Iyer, M.R., Kunos, G., Vergès, B., Degrace, P., Jourdan, T., 2020. Simultaneous Inhibition of Peripheral CB1R and iNOS Mitigates Obesity-Related Dyslipidemia Through Distinct Mechanisms. Diabetes 69, 2120–2132. https://doi.org/10.2337/db20-0078

Rohbeck, E., Eckel, J., Romacho, T., 2021. Cannabinoid Receptors in Metabolic Regulation and Diabetes. Physiology (Bethesda) 36, 102–113. https://doi.org/10.1152/physiol.00029.2020

Romere, C., Duerrschmid, C., Bournat, J., Constable, P., Jain, M., Xia, F., Saha, P.K., Del Solar, M., Zhu, B., York, B., Sarkar, P., Rendon, D.A., Gaber, M.W., LeMaire, S.A., Coselli, J.S., Milewicz, D.M., Sutton, V.R., Butte, N.F., Moore, D.D., Chopra, A.R., 2016. Asprosin, a Fasting-Induced Glucogenic Protein Hormone. Cell 165, 566–579. https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.02.063

Rosen, E.D., MacDougald, O.A., 2006. Adipocyte differentiation from the inside out. Nat Rev Mol Cell Biol 7, 885–896. https://doi.org/10.1038/nrm2066

Rosen, E.D., Sarraf, P., Troy, A.E., Bradwin, G., Moore, K., Milstone, D.S., Spiegelman, B.M., Mortensen, R.M., 1999. PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. Mol Cell 4, 611–617. https://doi.org/10.1016/s1097-2765(00)80211-7

Rosen, E.D., Spiegelman, B.M., 2014. What we talk about when we talk about fat. Cell 156, 20–44. https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.012

Rosenstock, J., Hollander, P., Chevalier, S., Iranmanesh, A., SERENADE Study Group, 2008. SERENADE: the Study Evaluating Rimonabant Efficacy in Drug-naive Diabetic Patients: effects of monotherapy with rimonabant, the first selective CB1 receptor antagonist, on glycemic control, body weight, and lipid profile in drug-naive type 2 diabetes. Diabetes Care 31, 2169–2176. https://doi.org/10.2337/dc08-0386

Rosenwald, M., Wolfrum, C., 2014. The origin and definition of brite versus white and classical brown adipocytes. Adipocyte 3, 4–9. https://doi.org/10.4161/adip.26232

Ross, R.A., 2003. Anandamide and vanilloid TRPV1 receptors. Br J Pharmacol 140, 790–801. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705467

Ross, S.E., Hemati, N., Longo, K.A., Bennett, C.N., Lucas, P.C., Erickson, R.L., MacDougald, O.A., 2000. Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling. Science 289, 950–953. https://doi.org/10.1126/science.289.5481.950

Rouzer, C.A., Marnett, L.J., 2011. Endocannabinoid oxygenation by cyclooxygenases, lipoxygenases, and cytochromes P450: cross-talk between the eicosanoid and endocannabinoid signaling pathways. Chem Rev 111, 5899–5921. https://doi.org/10.1021/cr2002799

Rubino, F., Cummings, D.E., Eckel, R.H., Cohen, R.V., Wilding, J.P.H., Brown, W.A., Stanford, F.C., Batterham, R.L., Farooqi, I.S., Farpour-Lambert, N.J., Le Roux, C.W., Sattar, N., Baur, L.A., Morrison, K.M., Misra, A., Kadowaki, T., Tham, K.W., Sumithran, P., Garvey, W.T., Kirwan, J.P., Fernández-Real, J.-M., Corkey, B.E., Toplak, H., Kokkinos, A., Kushner, R.F., Branca, F., Valabhji, J., Blüher, M., Bornstein, S.R., Grill, H.J., Ravussin, E., Gregg, E., Al Busaidi, N.B., Alfaris, N.F., Al Ozairi, E., Carlsson, L.M.S., Clément, K., Després, J.-P., Dixon, J.B., Galea, G., Kaplan, L.M., Laferrère, B., Laville, M., Lim, S., Luna Fuentes, J.R., Mooney, V.M., Nadglowski, J., Urudinachi, A., Olszanecka-Glinianowicz, M., Pan, A., Pattou, F., Schauer, P.R., Tschöp, M.H., Van Der Merwe, M.T., Vettor, R., Mingrone, G., 2025. Definition and diagnostic criteria of clinical obesity. The Lancet Diabetes & Endocrinology 13, 221–262. https://doi.org/10.1016/S2213-8587(24)00316-4

Ruhl, T., Karthaus, N., Kim, B.-S., Beier, J.P., 2020. The endocannabinoid receptors CB1 and CB2 affect the regenerative potential of adipose tissue MSCs. Exp Cell Res 389, 111881. https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2020.111881

Ruhl, T., Schneider, P., Kim, B., Beier, J.P., 2021. Endocannabinoids increase human adipose stem cell differentiation and growth factor secretion in vitro. J Tissue Eng Regen Med 15, 88–98. https://doi.org/10.1002/term.3152

Ruiz de Azua, I., Mancini, G., Srivastava, R.K., Rey, A.A., Cardinal, P., Tedesco, L., Zingaretti, C.M., Sassmann, A., Quarta, C., Schwitter, C., Conrad, A., Wettschureck, N., Vemuri, V.K., Makriyannis, A., Hartwig, J., Mendez-Lago, M., Bindila, L., Monory, K., Giordano, A., Cinti, S., Marsicano, G., Offermanns, S., Nisoli, E., Pagotto, U., Cota, D., Lutz, B., 2017. Adipocyte cannabinoid receptor CB1 regulates energy homeostasis and alternatively activated macrophages. J Clin Invest 127, 4148–4162. https://doi.org/10.1172/JCI83626

Ruiz-Ojeda, F.J., Rupérez, A.I., Gomez-Llorente, C., Gil, A., Aguilera, C.M., 2016. Cell Models and Their Application for Studying Adipogenic Differentiation in Relation to Obesity: A Review. Int J Mol Sci 17, 1040. https://doi.org/10.3390/ijms17071040

Rutkowski, J.M., Stern, J.H., Scherer, P.E., 2015. The cell biology of fat expansion. Journal of Cell Biology 208, 501–512. https://doi.org/10.1083/jcb.201409063

Sakers, A., De Siqueira, M.K., Seale, P., Villanueva, C.J., 2022. Adipose-tissue plasticity in health and disease. Cell 185, 419–446. https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.12.016

Sandoval-Bórquez, A., Carrión, P., Hernández, M.P., Pérez, J.A., Tapia-Castillo, A., Vecchiola, A., Fardella, C.E., Carvajal, C.A., 2024. Adipose Tissue Dysfunction and the Role of Adipocyte-Derived Extracellular Vesicles in Obesity and Metabolic Syndrome. Journal of the Endocrine Society 8, bvae126. https://doi.org/10.1210/jendso/bvae126

Sano, S., Izumi, Y., Yamaguchi, T., Yamazaki, T., Tanaka, M., Shiota, M., Osada-Oka, M., Nakamura, Y., Wei, M., Wanibuchi, H., Iwao, H., Yoshiyama, M., 2014. Lipid synthesis is promoted by hypoxic adipocyte-derived exosomes in 3T3-L1 cells. Biochemical and Biophysical Research Communications 445, 327–333. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.01.183

Sanson, B., Wang, T., Sun, J., Wang, L., Kaczocha, M., Ojima, I., Deutsch, D., Li, H., 2014. Crystallographic study of FABP5 as an intracellular endocannabinoid transporter. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 70, 290–298. https://doi.org/10.1107/S1399004713026795

Sarzani, R., Bordicchia, M., Marcucci, P., Bedetta, S., Et., A., 2009. Altered pattern of cannabinoid type 1 receptor expression in adipose tissue of dysmetabolic and overweight patients. Metabolism. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2008.10.009

Sato, K., Umeno, H., Nakashima, T., 2005. Histological investigation of liposuctioned fat for injection laryngoplasty. American Journal of Otolaryngology 26, 219–225. https://doi.org/10.1016/j.amjoto.2004.11.019

Savinainen, J.R., Saario, S.M., Laitinen, J.T., 2012. The serine hydrolases MAGL, ABHD6 and ABHD12 as guardians of 2-arachidonoylglycerol signalling through cannabinoid receptors. Acta Physiologica 204, 267–276. https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2011.02280.x

Schafer, M.J., White, T.A., Evans, G., Tonne, J.M., Verzosa, G.C., Stout, M.B., Mazula, D.L., Palmer, A.K., Baker, D.J., Jensen, M.D., Torbenson, M.S., Miller, J.D., Ikeda, Y., Tchkonia, T., van Deursen, J.M., Kirkland, J.L., LeBrasseur, N.K., 2016. Exercise Prevents Diet-Induced Cellular Senescence in Adipose Tissue. Diabetes 65, 1606–1615. https://doi.org/10.2337/db15-0291

Scheen, A.J., 2008. CB1 receptor blockade and its impact on cardiometabolic risk factors: overview of the RIO programme with rimonabant. J Neuroendocrinol 20 Suppl 1, 139–146. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01681.x

Scheen, A.J., Paquot, N., 2009. Use of cannabinoid CB1 receptor antagonists for the treatment of metabolic disorders. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 23, 103–116. https://doi.org/10.1016/j.beem.2008.09.001

Schofield, R., 1978. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. Blood Cells 4, 7–25.

Scholzen, T., Gerdes, J., 2000. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. J Cell Physiol 182, 311–322. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4652(200003)182:3%3C311::AID-JCP1%3E3.0.CO;2-9

Schwarz, J.M., Neese, R.A., Turner, S., Dare, D., Hellerstein, M.K., 1995. Short-term alterations in carbohydrate energy intake in humans. Striking effects on hepatic glucose production, de novo lipogenesis, lipolysis, and whole-body fuel selection. J Clin Invest 96, 2735–2743. https://doi.org/10.1172/JCI118342

Seale, P., Conroe, H.M., Estall, J., Kajimura, S., Frontini, A., Ishibashi, J., Cohen, P., Cinti, S., Spiegelman, B.M., 2011. Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. J. Clin. Invest. 121, 96–105. https://doi.org/10.1172/JCI44271

Sengenes, C., Moro, C., Galitzky, J., Berlan, M., Lafontan, M., 2005. Les peptides natriurétiques: Une nouvelle voie de régulation de la lipolyse chez l'homme. Med Sci (Paris) 21, 61–65. https://doi.org/10.1051/medsci/200521161

Seo, J.B., Moon, H.M., Kim, W.S., Lee, Y.S., Jeong, H.W., Yoo, E.J., Ham, J., Kang, H., Park, M.-G., Steffensen, K.R., Stulnig, T.M., Gustafsson, A., Park, S.D., Kim, J.B., 2004. Activated Liver X Receptors Stimulate Adipocyte Differentiation through Induction of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Expression.

Shanaki, M., Omidifar, A., Shabani, P., Toolabi, K., 2022. Association between HDACs and pro-inflammatory cytokine gene expressions in obesity. Arch Physiol Biochem 128, 880–886. https://doi.org/10.1080/13813455.2020.1734843

Shao, Z., Yin, J., Chapman, K., Grzemska, M., Clark, L., Wang, J., Rosenbaum, D.M., 2016. High-resolution crystal structure of the human CB1 cannabinoid receptor. Nature 540, 602–606. https://doi.org/10.1038/nature20613

Sharma, S., Berger, H., Meyer, T., Teruel, Mary.N., 2025. Inactivation of CDK4/6, CDK2, and ERK in G1-phase triggers differentiation commitment. Commun Biol 8, 1727. https://doi.org/10.1038/s42003-025-09038-z

Shi, Y., Massagué, J., 2003. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. Cell 113, 685–700. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00432-x

Shimomura, I., Bashmakov, Y., Ikemoto, S., Horton, J.D., Brown, M.S., Goldstein, J.L., 1999. Insulin selectively increases SREBP-1c mRNA in the livers of rats with streptozotocin-induced diabetes. Proc Natl Acad Sci U S A 96, 13656–13661. https://doi.org/10.1073/pnas.96.24.13656

Shrestha, N., Cuffe, J.S.M., Hutchinson, D.S., Headrick, J.P., Perkins, A.V., McAinch, A.J., Hryciw, D.H., 2018. Peripheral modulation of the endocannabinoid system in metabolic disease. Drug Discov Today 23, 592–604. https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.01.029

Sidibeh, C.O., Pereira, M.J., Lau Börjesson, J., Kamble, P.G., Skrtic, S., Katsogiannos, P., Sundbom, M., Svensson, M.K., Eriksson, J.W., 2017. Role of cannabinoid receptor 1 in human adipose tissue for lipolysis regulation and insulin resistance. Endocrine 55, 839–852. https://doi.org/10.1007/s12020-016-1172-6

Sidney, L.E., Branch, M.J., Dunphy, S.E., Dua, H.S., Hopkinson, A., 2014. Concise review: evidence for CD34 as a common marker for diverse progenitors. Stem Cells 32, 1380–1389. https://doi.org/10.1002/stem.1661

Siersbæk, R., Nielsen, R., John, S., Sung, M.-H., Baek, S., Loft, A., Hager, G.L., Mandrup, S., 2011. Extensive chromatin remodelling and establishment of transcription factor 'hotspots' during early adipogenesis. EMBO J 30, 1459–1472. https://doi.org/10.1038/emboj.2011.65

Silva, F.J., Holt, D.J., Vargas, V., Yockman, J., Boudina, S., Atkinson, D., Grainger, D.W., Revelo, M.P., Sherman, W., Bull, D.A., Patel, A.N., 2014. Metabolically Active Human Brown Adipose Tissue Derived Stem Cells. Stem Cells 32, 572–581. https://doi.org/10.1002/stem.1595

Silvestri, C., Martella, A., Poloso, N.J., Piscitelli, F., Capasso, R., Izzo, A., Woodward, D.F., Di Marzo, V., 2013. Anandamide-derived Prostamide F2α Negatively Regulates Adipogenesis. J Biol Chem 288, 23307–23321. https://doi.org/10.1074/jbc.M113.489906

