

STATE OF BREAST IMMUNE CELLS IN OBESITY AND RISK OF BREAST CANCER DEVELOPMENT

Literature review

¹Alimkhodzhaeva L.T., ¹Zievedenova S.S., ²Ruzibakieva M.R.

¹Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Oncology
and Radiology

²Institute of Human Immunology and Genomics at the Academy of Sciences of
the Republic of Uzbekistan

Abstract: The review presents data from modern medical experimental studies on the state of immune cells of the mammary gland with obese and the possibility of the occurrence of tumors.

Key words: obesity; risk of developing breast cancer; inflammation; adipose tissue.

СОСТОЯНИЕ ИММУНЫХ КЛЕТОК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ОЖИРЕНИИ И РИСК РАЗВИТИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Обзор литературы

¹Алимходжаева Л.Т., ¹Зиеведенова С. С., ²Рузыбакиева М.Р.

¹Республиканский специализированный научно-практический
медицинский центр онкологии и радиологии

²Институт иммунологии и геномики человека при АН РУз

Резюме

В обзоре представлены данные современных медицинских экспериментальных исследований по изучению состояния иммунных клеток молочной железы при ожирении и возможности возникновения новообразований.

Ключевые слова: ожирение; риск развития рака молочной железы;

воспаление; жировая ткань.

Ожирение стало фактором риска для нескольких типов рака, включая рак молочной железы [1]. Однако ожирение оказывает различное воздействие на риск рака молочной железы в зависимости от того, прошла ли женщина через менопаузу [2]. Приращени ИМТ коррелирует с повышенным риском развития опухолей, экспрессирующих рецепторы эстрогена альфа (ERα) и прогестерона, после менопаузы. В отличие от этого, увеличенный риск развития тройного отрицательного рака молочной железы, характеризующегося отсутствием экспрессии гормональных рецепторов и HER2, менее ясен для женщин с ожирением после менопаузы [3-11]. Кроме патологических классификаций, прогресс в анализе экспрессии генов привел к выделению 5 основных молекулярных классификаций опухолей молочной железы: Люминаль А и В, которые отличаются экспрессией генов пролиферации/клеточного цикла и люминальных/гормональных регуляторных путей; HER2-обогащенный, который имеет высокую экспрессию HER2 и генов, связанных с пролиферацией, промежуточную экспрессию люминальных генов и низкую экспрессию базальных генов; Базальный, который имеет высокую экспрессию генов, связанных с пролиферацией, и кератины, связанные с базальным слоем кожи; и Клаудин-низкий. женщины с ожирением после менопаузы более склонны к развитию опухолей молекулярного подтипа Люминаль В, которые связаны с снижением выживаемости без рецидива. Кроме того, опухоли молекулярного подтипа Люминаль А у женщин с ожирением демонстрируют значительные различия в экспрессии генов, связанных с регуляцией клеточного цикла, сигнализацией p53 и mTOR, ремонтом ДНК и дисрегуляцией транскрипции по сравнению с опухолями у худых женщин. Дальнейшие исследования необходимы для более ясной оценки того, как ожирение влияет на риск для оставшихся молекулярных подтипов рака молочной железы.

Для изучения влияния ожирения на нераковые ткани были созданы и описаны множество моделей на мышах [12].

Хотя были разработаны генетические модели для изучения ожирения и пищевого поведения, наиболее часто используемые генетические модели для изучения ожирения в молочной железе связаны с лептином или его рецептором [13,14].

Мыши с дефицитом лептина или рецептора лептина не ограничивают прием пищи, что приводит к ожирению и связанным с ожирением заболеваниям [15]. Ожирение также моделируется с использованием ожирения, вызванного диетой, при котором избыток диетических калорий, обычно из-за диеты с высоким содержанием жиров, приводит к накоплению жира в организме в течение относительно длительного периода времени [16]. Мыши C57BL/6 широко используются для изучения ожирения и метаболических исследований, потому что при кормлении HFD с течением времени у мышей C57BL/6 развивается значительное увеличение веса и метаболические нарушения, соответствующие ожирению у людей [17-20]. Однако существенным недостатком этой модели является то, что мыши C57BL/6 устойчивы к развитию опухоли молочной железы [21].