Simard, M., Archambault, A.-S., Lavoie, J.-P.C., Dumais, É., Di Marzo, V., Flamand, N., 2022. Biosynthesis and metabolism of endocannabinoids and their congeners from the monoacylglycerol and N-acyl-ethanolamine families. Biochemical Pharmacology 205, 115261. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2022.115261

Simcocks, A.C., O'Keefe, L., Jenkin, K.A., Mathai, M.L., Hryciw, D.H., McAinch, A.J., 2014. A potential role for GPR55 in the regulation of energy homeostasis. Drug Discov Today 19, 1145–1151. https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.12.005

Simon, G.M., Cravatt, B.F., 2006. Endocannabinoid Biosynthesis Proceeding through Glycerophospho-N-acyl Ethanolamine and a Role for α/β-Hydrolase 4 in This Pathway. Journal of Biological Chemistry 281, 26465–26472. https://doi.org/10.1074/jbc.M604660200

Simoneau, J.A., Kelley, D.E., 1997. Altered glycolytic and oxidative capacities of skeletal muscle contribute to insulin resistance in NIDDM. J Appl Physiol (1985) 83, 166–171. https://doi.org/10.1152/jappl.1997.83.1.166

Snel, M., Jonker, J.T., Schoones, J., Lamb, H., de Roos, A., Pijl, H., Smit, J.W.A., Meinders, A.E., Jazet, I.M., 2012. Ectopic Fat and Insulin Resistance: Pathophysiology and Effect of Diet and Lifestyle Interventions. Int J Endocrinol 2012, 983814. https://doi.org/10.1155/2012/983814

So, J., Strobel, O., Wann, J., Kim, K., Paul, A., Acri, D.J., Dabin, L.C., Kim, J., Peng, G., Roh, H.C., 2025. Robust single-nucleus RNA sequencing reveals depot-specific cell population dynamics in adipose tissue remodeling during obesity. eLife 13, RP97981. https://doi.org/10.7554/eLife.97981

Solorzano, C., Zhu, C., Battista, N., Astarita, G., Lodola, A., Rivara, S., Mor, M., Russo, R., Maccarrone, M., Antonietti, F., Duranti, A., Tontini, A., Cuzzocrea, S., Tarzia, G., Piomelli, D., 2009. Selective N-acylethanolamine-hydrolyzing acid amidase inhibition reveals a key role for endogenous palmitoylethanolamide in inflammation. Proc Natl Acad Sci U S A 106, 20966–20971. https://doi.org/10.1073/pnas.0907417106

Soria-Gómez, E., Bellocchio, L., Reguero, L., Lepousez, G., Et., A., 2014. The endocannabinoid system controls food intake via olfactory processes. Nature Neuroscience. https://doi.org/10.1038/nn.3647

Sorisky, A., Molgat, A.S.D., Gagnon, A., 2013. Macrophage-Induced Adipose Tissue Dysfunction and the Preadipocyte: Should I Stay (and Differentiate) or Should I Go?123. Adv Nutr 4, 67–75. https://doi.org/10.3945/an.112.003020

Spalding, K.L., Arner, E., Westermark, P.O., Bernard, S., Buchholz, B.A., Bergmann, O., Blomqvist, L., Hoffstedt, J., Näslund, E., Britton, T., Concha, H., Hassan, M., Rydén, M., Frisén, J., Arner, P., 2008. Dynamics of fat cell turnover in humans. Nature 453, 783–787. https://doi.org/10.1038/nature06902

Spoto, B., Fezza, F., Parlongo, G., Battista, N., Et., A., 2006. Human adipose tissue binds and metabolizes the endocannabinoids anandamide and 2-arachidonoylglycerol. Biochimie. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.07.019

Staiger, H., Häring, H.U., Löffler, G., 2002. Serum-free differentiation of 3T3-L1 preadipocytes is characterized by only transient expression of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. Biochem Biophys Res Commun 296, 125–128. https://doi.org/10.1016/s0006-291x(02)00810-0

Starowicz, K., Nigam, S., Di Marzo, V., 2007. Biochemistry and pharmacology of endovanilloids. Pharmacol Ther 114, 13–33. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.01.005

Steiner, B.M., Berry, D.C., 2022. The Regulation of Adipose Tissue Health by Estrogens. Front Endocrinol (Lausanne) 13, 889923. https://doi.org/10.3389/fendo.2022.889923

Stern, J.H., Rutkowski, J.M., Scherer, P.E., 2016. Adiponectin, Leptin, and Fatty Acids in the Maintenance of Metabolic Homeostasis Through Adipose Tissue Crosstalk. Cell Metab 23, 770–784. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.011

Straub, V.M., Barti, B., Tandar, S.T., Stevens, A.F., van Egmond, N., van der Wel, T., Zhu, N., Rüegger, J., van der Horst, C., Heitman, L.H., Li, Y., Stella, N., van Hasselt, J.G.C., Katona, I., van der Stelt, M., 2025. The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol is released and transported on demand via extracellular microvesicles. Proc Natl Acad Sci U S A 122, e2421717122. https://doi.org/10.1073/pnas.2421717122

Stringhini, S., Carmeli, C., Jokela, M., Avendaño, M., Muennig, P., Guida, F., Ricceri, F., d'Errico, A., Barros, H., Bochud, M., Chadeau-Hyam, M., Clavel-Chapelon, F., Costa, G., Delpierre, C., Fraga, S., Goldberg, M., Giles, G.G., Krogh, V., Kelly-Irving, M., Layte, R., Lasserre, A.M., Marmot, M.G., Preisig, M., Shipley, M.J., Vollenweider, P., Zins, M., Kawachi, I., Steptoe, A., Mackenbach, J.P., Vineis, P., Kivimäki, M., Alenius, H., Avendano, M., Barros, H., Bochud, M., Carmeli, C., Carra, L., Castagné, R., Chadeau-Hyam, M., Clavel-Chapelon, F., Costa, G., Courtin, E., Delpierre, C., D'Errico, A., Dugué, P.-A., Elliott, P., Fraga, S., Gares, V., Giles, G., Goldberg, M., Greco, D., Hodge, A., Irving, M.K., Karisola, P., Kivimäki, M., Krogh, V., Lang, T., Layte, R., Lepage, B., Mackenbach, J., Marmot, M., McCrory, C., Milne, R., Muennig, P., Nusselder, W., Panico, S., Petrovic, D., Polidoro, S., Preisig, M., Raitakari, O., Ribeiro, A.I., Ribeiro, A.I., Ricceri, F., Robinson, O., Valverde, J.R., Sacerdote, C., Satolli, R., Severi, G., Shipley, M.J., Stringhini, S., Tumino, R., Vineis, P., Vollenweider, P., Zins, M., 2017. Socioeconomic status and the 25 × 25 risk factors as determinants of premature mortality: a multicohort study and meta-analysis of 1·7 million men and women. The Lancet 389, 1229–1237. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32380-7

Suchacki, K.J., Stimson, R.H., 2021. Nutritional Regulation of Human Brown Adipose Tissue. Nutrients 13, 1748. https://doi.org/10.3390/nu13061748

Sufianov, A., Beilerli, A., Kudriashov, V., Ilyasova, T., Liang, Y., Mukhamedzyanov, A., Bessonova, M., Mashkin, A., Beylerli, O., 2023. The role of long non-coding RNAs in the development of adipose cells. Noncoding RNA Res 8, 255–262. https://doi.org/10.1016/j.ncrna.2023.02.009

Suh, J.M., Gao, X., McKay, J., McKay, R., Salo, Z., Graff, J.M., 2006. Hedgehog signaling plays a conserved role in inhibiting fat formation. Cell Metab 3, 25–34. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2005.11.012

Sun, K., 2023. Extracellular Matrix (ECM) and Fibrosis in Adipose Tissue: Overview and Perspectives - Sun - 2023 - Comprehensive Physiology - Wiley Online Library.

Sun, K., Kusminski, C.M., Scherer, P.E., 2011. Adipose tissue remodeling and obesity. J Clin Invest 121, 2094–2101. https://doi.org/10.1172/JCI45887

Sun, Y.-X., Tsuboi, K., Zhao, L.-Y., Okamoto, Y., Lambert, D.M., Ueda, N., 2005. Involvement of N-acylethanolamine-hydrolyzing acid amidase in the degradation of anandamide and other N-acylethanolamines in macrophages. Biochim Biophys Acta 1736, 211–220. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2005.08.010

Tadijan, A., Vlašić, I., Vlainić, J., Đikić, D., Oršolić, N., Jazvinšćak Jembrek, M., 2022. Intracellular Molecular Targets and Signaling Pathways Involved in Antioxidative and Neuroprotective Effects of Cannabinoids in Neurodegenerative Conditions. Antioxidants (Basel) 11, 2049. https://doi.org/10.3390/antiox11102049

Takanabe, R., Ono, K., Abe, Y., Takaya, T., Horie, T., Wada, H., Kita, T., Satoh, N., Shimatsu, A., Hasegawa, K., 2008. Up-regulated expression of microRNA-143 in association with obesity in adipose tissue of mice fed high-fat diet. Biochem Biophys Res Commun 376, 728–732. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.09.050

Tallone, T., Realini, C., Böhmler, A., Kornfeld, C., Vassalli, G., Moccetti, T., Bardelli, S., Soldati, G., 2011. Adult Human Adipose Tissue Contains Several Types of Multipotent Cells. J. of Cardiovasc. Trans. Res. 4, 200–210. https://doi.org/10.1007/s12265-011-9257-3

Tam, J., Cinar, R., Liu, J., Godlewski, G., Wesley, D., Jourdan, T., Szanda, G., Mukhopadhyay, B., Chedester, L., Liow, J.-S., Innis, R.B., Cheng, K., Rice, K.C., Deschamps, J.R., Chorvat, R.J., McElroy, J.F., Kunos, G., 2012. Peripheral Cannabinoid-1 Receptor Inverse Agonism Reduces Obesity by Reversing Leptin Resistance. Cell Metabolism 16, 167–179. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.07.002

Tam, J., Vemuri, V.K., Liu, J., Bátkai, S., Mukhopadhyay, B., Godlewski, G., Osei-Hyiaman, D., Ohnuma, S., Ambudkar, S.V., Pickel, J., Makriyannis, A., Kunos, G., 2010. Peripheral CB1 cannabinoid receptor blockade improves cardiometabolic risk in mouse models of obesity. J Clin Invest 120, 2953–2966. https://doi.org/10.1172/JCI42551

Tanaka, T., Yoshida, N., Kishimoto, T., Akira, S., 1997. Defective adipocyte differentiation in mice lacking the C/EBPbeta and/or C/EBPdelta gene. EMBO J 16, 7432–7443. https://doi.org/10.1093/emboj/16.24.7432

Tan-Chen, S., Bourron, O., Hajduch, É., 2020. [Ceramides, crucial actors in the development of insulin resistance and type 2 diabetes]. Med Sci (Paris) 36, 497–503. https://doi.org/10.1051/medsci/2020091

Tanda, G., Goldberg, S.R., 2003. Cannabinoids: reward, dependence, and underlying neurochemical mechanisms--a review of recent preclinical data. Psychopharmacology (Berl) 169, 115–134. https://doi.org/10.1007/s00213-003-1485-z

Tang, Q.-Q., Grønborg, M., Huang, H., Kim, J.-W., Otto, T.C., Pandey, A., Lane, M.D., 2005. Sequential phosphorylation of CCAAT enhancer-binding protein beta by MAPK and glycogen synthase kinase 3beta is required for adipogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A 102, 9766–9771. https://doi.org/10.1073/pnas.0503891102

Tang, Q.Q., Lane, M.D., 1999. Activation and centromeric localization of CCAAT/enhancer-binding proteins during the mitotic clonal expansion of adipocyte differentiation. Genes Dev 13, 2231–2241. https://doi.org/10.1101/gad.13.17.2231

Tang, Q.-Q., Otto, T.C., Lane, M.D., 2004a. Commitment of C3H10T1/2 pluripotent stem cells to the adipocyte lineage. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101, 9607–9611. https://doi.org/10.1073/pnas.0403100101

Tang, Q.-Q., Otto, T.C., Lane, M.D., 2003. Mitotic clonal expansion: A synchronous process required for adipogenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100, 44–49. https://doi.org/10.1073/pnas.0137044100

Tang, Q.-Q., Zhang, J.-W., Daniel Lane, M., 2004b. Sequential gene promoter interactions of C/EBPbeta, C/EBPalpha, and PPARgamma during adipogenesis. Biochem Biophys Res Commun 319, 235–239. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.04.176

Tang, W., Zeve, D., Suh, J.M., Bosnakovski, D., Kyba, M., Hammer, R.E., Tallquist, M.D., Graff, J.M., 2008. White fat progenitor cells reside in the adipose vasculature. Science 322, 583–586. https://doi.org/10.1126/science.1156232

Tang, Y., Qian, S.-W., Wu, M.-Y., Wang, J., Lu, P., Li, X., Huang, H.-Y., Guo, L., Sun, X., Xu, C.-J., Tang, Q.-Q., 2016. BMP4 mediates the interplay between adipogenesis and angiogenesis during expansion of subcutaneous white adipose tissue. Journal of Molecular Cell Biology 8, 302–312. https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw019

Teixeira, D., Pestana, D., Faria, A., Calhau, C., Azevedo, I., Monteiro, R., 2010. Modulation of adipocyte biology by δ(9)-tetrahydrocannabinol. Obesity (Silver Spring) 18, 2077–2085. https://doi.org/10.1038/oby.2010.100

Todaro, G.J., Green, H., 1963. Quantitative studies of the growth of mouse embryo cells in culture and their development into established lines. J Cell Biol 17, 299–313. https://doi.org/10.1083/jcb.17.2.299