Другие линии мышей, предрасположенные к образованию опухолей молочных желез, устойчивы к HFD-индуцированному ожирению [22,23].

Исследования ожирения различаются в зависимости от процентного содержания жира в рационе, используемого для стимуляции ожирения, стратегий кормления для стимуляции ожирения, а также состава рациона для повышения калорийности на основе как сахарозы, так и жира. Диеты с высоким содержанием жиров и сахарозы вызывают диабет II типа и часто используются для моделирования метаболического синдрома, который также связан с ожирением.

В то время как мыши являются часто используемой моделью ожирения, крысиные модели ожирения также хорошо охарактеризованы.

Модели беспородных крыс, включая крыс Wistar и Sprague-Dawley, получавших диеты, способствующие ожирению, могут быть

идентифицированы как склонные к ожирению или устойчивые к ожирению, что обеспечивает полезные модели диапазона восприимчивости к ожирению, наблюдаемого у людей

Жировая ткань молочной железы содержит резидентные макрофаги, которые происходят из макрофагов, происходящих из желточного мешка или печени плода, и обладают способностью к самообновлению у взрослых мышей [24-26]. Эта популяция надежно идентифицируется по экспрессии CD206 [24]. Резидентные макрофаги часто располагаются между адипоцитами и вдоль сосудов и выполняют гомеостатические функции, такие как регуляция метаболизма адипоцитов, устранение воспаления и удаление апоптотических клеток [25]. В молочной железе резидентные макрофаги также взаимодействуют как с люминальными, так и с базальными эпителиальными клетками [26] и играют роль в поддержании ниш эпителиальных стволовых клеток/клеток-предшественников [27, 28]. Критически важные для функции молочной железы после лактации резидентные макрофаги реконструируют молочную железу в процессе инволюции [29].

В то время как резидентные макрофаги играют роль в ранних изменениях в жировой ткани, связанных с ожирением [30], макрофаги костного мозга рекрутируются в жировую ткань в ответ на секрецию хемокина CCL2/MCP-1 стромальными клетками жировой ткани и адипоцитами. [31-34]. Ось CCL2/CCR2 играет важную роль в рекрутировании макрофагов при ожирении, поскольку генетическая делеция либо CCL2, либо CCR2 на мышинных моделях приводит к значительному снижению рекрутирования макрофагов в жировую ткань [35, 36]. Анализы экспрессии генов резидентных макрофагов и макрофагов, происходящих из костного мозга, при ожирении позволяют предположить, что существуют значительные функциональные различия между двумя типами макрофагов [37]. У мышей с ожирением макрофаги составляют 40% клеточных популяций висцерального жира по сравнению с 10% у худых мышей [38]. В жировой ткани молочной железы с ожирением макрофаги

образуют CLS для удаления мертвых адипоцитов и остатков адипоцитов [40]. Наличие CLS в жировой ткани молочной железы считается признаком ожирения [41-43]. Макрофаги в жировой ткани молочной железы мышей с ожирением, по-видимому, обладают уникальной метаболической активацией, которая может быть вызвана высвобождением жирных кислот адипоцитами, что приводит к отчетливому провоспалительному фенотипу [44,45]. В настоящее время неясно, взаимодействуют ли эти воспалительные популяции макрофагов с популяциями эпителиальных клеток в молочной железе или остаются связанными с адипоцитами. Однако недавнее исследование предполагает, что эти метаболически активированные макрофаги могут действовать в микроокружении опухоли, способствуя пролиферации агрессивных клеток внутри опухоли [46], предполагая, что эти макрофаги могут напрямую взаимодействовать с клетками карциномы.