Tomas, E., Tsao, T.-S., Saha, A.K., Murrey, H.E., Zhang, C.C., Itani, S.I., Lodish, H.F., Ruderman, N.B., 2002. Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: Acetyl–CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 16309–16313. https://doi.org/10.1073/pnas.222657499

Tong, Q., Dalgin, G., Xu, H., Ting, C.N., Leiden, J.M., Hotamisligil, G.S., 2000. Function of GATA transcription factors in preadipocyte-adipocyte transition. Science 290, 134–138. https://doi.org/10.1126/science.290.5489.134

Tontonoz, P., Hu, E., Spiegelman, B.M., 1994. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. Cell 79, 1147–1156. https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90006-x

Topol, E.J., Bousser, M.-G., Fox, K.A.A., Creager, M.A., Despres, J.-P., Easton, J.D., Hamm, C.W., Montalescot, G., Steg, P.G., Pearson, T.A., Cohen, E., Gaudin, C., Job, B., Murphy, J.H., Bhatt, D.L., CRESCENDO Investigators, 2010. Rimonabant for prevention of cardiovascular events (CRESCENDO): a randomised, multicentre, placebo-controlled trial. Lancet 376, 517–523. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60935-X

Traktuev, D.O., Merfeld-Clauss, S., Li, J., Kolonin, M., Arap, W., Pasqualini, R., Johnstone, B.H., March, K.L., 2008. A Population of Multipotent CD34-Positive Adipose Stromal Cells Share Pericyte and Mesenchymal Surface Markers, Reside in a Periendothelial Location, and Stabilize Endothelial Networks. Circulation Research 102, 77–85. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.107.159475

Tran, K.-V., Gealekman, O., Frontini, A., Zingaretti, M.C., Morroni, M., Giordano, A., Smorlesi, A., Perugini, J., De Matteis, R., Sbarbati, A., Corvera, S., Cinti, S., 2012. The Vascular Endothelium of the Adipose Tissue Gives Rise to Both White and Brown Fat Cells. Cell Metabolism 15, 222–229. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.01.008

Trayhurn, P., Wood, I.S., 2004. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. Br J Nutr 92, 347–355. https://doi.org/10.1079/bjn20041213

Triay, J., Mundi, M., Klein, S., Toledo, F.G., Smith, S.R., Abu-Lebdeh, H., Jensen, M., 2012. Does rimonabant independently affect free fatty acid and glucose metabolism? J Clin Endocrinol Metab 97, 819–827. https://doi.org/10.1210/jc.2011-2486

Trim, W.V., Lynch, L., 2022. Immune and non-immune functions of adipose tissue leukocytes. Nat Rev Immunol 22, 371–386. https://doi.org/10.1038/s41577-021-00635-7

Trzyna, A., Banaś-Ząbczyk, A., 2021. Adipose-Derived Stem Cells Secretome and Its Potential Application in "Stem Cell-Free Therapy." Biomolecules 11, 878. https://doi.org/10.3390/biom11060878

Tsuboi, K., Uyama, T., Okamoto, Y., Ueda, N., 2018. Endocannabinoids and related N-acylethanolamines: biological activities and metabolism. Inflamm Regen 38, 28. https://doi.org/10.1186/s41232-018-0086-5

Tsuboi, M., Nakamura, Y., Sakuma, H., 2023. Direct effect of 2-palmitoyl glycerol on promotion of gamma aminobutyric acid synthesis in normal human fetal-derived astrocytes. FEBS Open Bio 13, 1320–1332. https://doi.org/10.1002/2211-5463.13649

Turcotte, C., Blanchet, M.-R., Laviolette, M., Flamand, N., 2016. The CB2 receptor and its role as a regulator of inflammation. Cell Mol Life Sci 73, 4449–4470. https://doi.org/10.1007/s00018-016-2300-4

Tutunchi, H., Saghafi-Asl, M., Ostadrahimi, A., 2020. A systematic review of the effects of oleoylethanolamide, a high-affinity endogenous ligand of PPAR-α, on the management and prevention of obesity. Clin Exp Pharmacol Physiol 47, 543–552. https://doi.org/10.1111/1440-1681.13238

Tzameli, I., Fang, H., Ollero, M., Shi, H., Hamm, J.K., Kievit, P., Hollenberg, A.N., Flier, J.S., 2004. Regulated Production of a Peroxisome Proliferator-activated Receptor-γ Ligand during an Early Phase of Adipocyte Differentiation in 3T3-L1 Adipocytes. Journal of Biological Chemistry 279, 36093–36102. https://doi.org/10.1074/jbc.M405346200

Udi, S., Hinden, L., Ahmad, M., Drori, A., Iyer, M.R., Cinar, R., Herman-Edelstein, M., Tam, J., 2020. Dual inhibition of cannabinoid CB1 receptor and inducible NOS attenuates obesity-induced chronic kidney disease. Br J Pharmacol 177, 110–127. https://doi.org/10.1111/bph.14849

Ueda, N., Tsuboi, K., Uyama, T., 2013. Metabolism of endocannabinoids and related N-acylethanolamines: canonical and alternative pathways. FEBS J 280, 1874–1894. https://doi.org/10.1111/febs.12152

Uldry, M., Yang, W., St-Pierre, J., Lin, J., Seale, P., Spiegelman, B.M., 2006. Complementary action of the PGC-1 coactivators in mitochondrial biogenesis and brown fat differentiation. Cell Metabolism 3, 333–341. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.04.002

Valverde, O., 2005. Participation of the cannabinoid system in the regulation of emotional-like behaviour. Curr Pharm Des 11, 3421–3429. https://doi.org/10.2174/138161205774370780

Van Gaal, L.F., Rissanen, A.M., Scheen, A.J., Ziegler, O., Et., A., 2005. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. The Lancet. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)66374-x

Varga, T., Czimmerer, Z., Nagy, L., 2011. PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease, Translating nuclear receptors from health to disease 1812, 1007–1022. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.02.014

Verstraeten, V.L.R.M., Renes, J., Ramaekers, F.C.S., Kamps, M., Kuijpers, H.J., Verheyen, F., Wabitsch, M., Steijlen, P.M., Steensel, M.A.M., Broers, J.L.V., 2011. Reorganization of the nuclear lamina and cytoskeleton in adipogenesis. Histochem Cell Biol 135, 251–261. https://doi.org/10.1007/s00418-011-0792-4

Verty, A.N.A., McGregor, I.S., Mallet, P.E., 2005. Paraventricular hypothalamic CB1 cannabinoid receptors are involved in the feeding stimulatory effects of Δ9-tetrahydrocannabinol. Neuropharmacology. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2005.03.025

Vettor, R., Pagano, C., 2009. The role of the endocannabinoid system in lipogenesis and fatty acid metabolism. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, The Endocannabinoid System in Metabolic Control 23, 51–63. https://doi.org/10.1016/j.beem.2008.10.002

Virtue, S., Vidal-Puig, A., 2010. Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the Metabolic Syndrome--an allostatic perspective. Biochim Biophys Acta 1801, 338–349. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2009.12.006

Vishvanath, L., Gupta, R.K., 2019. Contribution of adipogenesis to healthy adipose tissue expansion in obesity. J Clin Invest 129, 4022–4031. https://doi.org/10.1172/JCI129191

Volpe, M., Gallo, G., 2023. Obesity and cardiovascular disease: An executive document on pathophysiological and clinical links promoted by the Italian Society of Cardiovascular Prevention (SIPREC). Front. Cardiovasc. Med. 10, 1136340. https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1136340

Wakao, H., Wakao, R., Oda, A., Fujita, H., 2011. Constitutively active Stat5A and Stat5B promote adipogenesis. Environ Health Prev Med 16, 247–252. https://doi.org/10.1007/s12199-010-0193-7

Wang, B., Jiang, X., Wang, Q., Xu, A., 2026. The Multiscale Heterogeneity of Adipose Tissue in Health and Disease. Research (Wash D C) 9, 1261. https://doi.org/10.34133/research.1261

Wang, B., Zhang, G., Hu, Y., Mohsin, A., Chen, Z., Hao, W., Li, Z., Gao, W.-Q., Guo, M., Xu, H., 2024. Uncovering impaired mitochondrial and lysosomal function in adipose-derived stem cells from obese individuals with altered biological activity. Stem Cell Res Ther 15, 12. https://doi.org/10.1186/s13287-023-03625-9

Wang, H., Du, Y., Huang, S., Sun, X., Ye, Y., Sun, H., Chu, X., Shan, X., Yuan, Y., Shen, L., Bi, Y., 2024. Single-cell analysis reveals a subpopulation of adipose progenitor cells that impairs glucose homeostasis. Nat Commun 15, 4827. https://doi.org/10.1038/s41467-024-48914-w

Wang, L., Jin, Q., Lee, J.-E., Su, I., Ge, K., 2010. Histone H3K27 methyltransferase Ezh2 represses Wnt genes to facilitate adipogenesis. Proceedings of the National Academy of Sciences 107, 7317–7322. https://doi.org/10.1073/pnas.1000031107

Wang, L., Yang, Le, Tian, L., Mai, P., Jia, S., Yang, Lin, Li, L., 2017. Cannabinoid Receptor 1 Mediates Homing of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Triggered by Chronic Liver Injury. Journal of Cellular Physiology 232, 110–121. https://doi.org/10.1002/jcp.25395

Wang, M., Yin, C., Wang, L., Liu, Y., Li, H., Li, M., Yi, X., Xiao, Y., 2019. Serum Asprosin Concentrations Are Increased and Associated with Insulin Resistance in Children with Obesity. Ann Nutr Metab 75, 205–212. https://doi.org/10.1159/000503808

Wang, Q.A., Tao, C., Gupta, R.K., Scherer, P.E., 2013. Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. Nat Med 19, 1338–1344. https://doi.org/10.1038/nm.3324

Wang, S., Xu, Q., Shu, G., Wang, L., Et., A., 2015. N-Oleoyl glycine, a lipoamino acid, stimulates adipogenesis associated with activation of CB1 receptor and Akt signaling pathway in 3T3-L1 adipocyte. Biochemical and Biophysical Research Communications. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.09.046

Wang, Y., Qu, H., Xiong, X., Qiu, Y., Liao, Y., Chen, Y., Zheng, Y., Zheng, H., 2018. Plasma Asprosin Concentrations Are Increased in Individuals with Glucose Dysregulation and Correlated with Insulin Resistance and First-Phase Insulin Secretion. Mediators of Inflammation 2018, 1–7. https://doi.org/10.1155/2018/9471583

Wei, Q., Lee, J.H., Wu, C.-S., Zang, Q.S., Guo, S., Lu, H.-C., Sun, Y., 2021. Metabolic and inflammatory functions of cannabinoid receptor type 1 are differentially modulated by adiponectin. World J Diabetes 12, 1750–1764. https://doi.org/10.4239/wjd.v12.i10.1750

Wei, S., Zan, L., Hausman, G.J., Rasmussen, T.P., Bergen, W.G., Dodson, M.V., 2013a. Dedifferentiated adipocyte-derived progeny cells (DFAT cells): Potential stem cells of adipose tissue. Adipocyte 2, 122–127. https://doi.org/10.4161/adip.23784

Wei, S., Zhang, L., Zhou, X., Du, M., Jiang, Z., Hausman, G.J., Bergen, W.G., Zan, L., Dodson, M.V., 2013b. Emerging roles of zinc finger proteins in regulating adipogenesis. Cell Mol Life Sci 70, 4569–4584. https://doi.org/10.1007/s00018-013-1395-0

Weisberg, S.P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R.L., Ferrante, A.W., 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. J Clin Invest 112, 1796–1808. https://doi.org/10.1172/JCI19246

Wirsén, C., 1964. Adrenergic Innervation of Adipose Tissue examined by Fluorescence Microscopy. Nature 202, 913–913. https://doi.org/10.1038/202913a0

Wolfe, R.R., Klein, S., Carraro, F., Weber, J.M., 1990. Role of triglyceride-fatty acid cycle in controlling fat metabolism in humans during and after exercise. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 258, E382–E389. https://doi.org/10.1152/ajpendo.1990.258.2.E382

Wronska, A., Kmiec, Z., 2012. Structural and biochemical characteristics of various white adipose tissue depots. Acta Physiologica 205, 194–208. https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2012.02409.x

Wu, Q., Ma, Y., Liu, Y., Wang, N., Zhao, X., Wen, D., 2020. CB2R agonist JWH-133 attenuates chronic inflammation by restraining M1 macrophage polarization via Nrf2/HO-1 pathway in diet-induced obese mice. Life Sci 260, 118424. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118424

Wu, Z., Rosen, E.D., Brun, R., Hauser, S., Adelmant, G., Troy, A.E., McKeon, C., Darlington, G.J., Spiegelman, B.M., 1999. Cross-regulation of C/EBP alpha and PPAR gamma controls the transcriptional pathway of adipogenesis and insulin sensitivity. Mol Cell 3, 151–158. https://doi.org/10.1016/s1097-2765(00)80306-8

Xia, J.Y., Sun, K., Hepler, C., Ghaben, A.L., Gupta, R.K., An, Y.A., Holland, W.L., Morley, T.S., Adams, A.C., Gordillo, R., Kusminski, C.M., Scherer, P.E., 2018. Acute loss of adipose tissue-derived adiponectin triggers immediate metabolic deterioration in mice. Diabetologia 61, 932–941. https://doi.org/10.1007/s00125-017-4516-8

Xiao, T., Liu, L., Li, H., Sun, Y., Luo, H., Li, T., Wang, S., Dalton, S., Zhao, R.C., Chen, R., 2015. Long Noncoding RNA ADINR Regulates Adipogenesis by Transcriptionally Activating C/EBPα. Stem Cell Reports 5, 856–865. https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2015.09.007

Xu, M., Palmer, A.K., Ding, H., Weivoda, M.M., Pirtskhalava, T., White, T.A., Sepe, A., Johnson, K.O., Stout, M.B., Giorgadze, N., Jensen, M.D., LeBrasseur, N.K., Tchkonia, T., Kirkland, J.L., 2015. Targeting senescent cells enhances adipogenesis and metabolic function in old age. Elife 4, e12997. https://doi.org/10.7554/eLife.12997

Yadav, N., Cheng, D., Richard, S., Morel, M., Iyer, V.R., Aldaz, C.M., Bedford, M.T., 2008. CARM1 promotes adipocyte differentiation by coactivating PPARgamma. EMBO Rep 9, 193–198. https://doi.org/10.1038/sj.embor.7401151

Yamauchi, T., Kamon, J., Minokoshi, Y., Ito, Y., Waki, H., Uchida, S., Yamashita, S., Noda, M., Kita, S., Ueki, K., Eto, K., Akanuma, Y., Froguel, P., Foufelle, F., Ferre, P., Carling, D., Kimura, S., Nagai, R., Kahn, B.B., Kadowaki, T., 2002. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. Nat Med 8, 1288–1295. https://doi.org/10.1038/nm788

Yang, A., Mottillo, E.P., 2020. Adipocyte lipolysis: from molecular mechanisms of regulation to disease and therapeutics. Biochemical Journal 477, 985–1008. https://doi.org/10.1042/BCJ20190468

Yang, D., Li, N., Zhang, G., 2018. Spontaneous adipogenic differentiation potential of adipose -derived stem cells decreased with increasing cell passages. Molecular Medicine Reports. https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8619

Yang, X., Wu, R., Shan, W., Yu, L., Xue, B., Shi, H., 2016. DNA Methylation Biphasically Regulates 3T3-L1 Preadipocyte Differentiation. Mol Endocrinol 30, 677–687. https://doi.org/10.1210/me.2015-1135

Yasruel, Z., Cianflone, K., Sniderman, A.D., Rosenbloom, M., Walsh, M., Rodriguez, M.A., 1991. Effect of acylation stimulating protein on the triacylglycerol synthetic pathway of human adipose tissue. Lipids 26, 495–499. https://doi.org/10.1007/BF02536592

Yokomori, N., Tawata, M., Onaya, T., 1999. DNA demethylation during the differentiation of 3T3-L1 cells affects the expression of the mouse GLUT4 gene. Diabetes 48, 685–690. https://doi.org/10.2337/diabetes.48.4.685

Yore, M.M., Syed, I., Moraes-Vieira, P.M., Zhang, T., Herman, M.A., Homan, E.A., Patel, R.T., Lee, J., Chen, S., Peroni, O.D., Dhaneshwar, A.S., Hammarstedt, A., Smith, U., McGraw, T.E., Saghatelian, A., Kahn, B.B., 2014. Discovery of a Class of Endogenous Mammalian Lipids with Anti-Diabetic and Anti-inflammatory Effects. Cell 159, 318–332. https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.035

Yoshida, R., Ohkuri, T., Jyotaki, M., Yasuo, T., Horio, N., Yasumatsu, K., Sanematsu, K., Shigemura, N., Yamamoto, T., Margolskee, R.F., Ninomiya, Y., 2010. Endocannabinoids selectively enhance sweet taste. Proc Natl Acad Sci U S A 107, 935–939. https://doi.org/10.1073/pnas.0912048107

Yu, C., Markan, K., Temple, K.A., Deplewski, D., Brady, M.J., Cohen, R.N., 2005. The nuclear receptor corepressors NCoR and SMRT decrease peroxisome proliferator-activated receptor gamma transcriptional activity and repress 3T3-L1 adipogenesis. J Biol Chem 280, 13600–13605. https://doi.org/10.1074/jbc.M409468200

Zanotti, S., Canalis, E., 2010. Notch and the Skeleton. Mol Cell Biol 30, 886–896. https://doi.org/10.1128/MCB.01285-09

Zhang, Y., Chen, F., Zhang, F., Huang, X., 2022. Characterization of DNA methylation as well as mico-RNA expression and screening of epigenetic markers in adipogenesis. J Transl Med 20, 93. https://doi.org/10.1186/s12967-022-03295-w

Zhang, Y., Chua, S., 2017. Leptin Function and Regulation, in: Prakash, Y.S. (Ed.), Comprehensive Physiology. Wiley, pp. 351–369. https://doi.org/10.1002/cphy.c160041

Zhang, Y., Marsboom, G., Toth, P.T., Rehman, J., 2013. Mitochondrial Respiration Regulates Adipogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. PLoS One 8, e77077. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077077

Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue.

Zhang, Y.-Y., Li, X., Qian, S.-W., Guo, L., Huang, H.-Y., He, Q., Liu, Y., Ma, C.-G., Tang, Q.-Q., 2011. Transcriptional activation of histone H4 by C/EBPβ during the mitotic clonal expansion of 3T3-L1 adipocyte differentiation. Mol Biol Cell 22, 2165–2174. https://doi.org/10.1091/mbc.E10-11-0912

Zhao, H., Shang, Q., Pan, Z., Bai, Y., Li, Z., Zhang, H., Zhang, Q., Guo, C., Zhang, L., Wang, Q., 2018. Exosomes From Adipose-Derived Stem Cells Attenuate Adipose Inflammation and Obesity Through Polarizing M2 Macrophages and Beiging in White Adipose Tissue. Diabetes 67, 235–247. https://doi.org/10.2337/db17-0356

Zhao, H., Shang, Q., Pan, Z., Bai, Y., Li, Z., Zhang, H., Zhang, Q., Guo, C., Zhang, L., Wang, Q., 2017. Exosomes From Adipose-Derived Stem Cells Attenuate Adipose Inflammation and Obesity Through Polarizing M2 Macrophages and Beiging in White Adipose Tissue. Diabetes 67, 235–247. https://doi.org/10.2337/db17-0356

Zhao, J., Zhao, Y., Hu, Y., Peng, J., 2021. Targeting the GPR119/incretin axis: a promising new therapy for metabolic-associated fatty liver disease. Cell Mol Biol Lett 26, 32. https://doi.org/10.1186/s11658-021-00276-7

Zhao, R., Jiang, S., Zhang, L., Yu, Z., 2019. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). Int J Mol Med. https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4188

Zhou, Z., Tao, Y., Zhao, H., Wang, Q., 2021. Adipose Extracellular Vesicles: Messengers From and to Macrophages in Regulating Immunometabolic Homeostasis or Disorders. Front Immunol 12, 666344. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.666344

Annexe 1

Med Mal Metab 2025; 19: 100-109

en ligne sur / on line on
www.em-consulte.com/revue/mmm
www.sciencedirect.com

Stratégie thérapeutique

Les antagonistes des récepteurs aux cannabinoïdes de type 1 (CB1) à action périphérique ont-ils un avenir dans le traitement de l'obésité et du diabète de type 2 ?

Océane Pointeau [1,2], Romain Barbosa [1,2], Pascal Degrace [1,2], Bruno Vergès [2,3], Tony Jourdan [1,2]

Disponible sur internet le :
18 novembre 2024

1. UFR sciences, vie, terre, environnement, université de Bourgogne, 21000 Dijon, France
2. Inserm Research Center U1231, Pathophysiology of Dyslipidemia Team, 21000 Dijon, France
3. Department of Endocrinology and Diabetology, CHU de Dijon-Bourgogne, 21000 Dijon, France

Correspondance :
Tony Jourdan, UFR sciences vie terre environnement, Inserm Research Center U1231, Pathophysiology of Dyslipidemia Team, université de Bourgogne, 21000 Dijon, France.
tony.jourdan@inserm.fr

Mots clés
Obésité
Diabète de type 2
Système endocannabinoïde (SEC)
Récepteur aux cannabinoïdes de type 1 (CB1)
Antagonistes
Périphérie

Résumé

L'obésité et le diabète de type 2 affectent des millions de personnes dans le monde et entraînent de nombreuses complications graves telles que les maladies cardiovasculaires, la stéatose hépatique non alcoolique et les maladies rénales. Face à l'augmentation constante de leur prévalence et aux limites des traitements actuels, la recherche de nouvelles approches thérapeutiques est cruciale. Dans ce contexte, les antagonistes des récepteurs aux cannabinoïdes de type 1 (CB1) à action périphérique émergent comme une option prometteuse. Ces molécules innovantes exercent des effets bénéfiques sur le métabolisme en ciblant spécifiquement les récepteurs CB1 des organes périphériques, tels que le pancréas, le tissu adipeux, le foie et les reins, sans générer d'effets centraux indésirables. Cette revue fait le point sur l'état de l'art des études précliniques et cliniques passées portant sur l'utilisation des antagonistes des récepteurs CB1 à action périphérique de deuxième et troisième génération et sur les perspectives qu'ils ouvrent pour le traitement et la prévention des troubles métaboliques associés à l'obésité et au diabète de type 2.

© 2024 Les Auteurs. Publié par Elsevier Masson SAS. Cet article est publié en Open Access sous licence CC BY (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Med Mal Metab 2025; 19: 100–109

Keywords
Obesity
Type 2 diabetes
Endocannabinoid system (ECS)
Cannabinoid receptor type 1 (CB1)
Antagonists
Periphery

Summary

Do peripherally acting cannabinoid type 1 (CB1) receptor antagonists have a future in the treatment of obesity and type 2 diabetes?

Obesity and type 2 diabetes represent major public health problems, affecting millions of people worldwide and leading to complications such as cardiovascular disease, non-alcoholic fatty liver disease and kidney disease. Given the constant increase in their prevalence and the limitations of current treatments, the search for new therapeutic approaches is crucial. In this context, peripherally-restricted cannabinoid type 1 (CB1) receptor antagonists are emerging as a promising option. These innovative molecules specifically target CB1 receptors in peripheral tissues involved in metabolism, such as the pancreas, adipose tissue, liver and kidneys, without crossing the blood–brain barrier. The aim of this review is to present the state of the art of past preclinical and clinical studies highlighting the use of second- and third-generation peripherally acting CB1 receptor antagonists and future perspectives for the treatment of these metabolic diseases and the prevention of their associated complications.

Obésité et diabète de type 2

L'obésité et le diabète sont deux pathologies métaboliques étroitement liées, dont l'incidence mondiale est en constante augmentation. L'obésité, définie par un indice de masse corporelle (IMC) supérieur à 30, constitue un facteur de risque majeur pour le développement du diabète de type 2. Les causes de l'obésité sont multifactorielles et peuvent inclure des facteurs génétiques, environnementaux, comportementaux et métaboliques. Cet ensemble de facteurs provoque un déséquilibre de la balance énergétique, entraînant une accumulation excessive de graisses à l'origine de l'obésité [1]. Le diabète de type 2 quant à lui se caractérise notamment par une hyperglycémie chronique due à une résistance à l'insuline et/ou une insuffisance de sécrétion d'insuline par les cellules β-pancréatiques [2]. Parallèlement, l'hypertrophie du tissu adipeux et en particulier du tissu adipeux viscéral [3] induit la libération de cytokines pro-inflammatoires et d'acides gras libres en excès, contribuant à une inflammation systémique et à une dérégulation métabolique [4]. Cette inflammation chronique perturbe les voies de signalisation de l'insuline, aggravant ainsi la résistance à l'insuline. D'une façon générale, l'excès de tissu adipeux viscéral est particulièrement impliqué dans l'altération de la sensibilité à l'insuline [3]. En première intention, les praticiens privilégient une approche intégrée, en mettant l'accent sur la prévention primaire par l'éducation des patients sur les choix de mode de vie sains, notamment une alimentation équilibrée et une activité physique régulière. Une surveillance étroite et un traitement précoce sont également essentiels pour réduire les complications associées à ces conditions telles que les maladies cardiovasculaires, la néphropathie diabétique, la rétinopathie, la neuropathie et d'autres complications graves, et ainsi améliorer la qualité de vie des patients [5]. La compréhension des mécanismes moléculaires et cellulaires sous-jacents à ces pathologies apparaît donc cruciale pour développer des stratégies thérapeutiques efficaces visant à réduire la prévalence de l'obésité, du diabète et de leurs complications.

Au cours des dernières années, de nouveaux composés ont suscité beaucoup d'espoirs dans le traitement de l'obésité et du diabète de type 2. Parmi ceux-ci citons les incrétino-mimétiques, déjà utilisés en pratique clinique tels que les agonistes

Points essentiels

- Le système endocannabinoïde est un système biologique complexe jouant un rôle dans la régulation de nombreux processus physiologiques et est étroitement impliqué dans le développement de l'obésité et du diabète de type 2.
- Depuis plusieurs années, des travaux ont suggéré que le récepteur CB1, présent dans le système endocannabinoïde, pourrait être une nouvelle cible thérapeutique.
- Suite au retrait du marché du rimonabant (antagoniste inverse du récepteur CB1) en 2008, de nouvelles molécules à action périphérique, ciblant le récepteur CB1, ont été développées pour traiter et prévenir l'obésité, le diabète et leurs complications associées.
- Les études précliniques et cliniques ont révélé des résultats prometteurs, incluant une perte de poids, une amélioration du profil glucidolipidique, une diminution de l'inflammation et du stress oxydatif dans les organes périphériques, ainsi qu'une meilleure régulation de la glycémie.
- À terme, les antagonistes de nouvelle génération à action périphérique, ciblant le récepteur CB1, pourraient ouvrir de nouvelles opportunités thérapeutiques, en offrant une alternative plus sûre aux traitements métaboliques actuels.

du récepteur GLP-1 comme le liraglutide, le dulaglutide ou le sémaglutide et les co-agonistes des récepteurs GIP/GLP-1 tel que le tirzépatide. Dans le but d'améliorer le traitement des pathologies métaboliques, des études récentes se concentrent sur le développement de composés ayant des actions multiples. Bien que cette approche semble prometteuse, une nouvelle direction pour traiter et prévenir l'obésité et le diabète est en pleine expansion.