В дополнение к секреции воспалительных цитокинов макрофаги в микроокружении с ожирением усиливают ремоделирование внеклеточного матрикса. Транскрипционное профилирование макрофагов человека из подкожной жировой ткани тучных людей продемонстрировало повышенные уровни компонентов внеклеточного матрикса, включая коллаген I типа, по сравнению с макрофагами худых людей [47]. Экспрессия лептина С-типа, индуцируемого макрофагами в CLS, способствовала интерстициальному фиброзу у мышей, получавших диету с высоким содержанием жиров, а снижение экспрессии Mincle в макрофагах приводило к значительному снижению фиброза жировой ткани [48]. В тканях молочной железы мышей с ожирением уровень белка внеклеточного матрикса, декорина, был значительно увеличен, окружая молочные протоки, а истощение макрофагов у мышей с ожирением привело к уменьшению отложения декорина [49], что позволяет предположить, что макрофаги активно участвуют в отложении внеклеточного матрикса, окружающего эпителиальные клетки. при ожирении. Макрофаги также влияют на экспрессию генов в соседних стромальных клетках.

Совместное культивирование преадипоцитов человека с макрофагами лиц с ожирением способствовало секреции компонентов внеклеточного матрикса преадипоцитами [50, 51]. Факторы, секретлируемые макрофагами, снижали способность стромальных клеток, полученных из жировой ткани, дифференцироваться в адипоциты [52], что свидетельствует о том, что воспаление, вызванное макрофагами, также может влиять на потенциал дифференцировки жировых стволовых клеток. В совокупности эти данные позволяют предположить, что макрофаги играют прямую и косвенную роль в фиброзе жировой ткани при ожирении.

Помимо макрофагов, в жировой ткани с ожирением увеличиваются популяции других клеток миелоидного происхождения. У мышей с нормальным весом нейтрофилы наблюдаются на низких уровнях по сравнению с другими иммунными клетками [53]. С началом ожирения у мышей значительно увеличивается популяция нейтрофилов в висцеральной жировой ткани; однако остается неясным, является ли это преходящим или стабильным событием на протяжении всего периода ожирения [54, 55]. Известно, что количество супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC) увеличивается в жировой ткани в условиях ожирения [56]. MDSC, которые подавляют воспаление, уменьшают пролиферацию и способствуют апоптозу Т-клеток, также могут способствовать фенотипу истощения CD8⁺ Т-клеток [57, 58]. Количество антигенпрезентирующих дендритных клеток также увеличивается в подкожной и висцеральной жировой ткани как у людей, так и у мышей [59-60], и дендритные клетки могут способствовать воспалению, вызванному ожирением [61, 62]. Дендритные клетки, выделенные от мышей с ожирением, вызванным диетой, демонстрировали повышенный провоспалительный фенотип с повышенной секрецией ИЛ-ф [63]. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что ожирение способствует притоку иммунных клеток в жировую ткань молочной железы, что приводит к увеличению воспалительных цитокинов в микроокружении.