Lien entre système endocannabinoïde, obésité et diabète de type 2

Le système endocannabinoïde (SEC) est un système complexe jouant un rôle essentiel dans la régulation de nombreux processus physiologiques, dont la prise alimentaire et le métabolisme énergétique. Il est principalement constitué des récepteurs CB1 et CB2, de leurs ligands endogènes ainsi que des enzymes responsables de leur synthèse et dégradation. Les récepteurs CB1 et CB2, exprimés dans le système nerveux central et les tissus périphériques, interagissent avec les endocannabinoïdes (ECs), tels que l'anandamide (AEA) et le 2-arachidonoyl-glycérol (2-AG), produits naturellement par l'organisme à partir d'un précurseur commun : l'acide arachidonique, appartenant à la famille des acides gras n-6 [6].

Il est maintenant bien établi que ce système est étroitement impliqué dans le développement de l'obésité et du diabète. Des études ont montré qu'une augmentation des taux circulants d'ECs est corrélée à une prise de poids [7] et que les ECs sont capables de stimuler la prise alimentaire par l'intermédiaire des récepteurs CB1 centraux chez l'Homme [8]. En effet, le SEC influence la sécrétion de différentes hormones régulant l'appétit, comme la ghréline (hormone orexigénique) et la leptine (hormone anorexigène). Il a été démontré que les taux d'ECs augmentent dans l'hypothalamus pendant le jeûne et diminuent très rapidement après un repas [9].

Les études récentes mettent en évidence une interaction complexe entre le diabète de type 2 et le SEC, à l'origine de dérégulations métaboliques. Ainsi, une hyperactivation du SEC est fréquemment observée chez les patients diabétiques, contribuant à une augmentation de l'appétit, une prise de poids et une altération du métabolisme glucidique liée à l'installation d'une résistance à l'insuline caractéristique du diabète de type 2. Par ailleurs, la modulation de l'activité des récepteurs CB1 influence directement le contrôle glycémique : leur activation tend à augmenter la glycémie, tandis que leur inhibition l'améliore [10]. L'inactivation du SEC semble agir sur plusieurs aspects de la physiopathologie du diabète, notamment en réduisant l'hyperglycémie chronique et en améliorant le métabolisme lipidique [10].

En conclusion, le SEC périphérique, principalement par le biais du récepteur CB1, joue un rôle central dans la physiopathologie de l'obésité et du diabète de type 2. C'est pourquoi des composés antagonistes des récepteurs CB1 sont actuellement en développement et à l'étude. L'objectif de cette revue est de présenter les mécanismes d'action de ces composés et démontrer qu'ils pourraient constituer de nouvelles voies thérapeutiques pour le traitement et la prévention de l'obésité et du diabète.

Localisation périphérique des récepteurs CB1

À ce jour, les récepteurs CB1 ont été identifiés dans de nombreux tissus périphériques appartenant au système cardiovasculaire, au tractus gastro-intestinal, au système rénal ou encore au système reproductif. Le chapitre suivant se focalisera sur le rôle de ces récepteurs dans quatre organes jouant un rôle primordial dans la pathogenèse de l'obésité et du diabète et de leurs complications associées : le pancréas, le foie, le tissu adipeux et le rein.

Implication du SEC dans la régulation de la fonction pancréatique

Il est désormais bien établi que les cellules β des îlots pancréatiques expriment le récepteur CB1 ainsi que les enzymes impliquées dans la synthèse et de la dégradation des ECs [11,12]. Le récepteur CB1 semble réguler la fonction sécrétoire du pancréas. En effet, les ECs sont synthétisés de manière dépendante du glucose au sein des îlots pancréatiques [11]. L'activation des récepteurs CB1 réduit la sécrétion d'insuline, un phénomène régulé par la diminution du taux d'AMPc [12]. Pour renforcer ces observations, un modèle de souris déficientes en récepteur CB1 spécifiquement au niveau des cellules β-pancréatiques a montré une augmentation de la sécrétion précoce d'insuline, qui pourrait contribuer au développement de l'insulinorésistance [12].

De plus, lors d'une hyperglycémie prolongée ou d'une obésité, la suractivation du SEC entraîne une altération de la fonction β-pancréatique par un processus d'apoptose. En effet, lorsque le récepteur CB1 est activé par les ECs, il se lie directement au récepteur à l'insuline, bloquant son activation et déclenchant l'apoptose des cellules β-pancréatiques [13]. Ce mécanisme peut également s'expliquer par l'activation de l'inflammasome NLRP3 par les macrophages environnants via le récepteur CB1 [14,15]. Des études ont montré que le blocage ou la suppression des récepteurs CB1 permet de rétablir la prolifération des cellules et de maintenir leur viabilité en situation de stress, suggérant que le récepteur CB1 joue un rôle clé dans la réponse inflammatoire des îlots pancréatiques [11,12]. Prises ensemble, ces données précliniques démontrent un fort potentiel thérapeutique pour la modulation des récepteurs CB1 dans le cadre du contrôle glycémique.

Rôle du SEC hépatique

Le foie joue un rôle majeur dans l'apparition des troubles cardiométaboliques associés à l'obésité et au diabète de type 2. En particulier, le développement de *Metabolic dysfunction-*

Med Mal Metab 2025; 19: 100–109

Associated Fatty Liver Disease (MAFLD) se caractérise par une profonde perturbation du métabolisme glucidolipidique du foie, de son statut inflammatoire et par la présence d'une fibrose [16].

Les récepteurs CB1 hépatiques semblent impliqués dans la MAFLD puisque leur activation favorise l'augmentation de la lipogenèse, la diminution de l'oxydation des acides gras, le tout favorisant le développement de la stéatose hépatique [17]. Les premières études ont montré que le blocage des récepteurs CB1, par des antagonistes comme le rimonabant, améliore la sensibilité à l'insuline, diminue la prise de poids, normalise les paramètres métaboliques, le tout réduisant la stéatose hépatique induite par un régime riche en graisses [18–20]. Ces modulations liées à l'activation des récepteurs CB1 impliquent différentes voies métaboliques. En effet, les récepteurs CB1 stimulent la lipogenèse via l'activation de facteurs de transcription comme SREBP-1c et la régulation du métabolisme énergétique via l'activation de l'AMPK [21].

Des études sur les souris déficientes en récepteurs CB1 (CB1-KO) ont permis d'élucider le rôle crucial de ces récepteurs dans la régulation du métabolisme hépatique et la progression de la fibrose. Les travaux de Teixeira-Clerc et al. ont démontré que l'invalidation génétique ou pharmacologique des récepteurs CB1 confère une protection significative contre le développement de la fibrose dans divers modèles expérimentaux de lésions hépatiques chroniques. Ces souris CB1-KO présentent une réduction marquée de l'accumulation de myofibroblastes et de la production de TGF-β1, un médiateur clé de la fibrogenèse [22]. D'autres études ont mis en évidence, dans un modèle de souris déficientes en récepteurs CB1 hépatiques, soumises à un régime hyper-lipidique, une amélioration des paramètres métaboliques. Les résultats montrent une stéatose hépatique réduite, une hyperglycémie et une dyslipidémie moins marquées, ainsi qu'une augmentation de la sensibilité à l'insuline et à la leptine [18].

Pris ensemble, ces résultats montrent l'intérêt thérapeutique de cibler les récepteurs CB1 pour prévenir le développement de la stéatose hépatique et les dérégulations du métabolisme glucidolipidique associées.

SEC et métabolisme du tissu adipeux

Le SEC apparaît comme un important régulateur du développement et du fonctionnement du tissu adipeux blanc. Tout d'abord, il induit l'adipogenèse en activant le facteur de transcription PPAR-γ, essentiel à la différenciation des préadipocytes en adipocytes [23]. Il stimule également la lipogenèse en activant l'expression de gènes contrôlant l'accumulation de lipides. Ainsi, le SEC favorise la capture du glucose et augmente l'activité de la lipoprotéine lipase [24,25]. De plus, l'activation du récepteur CB1 limite la mobilisation des graisses en réduisant la production d'AMPc, un second messager nécessaire au bon fonctionnement des enzymes clés de la lipolyse [26]. Le rôle fondamental joué par les récepteurs CB1 dans le tissu adipeux est clairement mis en évidence dans les travaux de Ruiz de Azua et al. qui ont montré que la délétion spécifique des récepteurs CB1 dans les adipocytes est suffisante pour protéger la souris de l'obésité et des dérégulations métaboliques associées [27].

La fonction endocrine du tissu adipeux blanc est également altérée lors de l'activation du SEC. Les récepteurs CB1 contrôlent la production de leptine, une adipokine anorexigène qui réduit la prise alimentaire via ses récepteurs hypothalamiques. En 2012, Tam et al. ont montré que l'utilisation d'un agoniste inverse du récepteur CB1 augmente l'expression de cette adipokine [28]. À l'inverse, l'adiponectine, une adipokine insulino-sensibilisatrice dont la production est diminuée au cours de l'obésité, voit sa synthèse augmenter lorsque le récepteur CB1 est bloqué [19]. Le tissu adipeux est également capable de produire des ECs et cette production est augmentée au cours de l'obésité [29]. Ainsi, les ECs produits par les dépôts adipeux pourraient en activant les récepteurs CB1, exercer des effets autocrines et exocrines et contribuer à l'altération du métabolisme des tissus à proximité.

Dans le tissu adipeux brun, spécialisé dans la production de chaleur, l'activation des récepteurs CB1 réduit l'activité thermogénique via la protéine découplante UCP1, diminuant ainsi la dépense énergétique. À l'inverse, le blocage des récepteurs CB1 favorise le brunissement du tissu adipeux blanc en tissu adipeux brun, augmentant ainsi les dépenses énergétiques par la production de chaleur [30].

En conclusion, l'activation du SEC en promouvant la mise en réserve de l'énergie et l'hypertrophie du tissu adipeux blanc (notamment viscéral) contribue à l'altération de son activité sécrétoire et de son homéostasie en général pouvant favoriser le développement des troubles métaboliques liées à l'obésité [31].

Le SEC joue un rôle clé dans la régulation de la fonction rénale

Des laboratoires dont le nôtre ont identifié le récepteur CB1 comme un régulateur clé de la physiologie rénale. En conditions physiologiques, le récepteur CB1 est faiblement exprimé. Cependant, son expression augmente significativement en condition pathologique, jouant un rôle essentiel dans la pathogenèse de la néphropathie diabétique [32].

En 2015, Lecru et al. ont montré que l'expression rénale des gènes codant pour les récepteurs CB1 était augmentée à la fois dans les modèles animaux diabétiques et chez les patients diabétiques [33]. De plus, l'activation des récepteurs CB1 dans le rein favorise l'inflammation, le stress oxydatif, l'altération des fonctions des cellules tubulaires et des podocytes ainsi qu'une hypertrophie des glomérules. Cela s'accompagne d'une augmentation de la sécrétion d'albumine et de modifications de la matrice extracellulaire pouvant conduire au développement d'une fibrose [32].

D'autres études ont montré que le blocage pharmacologique des récepteurs CB1 réduit la protéinurie et les lésions rénales chez des souris diabétiques induites par la streptozotocine [34], ainsi que chez des souris obèses *db/db* [35]. Des observations similaires ont été effectuées chez le rat Zucker diabétiques [36,37]. Ainsi, un traitement chronique ciblant le récepteur CB1 chez le rat Zucker diabétique a amélioré l'albuminurie, le taux de filtration glomérulaire et le taux de créatinine plasmatique suggérant une prévention du dysfonctionnement glomérulaire. En parallèle, l'amélioration de l'uricosurie et de la polyurie suggère des effets complémentaires de la signalisation du récepteur CB1 sur les fonctions tubulaires proximales et distales [37], respectivement, ce qui est également compatible avec la présence du récepteur CB1 au niveau des tubules contournés proximaux et distaux [38]. En parallèle, dans cette étude, il a également été montré une interaction directe entre le récepteur CB1 et le récepteur pour l'angiotensine 2 [37].

En 2018, Jourdan et al. ont développé un modèle de souris knock-out pour *Cnr1* (gène codant pour CB1) spécifiquement dans les podocytes. La suppression spécifique du récepteur CB1 dans les podocytes a atténué l'albuminurie et l'augmentation de l'azote uréique sanguin chez les souris diabétiques sans affecter leur hyperglycémie, ce qui indique une amélioration des fonctions glomérulaires et une meilleure préservation de l'intégrité des podocytes. Par ailleurs, cette étude montre que les souris diabétiques présentent un dysfonctionnement tubulaire marqué par une polyurie, une glycosurie et une diminution de l'expression corticale de la mégaline. L'absence du récepteur CB1 dans les podocytes améliore ces paramètres suggérant l'influence des lésions podocytaires sur la fonction des cellules épithéliales tubulaires dépendante du récepteur CB1 [39]. Les résultats de ces études renforcent l'intérêt thérapeutique de cibler le récepteur CB1 pour maintenir la fonction rénale.

Impact du SEC dans les autres organes périphériques

Les récepteurs CB1 sont également exprimés dans le muscle squelettique, où ils semblent réguler différents mécanismes essentiels liés au métabolisme et à la synthèse protéique. L'activation du SEC entraînerait également une diminution de la signalisation de l'insuline, ainsi que de la capture et de l'oxydation du glucose. Par ailleurs, dans des modèles murins d'obésité, l'expression des récepteurs CB1 dans le muscle squelettique est augmentée [21].

Dans le cœur, l'expression des récepteurs CB1 est également augmentée au cours de l'obésité. Cette augmentation est associée à une diminution du rythme cardiaque, de la pression sanguine et de la contractilité myocardique [40]. Dans un modèle murin de diabète de type 1, la délétion des récepteurs CB1 a prévenu le dysfonctionnement cardiaque induit par le diabète [41]. Le SEC provoque également une augmentation de l'inflammation, de la fibrose et du stress oxydatif dans le cœur, qui peut être en partie restaurée par l'injection quotidienne d'un antagoniste spécifique du récepteur CB1 par voie intrapéritonéale [41].

En conclusion, la modulation de l'activité des récepteurs CB1 peut s'avérer intéressante pour traiter diverses pathologies, telles que les troubles métaboliques, les maladies cardiovasculaires rénales, hépatiques, les troubles gastro-intestinaux et la douleur. Cependant, en raison de leur distribution ubiquitaire dans tout l'organisme, le blocage des récepteurs CB1 périphériques pourrait également entraîner des effets secondaires indésirables, ce qui implique une approche prudente lors du développement de composés antagonistes.

La thérapie du passé : le rimonabant

En 2006, le rimonabant (antagoniste du récepteur CB1) a été commercialisé pour traiter l'obésité et les problèmes liés au surpoids. En bloquant les récepteurs CB1 dans le cerveau, il avait pour effet de réduire l'appétit et ainsi de favoriser la perte de poids [42] tout en améliorant les paramètres associés à l'obésité comme l'hyperinsulinémie, la résistance à l'insuline, l'hyperglycémie et la dyslipidémie [43]. Initialement prometteur, le rimonabant a été retiré du marché en 2008, en raison de préoccupations liées à ses effets secondaires, notamment des problèmes psychiatriques tels que la dépression et les pensées suicidaires [44]. Bien que sa capacité à réduire le poids soit reconnue, ses risques potentiels pour la santé mentale ont conduit à son arrêt en tant que traitement de l'obésité. Il est toutefois important de noter que ces aspects ont été récemment remis en cause dans une revue visant à réexaminer les données sur la suicidalité présentées par la FDA à la lumière de l'évolution de son évaluation en les recoupant avec les données des essais cliniques publiés ultérieurement. Il en ressort notamment que le rimonabant présentait moins d'évènements psychiatriques que certains incrétino-mimétiques par rapport au placebo [45].

Cependant, ce retrait du marché pour le rimonabant a ouvert la porte à un champ de recherche mettant l'accent sur le développement de composés antagonistes pour le récepteur CB1 ne pouvant pas traverser la barrière hémato-encéphalique afin de minimiser les effets indésirables psychiatriques tout en conservant le bénéfice métabolique lié au blocage des récepteurs CB1 périphériques. Ces composés, qualifiés de « deuxième génération » et « troisième génération », ont principalement été élaborés comme des candidats thérapeutiques potentiels pour le syndrome métabolique ou d'autres affections dans lesquelles une suractivation des récepteurs CB1 périphériques contribue à la pathologie sous-jacent [46].

Les traitements en cours de développement

Antagonistes des récepteurs CB1 de deuxième génération

Le premier antagoniste du récepteur CB1 à action périphérique ayant été décrit est le composé AM6545, un antagoniste

Med Mal Metab 2025; 19: 100–109

puissant et sélectif des récepteurs CB1 dont la structure découle directement du rimonabant. Contrairement à ce dernier qui est un agoniste inverse, l'AM6545 est un antagoniste neutre qui bloque spécifiquement les récepteurs CB1 par simple compétition. Il a montré des effets significatifs sur la réduction du poids corporel et de la masse graisseuse chez les souris obèses [47–49]. Bien que n'ayant pas d'effet sur la masse maigre, ce composé a considérablement amélioré le profil métabolique des souris obèses [47,48]. Il a atténué la dyslipidémie (triglycérides sériques, cholestérol total, acides gras libres), l'intolérance au glucose, l'hyperinsulinémie, la dérégulation hormonale et la stéatose hépatique [47–50]. En ce qui concerne la néphropathie diabétique, l'AM6545 a réduit l'albuminurie induite par le diabète et a prévenu la perte de néphrine in vivo et in vitro dans les podocytes exposés à l'albumine glyquée [51]. Ainsi, une étude récente a démontré l'action multi-organes de ce composé impliquant plusieurs voies de signalisation dans le foie, le tissu adipeux et le tissu musculaire [52]. Cependant, ce composé étant très peu soluble et non biodisponible oralement, il n'a pas été sélectionné pour un développement clinique. Il reste toutefois un excellent outil pour les études mécanistiques.

Un autre composé, le JD5037 est, quant à lui, un agoniste inverse prometteur des récepteurs CB1 qui agit en inhibant leur activité naturelle. Le JD5037 a montré des implications significatives dans le traitement de troubles métaboliques tels que l'obésité, le diabète, les maladies hépatiques et les dyslipidémies [53]. Des études précliniques sur les rongeurs et les primates montrent que le JD5037 a des bienfaits thérapeutiques dans la suppression de la progression de la fibrose hépatique. Il s'est également révélé très efficace pour inhiber l'activation de la β-arrestine-2, un marqueur de la progression de cette maladie fibrotique. Administré au stade prédiabétique, ou après développement d'un diabète de type 2, il a permis de prévenir ou de renverser la pathologie [14] ainsi que de la néphropathie diabétique chez les rats Zucker [37]. De plus, dans un modèle d'îlots pancréatiques de patients ou souris souffrant de diabète de type 1, le JD5037 a bloqué l'initiation de l'insulite chez l'homme et la souris à travers l'inhibition de synthèse d'oxyde nitrique (NOS) par les îlots [54]. Dans ce dernier article, il a également été montré que cette molécule atténue l'inflammation des îlots pancréatiques dans le diabète de type 1, inflammation qui est également observée dans le diabète de type 2 [54].

De plus, le JD5037 a présenté des effets positifs sur les paramètres métaboliques associés à l'obésité et au diabète de type 2 dans divers modèles murins. Il a permis de réduire l'appétit, le poids corporel, la stéatose hépatique et la résistance à l'insuline, tout en améliorant la tolérance au glucose chez les souris obèses induites par l'alimentation [28,55]. Ces effets sur l'appétit et la perte de poids sont dus à plusieurs phénomènes, notamment, une diminution de l'expression et de la sécrétion de la leptine par les adipocytes, une augmentation de la clairance de la leptine *via* les reins [28], et une restauration de la sensibilité à la leptine endogène, provoquant une hypophagie par réactivation de la signalisation de la mélanocortine dans le noyau arqué [56] et/ou une diminution des taux de céramides [55]. Un traitement chronique quotidien avec JD5037 (3 mg/kg/j pendant 28 jours) a réduit le poids corporel, inversé l'hyperphagie et amélioré les paramètres métaboliques dans un modèle murin du syndrome de Prader-Willi d'obésité extrême [57]. Le JD5037 possède une affinité plus forte que SR141716 (antagoniste des récepteurs CB1) pour une isoforme humaine du récepteur CB1, appelée CB1b, qui est fortement exprimée dans les cellules β et les hépatocytes, mais pas dans le cerveau. Ce composé potentialise l'activation de l'adénylyl cyclase, stimulant ainsi la sécrétion d'insuline dans les cellules β [58]. Par conséquent, le JD5037 représente une avenue prometteuse pour le développement de thérapies ciblées et efficaces dans le domaine de la pharmacologie des cannabinoïdes. Ce composé est par ailleurs actuellement en développement clinique par la société Corbus Pharmaceuticals (CRB-4001) pour le traitement de l'obésité et des pathologies associées.

Antagonistes des récepteurs CB1 de troisième génération

Les antagonistes des récepteurs CB1 à restriction périphérique de troisième génération, appelés composés hybrides, ont été développés dans le but de cibler les récepteurs CB1 et une cible secondaire.

En 2016, Cinar et al. ont montré le potentiel thérapeutique du composé hybride récepteur CB1/iNOS (S)-MRI-1867 dans la fibrose hépatique. En effet, ce composé combine spécifiquement le blocage des récepteurs CB1 et l'inhibition de l'enzyme iNOS, cette dernière étant choisie comme cible secondaire en raison de son implication possible dans des troubles tels que la résistance à l'insuline, la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) et la fibrose hépatique. Dans cette étude, menée sur des souris DIO, les résultats montrent une amélioration du métabolisme lipidique lié à une réduction de la production de lipoprotéines hépatiques et à une augmentation de leur clairance plasmatique [59].

Suite à ces études, en 2019, Udi et al. ont constaté une augmentation de l'expression des récepteurs CB1 et de l'iNOS dans les tubules rénaux chez les patients atteints de maladies rénales chroniques. Les résultats mettent en évidence qu'un traitement avec le composé (S)-MRI-1867 améliore les changements morphologiques et fonctionnels des reins induits par l'obésité en réduisant l'inflammation rénale, la fibrose, le stress oxydatif et les lésions rénales. En complément, cette étude a permis de découvrir que les effets bénéfiques rénaux observés étaient partiellement associés à une modulation de la signalisation de l'adiponectine rénale [60].

En 2020, Roger et al. ont montré un intérêt pour ce même composé en raison de son potentiel dans le traitement de la dyslipidémie diabétique. Les résultats ont mis en évidence un

effet intéressant du composé (S)-MRI-1867 puisque le blocage des récepteurs CB1 a réduit la dyslipidémie en diminuant la production de VLDL alors que l'inhibition d'iNOS, quant à elle, a augmenté les niveaux de LDLR en réduisant PCSK9 [61].

À ce jour, le composé hybride (S)-MRI-1867, également connu sous le nom d'INV-101 ou zevaquenabant, fait l'objet d'études sur la fibrose pulmonaire idiopathique. Des études précliniques récentes ont mis en évidence une augmentation de l'expression des récepteurs CB1 dans les poumons des patients souffrant de fibrose pulmonaire ainsi que dans des modèles animaux [59,62]. Cela suggère que l'utilisation de l'INV-101 pourrait ralentir ou même inverser la progression de la fibrose pulmonaire. Ce composé est actuellement en cours de développement clinique par la société Inversago Pharma, une société de Novo Nordisk et a d'ores et déjà complété une étude clinique de phase 1 (NCT04531150).

En 2021, Liu et al. ont montré un intérêt pour un nouveau composé, le MRI-1891, un antagoniste biaisé du récepteur CB1 présentant une sélectivité accrue pour la voie de signalisation de la β-arrestine 2 par rapport à la voie des protéines G. Dans cette étude, menée sur des souris obèses de type sauvage et β-arrestine 2-knock-out, les résultats montrent qu'un traitement avec MRI-1891 réduit la prise alimentaire et le poids corporel et améliore l'hyper-leptinémie, la résistance à l'insuline et de l'intolérance au glucose induites par l'obésité sans provoquer d'anxiété. De plus, la résistance musculaire à l'insuline induite par l'obésité est améliorée par le MRI-1891 chez les souris de type sauvage, mais pas chez les souris β-arrestine 2-knock-out [63].

En 2023, Jacquot et al. se sont intéressés au composé hybride INV-202, également connu sous le nom de MRI-1891 ou monlunabant, capable de bloquer l'activité des récepteurs CB1 et de stimuler simultanément l'AMPK qui joue un rôle important en tant que régulateur du métabolisme énergétique et du stress oxydatif dans les cellules rénales. Cette étude *in vivo* démontre une amélioration globale des paramètres étudiés et impliqués dans le développement de la néphropathie diabétique, avec l'utilisation du composé INV-202 à deux concentrations différentes [64]. De plus, ce projet a participé à la mise en place des données précliniques ayant abouti à des essais cliniques avec ce composé par l'industriel Canadien Inversago Pharma (Novo Nordisk Compagny). Après avoir obtenu des résultats en phase 1b satisfaisants [65], une étude de phase 2 (NCT05514548) visant à évaluer les effets néphroprotecteurs de ce composé chez l'Homme est en cours. À cette dernière a été ajoutée une seconde étude de phase 2 incluant des patients atteints d'obésité (NCT05891834) et les résultats sont encourageants. En effet, après 16 semaines, les sujets obèses ayant reçu une dose quotidienne de 10 mg de monlunabant ont perdu en moyenne 7,1 kg, partant d'un poids initial de 110,1 kg, contre une perte de seulement 0,7 kg chez les participants sous placebo [66].

Récemment, Inversago Pharma a développé une nouvelle génération de bloqueurs des récepteurs CB1, INV-300 et INV-347 ciblant à la fois ces récepteurs CB1 ainsi que la signalisation de la β-arrestine. En effet, il est bon de rappeler que les récepteurs CB1 sont couplés aux protéines G qui interagissent elles-mêmes avec des ligands intracellulaires endogènes, mais également que la signalisation de la β-arrestine est essentielle pour réguler leur activité en favorisant leur désensibilisation et en déclenchant des voies de signalisation alternatives, permettant ainsi une régulation fine de la réponse cellulaire aux cannabinoïdes. À ce jour, INV-300 et INV-347 sont respectivement en étude de phase préclinique et de phase 1.

Perspectives

Les recherches actuelles visant à identifier des traitements efficaces contre les complications métaboliques liées à l'obésité et au diabète de type 2 ne se limitent pas à l'étude et au développement de nouvelles molécules à action mono-pharmacologiques.

À ce jour, il existe différentes stratégies de traitements combinés pour les patients atteints de diabète de type 2. Les composés les plus utilisés sont les incrétino-mimétiques, les inhibiteurs du co-transporteur sodium/glucose de type 2 (SGLT2) et les bloqueurs du système rénine angiotensine aldostérone (RAAS) [67]. Comme évoqué précédemment, l'utilisation de bloqueurs des récepteurs CB1, en exerçant une action multi-organes favorise la perte de poids, entraîne une amélioration du profil métabolique et exerce des effets anti-fibrotiques. Parallèlement, les études récentes révèlent que le blocage des récepteurs CB1 pourrait également représenter une option thérapeutique efficace pour la gestion des maladies métaboliques. Ainsi, une approche poly-pharmacologique combinant les bloqueurs des récepteurs CB1 avec un traitement standard utilisé actuellement en clinique pourrait être envisagée. Des études sont actuellement en cours.