В то время как клетки врожденной иммунной системы играют значительную роль в воспалении, вызванном ожирением, ожирение также изменяет адаптивные иммунные клетки в жировой ткани молочных желез. Как у мышей, получавших диету с высоким содержанием жиров, так и у мышей ob/ob количество регуляторных Т-клеток CD4⁺ было значительно снижено, в то время как Т-клетки CD8⁺ были увеличены в висцеральной жировой ткани по сравнению с контрольной группой. Эти изменения в популяциях Т-клеток предшествовали рекрутированию макрофагов в жировую ткань, что позволяет предположить, что CD8⁺ Т-клетки могут играть роль в инициации воспаления жировой ткани. Кроме того, кондиционированные среды, собранные из стромальных клеток, полученных из жировой ткани, у мышей с ожирением, обладали повышенной способностью стимулировать пролиферацию Т-клеток в культуре, чем кондиционированные среды от контрольных мышей, что может способствовать истощению Т-клеток, вызванному ожирением. Кроме того, было показано, что лептин, продуцируемый адипоцитами при ожирении, увеличивает окисление жирных кислот в CD8⁺ Т-клетках, что приводит к подавлению функций CD8⁺ Т-клеток и усилению иммуносупрессии [170]. Однако у людей изменения в популяциях Т-клеток менее постоянны, чем у мышей. Как в висцеральном, так и в подкожном жире регуляторные Т-клетки были значительно увеличены у пациентов с более высоким ИМТ, а влияние ожирения на рекрутирование CD8⁺ Т-клеток в жировую ткань человека было менее очевидным [64]. Понимание того, как ожирение изменяет популяции и функции Т-клеток в нормальной ткани молочной железы, может дать представление о риске рака молочной железы, поскольку снижение иммунного надзора может быть компонентом самых ранних стадий рака молочной железы [65].

Выводы:

Ожирение - это сложное заболевание, которое приводит к изменениям гормонов, цитокинов и метаболитов, а также к локальным изменениям в

микроокружении молочной железы. В окружающей жировой ткани ожирение вызывает хроническое воспаление, гипоксию жировой ткани, отложение внеклеточного матрикса и фиброз. Эти последствия ожирения в микроокружении молочной железы были связаны с ростом и прогрессированием опухоли молочной железы. Это говорит о том, что жировая ткань молочной железы до образования опухоли является средой, способствующей развитию опухоли, и может вносить значительный вклад в возникновение риска развития рака молочной железы.

Литература

1. Van den Brandt PA, Spiegelman D, Yaun SS, Adami HO, Beeson L, Folsom AR et al. Pooled analysis of prospective cohort studies on height, weight, and breast cancer risk. *Am J Epidemiol.* 2000;152(6). doi:10.1093/aje/152.6.514.
2. Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, van Gils CH, Khaw KT, Tehard B et al. Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer.* 2004;111(5). doi:10.1002/ijc.20315.
3. White AJ, Nichols HB, Bradshaw PT, Sandler DP. Overall and central adiposity and breast cancer risk in the Sister Study. *Cancer.* 2015;121(20). doi:10.1002/cncr.29552.
4. Sebastiani F, Cortesi L, Sant M, Lucarini V, Cirilli C, De Matteis E et al. Increased incidence of breast cancer in postmenopausal women with high body mass index at the Modena Screening Program. *J Breast Cancer.* 2016;19(3). doi:10.4048/jbc.2016.19.3.283.
5. Neuhauser ML, Aragaki AK, Prentice RL, Manson JE, Chlebowski R, Carty CL et al. Overweight, obesity, and postmenopausal invasive breast cancer risk: a secondary analysis of the Women's Health Initiative Randomized Clinical Trials. *JAMA Oncol.* 2015. doi:2319235 [pii];10.1001/jamaoncol.2015.1546 [doi].
6. Suzuki R, Orsini N, Saji S, Key TJ, Wolk A. Body weight and incidence of breast cancer defined by estrogen and progesterone receptor status--a meta-analysis. *Int J Cancer.* 2009;124(3). doi:10.1002/ijc.23943.