Les antagonistes des récepteurs CB1 à action périphérique ne sont pas les seules molécules « futures » anti-obésité ou anti-diabétique. En effet, comme mentionné dans le paragraphe introductif, la pharmacologie des incrétino-mimétiques est en pleine évolution. Plusieurs études suggèrent que le GIP pourrait renforcer les effets des agonistes du récepteur GLP-1. Par conséquent, le tirzépatide, un composé double-agoniste GLP-1R/GIPR a été développé par le laboratoire Lilly et est actuellement à l'étude. Les premiers résultats montrent une réduction de la satiété induite par le GLP-1R combinée à une amélioration de la sensibilité à l'insuline liée à l'action de l'agoniste du GIPR chez les souris obèses insulinorésistantes [68] et chez l'Homme [69]. En 2023, Morningstar et collaborateurs ont mené une étude sur l'association du CRB-913, un nouvel agoniste inverse des récepteurs CB1 périphériques, avec les analogues de l'incrétine tels que le tirzepatide, le sémaglutide ou le liraglutide. Cette dernière a mis en évidence une efficacité additive de ces

Med Mal Metab 2025; 19: 100–109

combinaisons dans le modèle murin DIO, ce qui pourrait apporter des améliorations significatives aux normes de soins actuelles pour l'obésité et ses complications associées [70]. Par ailleurs, afin de proposer une gamme encore plus étendue de solutions pour le traitement du diabète de type 2 et des troubles physiopathologiques associés, les recherches sur les incrétino-mimétiques se poursuivent. À ce jour, un triple agoniste, le retatrutide, ciblant simultanément les récepteurs du GIP, du GLP-1 et du glucagon est en cours de développement [71]. Bien que moins étudié que les récepteurs CB1 dans ce contexte, les récepteurs CB2 semblent également impliqués dans la régulation de ces deux pathologies. Les récepteurs CB2 sont principalement exprimés dans les cellules immunitaires [72]. Une étude a montré qu'un traitement par JWH-133, un agoniste sélectif du récepteur CB2, atténue l'inflammation induite par le diabète, le stress oxydatif et la fibrose [73]. Cette propriété anti-inflammatoire est particulièrement intéressante dans le cadre du diabète de type 2, qui est souvent associé à une inflammation chronique de bas grade. Par conséquent, alors que le blocage des récepteurs CB1 a montré des effets bénéfiques sur le métabolisme chez les patients obèses et diabétiques de type 2, l'activation des récepteurs CB2 pourrait offrir une approche complémentaire en ciblant, par exemple, spécifiquement le processus de l'inflammation.

Conclusion

Les antagonistes des récepteurs CB1 à action périphérique de deuxième et troisième génération ciblent les voies métaboliques dérégulées au cours de l'obésité et au diabète de type 2. Les études précliniques et cliniques ont montré des résultats encourageants, notamment une amélioration du profil lipidique, une réduction de l'inflammation, du stress oxydatif au niveau des organes périphériques et un meilleur contrôle glycémique. Bien que des recherches supplémentaires soient nécessaires pour évaluer leur efficacité et leur sécurité à long terme chez les patients, ces antagonistes des récepteurs CB1 périphériques pourraient représenter, seuls ou en combinaison avec d'autres composés pharmacologies, une nouvelle classe thérapeutique prometteuse pour lutter contre l'obésité et le diabète de type 2 et leurs complications associées, tout en minimisant les effets secondaires potentiels sur le système nerveux central.

Déclaration de liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

[1] Faucher P, Poitou C. Physiopathologie de l'obésité. Rev Rhum Monogr 2016;83:6–12.

[2] Reed J, Bain S. A review of current trends with type 2 diabetes epidemiology, aetiology, pathogenesis, treatments and future perspectives. Diabetes Metab Syndr Obes 2021;14:3567–602.

[3] Boucher J, Kleinridders A. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. Cold Spring Harb Perspect Biol 2014;6:a009191.

[4] Sun S, et al. Mechanisms of inflammatory responses in obese adipose tissue. Annu Rev Nutr 2012;32:261–86.

[5] Magliano DJ, Boyko EJ, I.D.F.D.A.t.e.s. committee. IDF Diabetes Atlas. In: Idf diabetes atlas. Brussels: International Diabetes Federation© International Diabetes Federation; 2021.

[6] Ghasemi-Gojani E, Kovalchuk I, Kovalchuk O. Cannabinoids and terpenes for diabetes mellitus and its complications: from mechanisms to new therapies. Trends Endocrinol Metab 2022;33:828–49.

[7] Williams CM, Kirkham TC. Anandamide induces overeating: mediation by central cannabinoid (CB1) receptors. Psychopharmacology 1999;143:315–7.

[8] Matias I, Di Marzo V. Endocannabinoids and the control of energy balance. Trends Endocrinol Metab 2007;18:27–37.

[9] Kirkham TC, Williams CM, Fezza F, Di Marzo V. Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. Br J Pharmacol 2002;136:550–7.

[10] Jourdan T, et al. In: Ntambi JM, editor. Lipid signaling and metabolism, [p.. Academic Press; 2020p. 297–320, https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819404-1.00015-4.

[11] Kim W, et al. Cannabinoids inhibit insulin receptor signaling in pancreatic beta-cells. Diabetes 2011;60:1198–209.

[12] Gonzalez-Mariscal I, et al. Absence of cannabinoid 1 receptor in beta cells protects against high-fat/high-sugar diet-induced beta cell dysfunction and inflammation in murine islets. Diabetologia 2018;61:1470–83.

[13] Kim W, et al. Cannabinoids induce pancreatic beta-cell death by directly inhibiting insulin receptor activation. Sci Signal 2012;5:ra23.

[14] Jourdan T, et al. Activation of the Nlrp3 inflammasome in infiltrating macrophages by endocannabinoids mediates beta cell loss in type 2 diabetes. Nat Med 2013;19:1132–40.

[15] Jourdan T, et al. Developmental role of macrophage cannabinoid-1 receptor signaling in type 2 diabetes. Diabetes 2017;66:994–1007.

[16] Dewidar B, et al. Metabolic liver disease in diabetes – from mechanisms to clinical trials. Metabolism 2020;111S:154299.

[17] Tam J, et al. The therapeutic potential of targeting the peripheral endocannabinoid/CB(1) receptor system. Eur J Intern Med 2018;49:23–9.

[18] Osei-Hyiaman D, Liu J, Zhou L, Godlewski G, et al. Hepatic CB1 receptor is required for development of diet-induced steatosis, dyslipidemia, and insulin and leptin resistance in mice. J Clin Invest 2008;118:3160–9.

[19] Jourdan T, et al. CB1 antagonism exerts specific molecular effects on visceral and subcutaneous fat and reverses liver steatosis in diet-induced obese mice. Diabetes 2010;59:926–34.

[20] Jourdan T, et al. Antagonism of peripheral hepatic cannabinoid receptor-1 improves liver

lipid metabolism in mice: evidence from cultured explants. Hepatology 2012;55(3):790–9.
[21] Silvestri C, Ligresti A, Di Marzo V. Peripheral effects of the endocannabinoid system in energy homeostasis: adipose tissue, liver and skeletal muscle. Rev Endocr Metab Disord 2011;12:153–62.
[22] Teixeira-Clerc F, et al. CB1 cannabinoid receptor antagonism: a new strategy for the treatment of liver fibrosis. Nat Med 2006;12:671–6.
[23] Cristancho AG, Lazar MA. Forming functional fat: a growing understanding of adipocyte differentiation. Nat Rev Mol Cell Biol 2011;12:722–34.
[24] Cota D, et al. The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. J Clin Invest 2003;112:423–31.
[25] Pagano C, et al. The endogenous cannabinoid system stimulates glucose uptake in human fat cells via phosphatidylinositol 3-kinase and calcium-dependent mechanisms. J Clin Endocrinol Metab 2007;92:4810–9.
[26] Buch C, et al. Endocannabinoids produced by white adipose tissue modulate lipolysis in lean but not in obese rodent and human. Front Endocrinol (Lausanne) 2021;12:716431.
[27] Ruiz de Azua I, et al. Adipocyte cannabinoid receptor CB1 regulates energy homeostasis and alternatively activated macrophages. J Clin Invest 2017;127:4148–62.
[28] Tam J, et al. Peripheral cannabinoid-1 receptor inverse agonism reduces obesity by reversing leptin resistance. Cell Metab 2012;16:167–79.
[29] Kuipers EN, et al. High fat diet increases circulating endocannabinoids accompanied by increased synthesis enzymes in adipose tissue. Front Physiol 2018;9:1913.
[30] Rakotoarivelo V, Sihag J, Flamand N. Role of the endocannabinoid system inthe adipose tissue with focus on energy metabolism. Cells 2021;10:1279.
[31] Yan ZC, et al. Exercise reduces adipose tissue via cannabinoid receptor type 1 which is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor-delta. Biochem Biophys Res Commun 2007;354:427–33.
[32] Dao M, Francois H. Cannabinoid receptor 1 inhibition in chronic kidney disease: a new therapeutic toolbox. Front Endocrinol (Lausanne) 2021;12:720734.
[33] Lecru L, et al. Cannabinoid receptor 1 is a major mediator of renal fibrosis. Kidney Int 2015;88(1):72–84.
[34] Barutta F, et al. Cannabinoid receptor 1 blockade ameliorates albuminuria in experimental diabetic nephropathy. Diabetes 2010;59:1046–54.
[35] Nam DH, et al. Blockade of cannabinoid receptor 1 improves insulin resistance, lipid metabolism, and diabetic nephropathy in db/db mice. Endocrinology 2012;153:1387–96.
[36] Janiak P, et al. Blockade of cannabinoid CB1 receptors improves renal function, metabolic profile, and increased survival of obese Zucker rats. Kidney Int 2007;72:1345–57.
[37] Jourdan T, et al. Overactive cannabinoid 1 receptor in podocytes drives type 2 diabetic nephropathy. Proc Natl Acad Sci U S A 2014;111:E5420–28.
[38] Larrinaga G, et al. Expression of cannabinoid receptors in human kidney. Histol Histopathol 2010;25:1133–8.
[39] Jourdan T, et al. Cannabinoid-1 receptor deletion in podocytes mitigates both glomerular and tubular dysfunction in a mouse model of diabetic nephropathy. Diabetes Obes Metab 2018;20:698–708.
[40] Pacher P, et al. Modulation of the endocannabinoid system in cardiovascular disease: therapeutic potential and limitations. Hypertension 2008;52:601–7.
[41] Rajesh M, et al. Cannabinoid 1 receptor promotes cardiac dysfunction, oxidative stress, inflammation, and fibrosis in diabetic cardiomyopathy. Diabetes 2012;61:716–27.
[42] Curioni C, Andre C. Rimonabant for overweight or obesity. Cochrane Database Syst Rev 2006;2006:CD006162.
[43] Després JP, Golay A, Sjöström L, Rimonabant in Obesity-Lipids Study Group.. Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients withdyslipidemia. N Engl J Med 2005;353:2121–34.
[44] Christensen R, et al. Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. Lancet 2007;370:1706–13.
[45] Cohen Y, Kolodziej A, Morningstar M. Seventeen years since rimonabant's downfall: reassessing its suicidality risk profile. Obesity (Silver Spring) 2024;32(7):1235–44.
[46] Cinar R, Iyer MR. The therapeutic potential of second and third generation CB(1)R antagonists. Pharmacol Ther 2020;208:107477.
[47] Tam J, et al. Peripheral CB1 cannabinoid receptor blockade improves cardiometabolic risk in mouse models of obesity. J Clin Invest 2010;120:2953–66.
[48] Boon MR, et al. Peripheral cannabinoid 1 receptor blockade activates brown adipose tissue and diminishes dyslipidemia and obesity. FASEB J 2014;28:5361–75.
[49] Ma H, et al. Peripheral CB1 receptor neutral antagonist, AM6545, ameliorates hypometabolic obesity and improves adipokine secretion in monosodium glutamate induced obese mice. Front Pharmacol 2018;9:156.
[50] Bowles NP, et al. A peripheral endocannabinoid mechanism contributes to glucocorticoid-mediated metabolic syndrome. Proc Natl Acad Sci U S A 2015;112:285–90.
[51] Barutta F, et al. Dual therapy targeting the endocannabinoid system prevents experimental diabetic nephropathy. Nephrol Dial Transplant 2017;32:1655–65.
[52] Dalle S, et al. The molecular signature of the peripheral cannabinoid receptor 1 antagonist AM6545 in adipose, liver and muscle tissue. Toxicol Appl Pharmacol 2024;491:117081.
[53] Chorvat RJ, et al. JD-5006 and JD-5037: peripherally restricted (PR) cannabinoid-1 receptor blockers related to SLV-319 (Ibipinabant) as metabolic disorder therapeutics devoid of CNS liabilities. Bioorg Med Chem Lett 2012;22:6173–80.
[54] Wreven E, Ruiz de Adana MS, Hardivillé S, Gmyr V, Kerr-Conte J, Chetboun M, et al. Pharmaceutical targeting of the cannabinoid type 1 receptor impacts the crosstalk between immune cells and islets to reduce insulitis in humans. Diabetologia 2024;67(9):1877–96.
[55] Cinar R, et al. Hepatic cannabinoid-1 receptors mediate diet-induced insulin resistance by increasing de novo synthesis of long-chain ceramides. Hepatology 2014;59:143–53.
[56] Tam J, et al. Peripheral cannabinoid-1 receptor blockade restores hypothalamic leptin signaling. Mol Metab 2017;6:1113–25.
[57] Knani I, et al. Targeting the endocannabinoid/CB1 receptor system for treating obesity in Prader-Willi syndrome. Mol Metab 2016;5:1187–99.
[58] Gonzalez-Mariscal I, et al. Human CB1 receptor isoforms, present in hepatocytes and beta-cells, are involved in regulating metabolism. Sci Rep 2016;6:33302.
[59] Cinar R, Iyer MR, Liu Z. Hybrid inhibitor of peripheral cannabinoid-1 receptors and inducible nitric oxide synthase mitigates liver fibrosis. JCI Insight 2016;1:e87336.
[60] Udi S, et al. Dual inhibition of cannabinoid CB (1) receptor and inducible NOS attenuates obesity-induced chronic kidney disease. Br J Pharmacol 2020;177:110–27.
[61] Roger C, et al. Simultaneous inhibition of peripheral CB1R and iNOS mitigates obesity-related dyslipidemia through distinct mechanisms. Diabetes 2020;69:2120–32.
[62] Cinar R, et al. CB(1) R and iNOS are distinct players promoting pulmonary fibrosis in Hermansky-Pudlak syndrome. Clin Transl Med 2021;11:e471.
[63] Liu Z, et al. Functional selectivity of a biased cannabinoid-1 receptor (CB(1)R) antagonist. ACS Pharmacol Transl Sci 2021;4:1175–87.
[64] Jacquot L, et al. Therapeutic potential of a novel peripherally restricted CB1R inverse agonist on the progression of diabetic nephropathy. Front Nephrol 2023;3:1138416.
[65] Crater GD, et al. Effects of CB1R inverse agonist, INV-202, in patients with features of metabolic syndrome. A randomized, placebo-controlled, double-blind phase 1b study. Diabetes Obes Metab 2024;26:642–9.
[66] A/S, N.N., Monlunabant phase 2a trial in obesity successfully completed 2024. www.novonordisk.com/news-and-media/news-and-ir-materials/news-details.html?id=170501#:~:text=Novo%20Nordisk%20A%2FS%3A%20Monlunabant, 1 %20(CB1)%20inverse%20agonist.

[67] Ruze R, et al. Obesity and type 2 diabetes mellitus: connections in epidemiology, pathogenesis, and treatments. Front Endocrinol (Lausanne) 2023;14:1161521.
[68] Samms RJ, et al. GIPR agonism mediates weight-independent insulin sensitization by tirzepatide in obese mice. J Clin Invest 2021;131:e146353.
[69] Forzano I, Varzideh F, Avvisato R, Jankauskas SS, Mone P, Santulli G. Tirzepatide: a systematic update. Int J Mol Sci 2022;23:14631.
[70] Morningstar M, Kolodziej A, Ferreira S, Blumen T, Brake R, Cohen Y. Novelcannabinoid receptor 1 inverse agonist CRB-913 enhances efficacy of tirzepatide,semaglutide, and liraglutidein the diet-induced obesity mouse model. Obesity (Silver Spring) 2023;31:2676–88.
[71] Bailey CJ, Flatt PR, Conlon JM. Recent advances in peptide-based therapies for obesity and type 2 diabetes. Peptides 2024;173:171149.
[72] Howlett AC, Barth F, Bonner TI, et al. International union of pharmacology. XXVII. Classificationof cannabinoid receptors. Pharmacol Rev 2002;54:161–202.
[73] Rajesh M, et al. Cannabinoid receptor 2 activation alleviates diabetes-induced cardiac dysfunction, inflammation, oxidative stress, and fibrosis. Geroscience 2022;44:1727–41.

MODÈLE MURIN



Contrôle (ND)



Obèse (HFD)

COHORTE HUMAINE



Contrôle (CON)

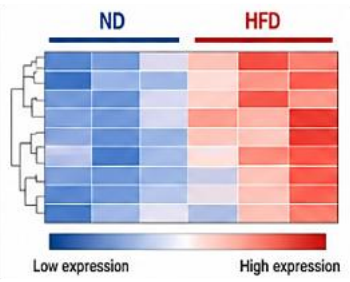


Sujets atteints d'obésité (OND)



Sujets atteints d'obésité et diabétiques (OD)

TISSU ADIPEUX VISCÉRAL – RNA-seq

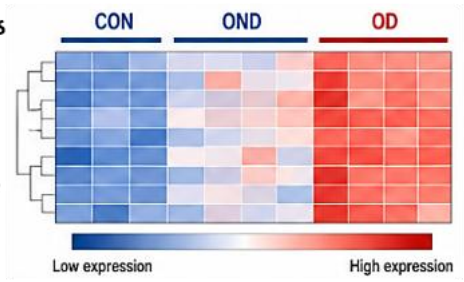


↗ Marqueurs inflammatoires

↘ Sensibilité à l'insuline

↗ Signalisation purinergique

↘ Fonction adipocytaire

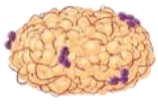


Les souris obèses et les personnes atteintes d'obésité et de diabète de type 2 présentent une signature transcriptomique commune indiquant un dysfonctionnement grave du tissu adipeux

SÉCRÉTION D'ENDOCANNABINOÏDES *EX VIVO*

Souris

ND



2-AG
AEA

<

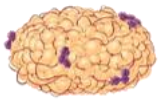
HFD



↗ 2-AG
↗ AEA

Humain

CON



2-AG
AEA

=

OND



2-AG
AEA

<

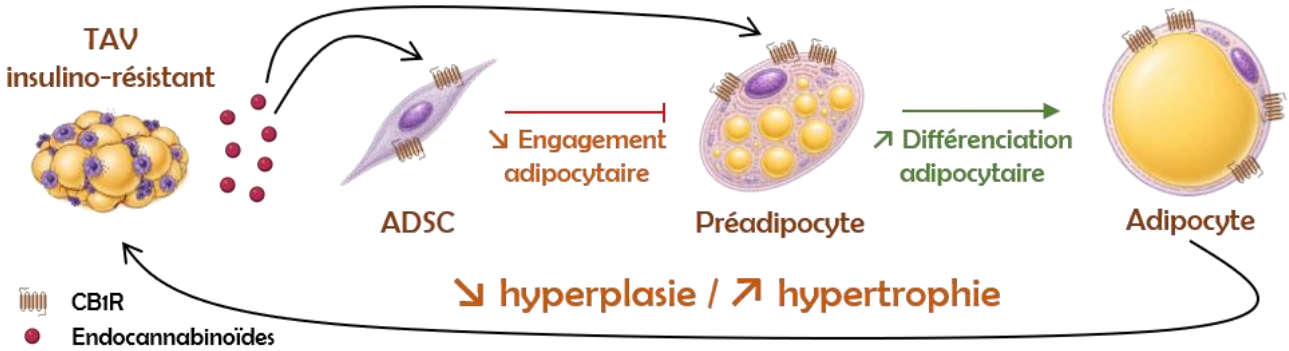
OD



↗ 2-AG
↗ AEA

La surproduction d'endocannabinoïdes par le tissu adipeux viscéral est associée à l'insulinorésistance et à une dysfonction tissulaire sévère, plutôt qu'à l'obésité seule

CONSÉQUENCE PROPOSÉE SUR L'ADIPOGENÈSE



Les endocannabinoïdes pourraient moduler la plasticité du tissu adipeux pathologique en favorisant l'hypertrophie et les désordres métaboliques associés.

Endocannabinoids produced by visceral and subcutaneous adipose tissue in mice and humans: Mechanisms of regulation and roles in the pathophysiology of obesity and type 2 diabetes.

Keywords: Obesity, Type 2 diabetes, Adipose tissue, Adipogenesis, Endocannabinoids, CB1R

Scientific background: Obesity and type 2 diabetes (T2D) are frequently associated with increased circulating levels of endocannabinoids (ECs), particularly 2-AG and anandamide, and these variations are linked to increased visceral fat mass as well as an unfavorable cardiometabolic profile. Several studies suggest that white adipose tissue constitutes a major source of these lipid mediators, positioning visceral adipose tissue (VAT) as a key site of endocannabinoid system dysregulation in states of insulin resistance and metabolic dysfunction. Furthermore, experimental data indicate that locally produced ECs can act in an autocrine manner via the CB1 receptor (CB1R) to modulate adipocyte functions, notably lipogenesis, lipolysis, and adipogenesis. Thus, this thesis aimed (1) to characterize, in mice and humans, EC production by different adipose depots under pathological conditions, and (2) to evaluate the impact of ECs on the adipogenic commitment of adipose tissue-derived stromal cells (ADSC).

Materials and Methods: For objective 1, C57BL/6J mice fed a standard diet or a high-fat diet were studied in parallel with control, obese non-diabetic, and obese diabetic patients. ECs were quantified in subcutaneous adipose tissue (SAT) and VAT, and bulk RNA-seq transcriptomic analysis was performed on VAT. For objective 2, previous transcriptomic analyses were combined with in vitro models: primary cultures of stromal vascular fraction (SVF) from lean or obese mice, 3T3-L1 preadipocyte cell line, and sorted ADSC, exposed to a CB1R agonist (ACEA) during the proliferative phase, then analyzed by Oil Red O staining, flow cytometry, and RT-qPCR of adipogenic commitment and differentiation markers.

Results: Objective 1 results show that insulin resistance, rather than obesity alone, is associated with EC overproduction specifically localized in VAT, whereas SAT remains relatively preserved. This overproduction is associated with VAT transcriptomic analysis showing a profoundly remodeled signature, marked by pro-inflammatory lipid profiles, altered insulin-dependent pathways, and dysregulated immune programs. For objective 2, CB1R activation during the proliferative phase of SVF cells globally reduces lipid accumulation and decreases expression of adipocyte markers such as Cd36, Fabp4, and Lpl, without major effects on Ki-67 in ADSC, suggesting a direct brake on adipogenic commitment rather than inhibition of proliferation. Comparable effects are observed in sorted ADSC from obese mouse SVF, where CB1R activation also appears associated with increased adipocyte size, in line with a globally attenuated transcriptomic signature of adipogenic commitment. This could thus favor dysfunctional adipocyte hyperplasia rather than healthy adipose tissue expansion.

Conclusion: These findings demonstrate that EC overproduction in insulin-resistant VAT is not only a marker of tissue dysfunction but also contributes to destabilizing the stromal niche and limiting adipogenic commitment of ADSC. They reinforce the notion that peripheral CB1R in VAT represents a privileged therapeutic target to restore more functional adipogenesis and attenuate metabolic complications of obesity and type 2 diabetes.

ÉCOLE DOCTORALE
Environnements - Santé

Les endocannabinoïdes produits par le tissu adipeux viscéral et sous-cutané chez la souris et l'Homme : Mécanismes de régulation et rôles dans la physiopathologie de l'obésité et du diabète de type 2.

Mots clés : Obésité, Diabète de type 2, Tissu adipeux, Adipogenèse, Endocannabinoïdes, CB1R

Contexte scientifique : L'obésité et le diabète de type 2 (DT2) s'accompagnent fréquemment d'une augmentation des taux circulants d'endocannabinoïdes (ECs), notamment de 2-AG et d'anandamide, et ces variations sont associées à une masse grasse viscérale accrue ainsi qu'à un profil cardiométabolique défavorable. Plusieurs travaux suggèrent que le tissu adipeux blanc constitue une source majeure de ces médiateurs lipidiques, ce qui positionne le tissu adipeux viscéral (TAV) comme un site clé de dérégulation du système endocannabinoïde dans les états d'insulinorésistance et de dysfonction métabolique. De plus, des données expérimentales indiquent que les ECs produits localement peuvent agir de manière autocrine *via* le récepteur CB1 (CB1R) pour moduler les fonctions adipocytaires, notamment la lipogenèse, la lipolyse et l'adipogenèse. Ainsi, cette thèse visait (1) à caractériser, chez la souris et l'Homme, la production d'ECs par les différents dépôts adipeux en conditions pathologiques, puis (2) à évaluer l'impact des ECs sur l'engagement adipocytaire des cellules stromales dérivées du tissu adipeux (ADSC).

Matériels et Méthodes : Pour l'objectif 1, des souris C57BL/6J nourries avec un régime standard ou un régime riche en graisses ont été étudiées en parallèle de patients témoins, obèses non diabétiques et obèses diabétiques. Les ECs ont été quantifiés dans le tissu adipeux sous-cutané (TASC) et le TAV, et une analyse transcriptomique par bulk RNA-seq a été réalisée sur le TAV. Pour l'objectif 2, les analyses transcriptomiques précédentes ont été combinées avec des modèles *in vitro* : primo-cultures de fraction stromale vasculaire (FSV) de souris minces ou obèses, lignée préadipocytaire 3T3-L1 et ADSC triées, exposées à un agoniste de CB1R (ACEA) pendant la phase proliférative, puis analysées par coloration Oil Red O, cytométrie en flux et RT-qPCR de marqueurs d'engagement et de différenciation adipocytaire.

Résultats : Les résultats de l'objectif 1 montrent que l'insulinorésistance, plutôt que l'obésité seule, est associée à une surproduction d'ECs spécifiquement localisée dans le TAV, alors que le TASC reste relativement préservé. Cette surproduction s'accompagne d'une signature transcriptomique du TAV profondément remaniée, marquée par des profils lipidiques pro-inflammatoires, une altération des voies insulinodépendantes et une dérégulation des programmes immunitaires. Pour l'objectif 2, l'activation de CB1R au cours de la phase proliférative des cellules de FSV réduit globalement l'accumulation lipidique et diminue l'expression de marqueurs adipocytaires tels que *Cd36, Fabp4 et Lpl,* sans effet majeur sur Ki-67 dans les ADSC, ce qui suggère un frein direct à l'engagement adipocytaire plutôt qu'une inhibition de la prolifération. Des effets comparables sont observés dans les ADSC triées à partir de la FSV de souris obèses, où l'activation de CB1R apparaît également associée à une augmentation de la taille des adipocytes, en accord avec une signature transcriptomique globalement atténuée de l'engagement adipogénique. Cela pourrait ainsi favoriser une hyperplasie adipocytaire dysfonctionnelle, plutôt qu'une expansion saine du tissu adipeux.

Conclusion : Ces travaux montrent que la surproduction d'ECs dans le TAV insulinorésistant n'est pas seulement un marqueur de dysfonction tissulaire, mais qu'elle contribue à déstabiliser la niche stromale et à limiter l'engagement adipocytaire des ADSC. Ils renforcent l'idée que le CB1R périphérique du TAV constitue une cible thérapeutique privilégiée pour restaurer une adipogenèse plus fonctionnelle et atténuer les complications métaboliques de l'obésité et du diabète de type 2.

ÉCOLE DOCTORALE
Environnements - Santé