7. Chen L, Cook LS, Tang MT, Porter PL, Hill DA, Wiggins CL et al. Body mass index and risk of luminal, HER2-overexpressing, and triple negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2016;157(3). doi:10.1007/s10549-016-3825-9.
8. Ritte R, Lukanova A, Berrino F, Dossus L, Tjønneland A, Olsen A et al. Adiposity, hormone replacement therapy use and breast cancer risk by age and hormone receptor status: a large prospective cohort study. *Breast Cancer Res.* 2012;14(3). doi:10.1186/bcr3186.
9. Phipps AI, Chlebowski RT, Prentice R, McTiernan A, Stefanick ML, Wactawski-Wende J et al. Body size, physical activity, and risk of triple-negative and estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011;20(3). doi:10.1158/1055-9965.EPI-10-0974.
10. Barrett P, Mercer JG, Morgan PJ. Preclinical models for obesity research. *Dis Model Mech.* 2016;9(11):1245-55. doi:10.1242/dmm.026443. [PubMed: 27821603]
11. Coleman DL. Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia.* 1978;14(3):141-8. [PubMed: 350680]
12. Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. Obese, a new mutation in the house mouse. *J Hered.* 1950;41(12):317-8. doi:10.1093/oxfordjournals.jhered.a106073. [PubMed: 14824537]
13. Collins S, Martin TL, Surwit RS, Robidoux J. Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics. *Physiol Behav.* 2004;81(2):243-8. doi:10.1016/j.physbeh.2004.02.006. [PubMed: 15159170]
14. West DB, Boozer CN, Moody DL, Atkinson RL. Dietary obesity in nine inbred mouse strains. *Am J Physiol.* 1992;262(6 Pt 2):R1025-32. doi:10.1152/ajpregu.1992.262.6.R1025. [PubMed: 1621856]
15. Surwit RS, Kuhn CM, Cochrane C, McCubbin JA, Feinglos MN. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes.* 1988;37(9):1163-7. doi:10.2337/diab.37.9.1163. [PubMed: 3044882]
16. Montgomery MK, Hallahan NL, Brown SH, Liu M, Mitchell TW, Cooney GJ

et al. Mouse strain- dependent variation in obesity and glucose homeostasis in response to high-fat feeding. *Diabetologia*. 2013;56(5):1129-39. doi:10.1007/s00125-013-2846-8 [doi]. [PubMed: 23423668]

17. Olson LK, Tan Y, Zhao Y, Aupperlee MD, Haslam SZ. Pubertal exposure to high fat diet causes mouse strain-dependent alterations in mammary gland development and estrogen responsiveness. *Int J Obes*. 2010;34(9):1415-26. doi:10.1038/ijo.2010.51.

18. Panchal SK, Brown L. Rodent models for metabolic syndrome research. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:351982. doi:10.1155/2011/351982. [PubMed: 21253582]

19. Lutz TA, Woods SC. Overview of animal models of obesity. *Curr Protoc Pharmacol*. 2012;Chapter 5:Unit5.61. doi:10.1002/0471141755.ph0561s58.

20. Giles ED, Jackman MR, MacLean PS. Modeling diet-induced obesity with obesity-prone rats: implications for studies in females. *Front Nutr*. 2016;3:50. doi:10.3389/fnut.2016.00050.

21. Imaoka T, Nishimura M, Daino K, Morioka T, Nishimura Y, Uemura H et al. A rat model to study the effects of diet-induced obesity on radiation-induced mammary carcinogenesis. *Radiat Res*. 2016;185(5):505-15. doi:10.1667/rr14309.1. [PubMed: 27135968]

22. Schulz C, Gomez Perdiguero E, Chorro L, Szabo-Rogers H, Cagnard N, Kierdorf K et al. A lineage of myeloid cells independent of myb and hematopoietic stem cells. *Science*. 2012;336(6077). doi:10.1126/science.1219179.

23. Hassnain Waqas SF, Noble A, Hoang AC, Ampem G, Popp M, StrauB S et al. Adipose tissue macrophages develop from bone marrow-independent progenitors in *Xenopus laevis* and mouse. *J Leukoc Biol*. 2017;102(3). doi:10.1189/jlb.1A0317-082RR.

24. Jappinen N, Felix I, Lokka E, Tyystjarvi S, Pynttari A, Lahtela T et al. Fetal-derived macrophages dominate in adult mammary glands. *Nature Commun*. 2019;10(1):281. doi:10.1038/s41467-018-08065-1. [PubMed: 30655530]

25. Russo L, Lumeng CN. Properties and functions of adipose tissue macrophages in obesity. *Immunol.* 2018;155(4):407-17. doi:10.1111/imm.13002.
26. Stewart TA, Hughes K, Hume DA, Davis FM. Developmental stage-specific distribution of macrophages in mouse mammary gland. *Front Cell Dev Biol.* 2019;7:250. doi:10.3389/fcell.2019.00250. [PubMed: 31709255]
27. Gyorki DE, Asselin-Labat ML, van Rooijen N, Lindeman GJ, Visvader JE. Resident macrophages influence stem cell activity in the mammary gland. *Breast Cancer Res.* 2009;11(4):R62. doi:10.1186/bcr2353. [PubMed: 19706193]
28. Chakrabarti R, Celia-Terrassa T, Kumar S, Hang X, Wei Y, Choudhury A et al. Notch ligand Dll1 mediates cross-talk between mammary stem cells and the macrophageal niche. *Science.* 2018;360(6396). doi:10.1126/science.aan4153.
29. O'Brien J, Lyons T, Monks J, Lucia MS, Wilson RS, Hines L et al. Alternatively activated macrophages and collagen remodeling characterize the postpartum involuting mammary gland across species. *Am J Pathol.* 2010;176(3):1241-55. doi:10.2353/ajpath.2010.090735. [PubMed: 20110414]
30. Muir LA, Kiridena S, Griffin C, DelProposto JB, Geletka L, Martinez-Santibanez G et al. Frontline Science: Rapid adipose tissue expansion triggers unique proliferation and lipid accumulation profiles in adipose tissue macrophages. *J Leukoc Biol.* 2018;103(4):615-28. doi:10.1002/jlb.3hi1017-422r. [PubMed: 29493813]
31. Kanda H, Tateya S, Tamori Y, Kotani K, Hiasa K, Kitazawa R et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest.* 2006;116(6):1494-505. doi:10.1172/JCI26498. [PubMed: 16691291]
32. Oh DY, Morinaga H, Talukdar S, Bae EJ, Olefsky JM. Increased macrophage migration into adipose tissue in obese mice. *Diabetes.* 2012;61(2):346-54. doi:10.2337/db11-0860. [PubMed: 22190646]
33. Lumeng CN, Deyoung SM, Bodzin JL, Saltiel AR. Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. *Diabetes.* 2007;56(1):16-23. doi:10.2337/db06-1076. [PubMed: 17192460]

34. Kaplan JL, Marshall MA, C CM, Harmon DB, Garmey JC, Oldham SN et al. Adipocyte progenitor cells initiate monocyte chemoattractant protein-1-mediated macrophage accumulation in visceral adipose tissue. *Mol Metab.* 2015;4(11):779-94. doi:10.1016/j.molmet.2015.07.010. [PubMed: 26629403]
35. Weisberg SP, Hunter D, Huber R, Lemieux J, Slaymaker S, Vaddi K et al. CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *J Clin Invest.* 2006;116(1):115-24. doi:10.1172/JCI24335. [PubMed: 16341265]
36. Kim J, Chung K, Choi C, Beloor J, Ullah I, Kim N et al. Silencing CCR2 in macrophages alleviates adipose tissue inflammation and the associated metabolic syndrome in dietary obese mice. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2016;5:e280. doi:10.1038/mtna.2015.51. [PubMed: 26812653]
37. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003;112(12):1796-808. doi:10.1172/jci200319246. [PubMed: 14679176]
38. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest.* 2003;112(12):1821-30. doi:10.1172/jci200319451. [PubMed: 14679177]
39. Kraakman MJ, Murphy AJ, Jandeleit-Dahm K, Kammoun HL. Macrophage polarization in obesity and type 2 diabetes: weighing down our understanding of macrophage function? *Front Immunol.* 2014;5:470. doi:10.3389/fimmu.2014.00470. [PubMed: 25309549]
40. Kratz M, Coats BR, Hisert KB, Hagman D, Mutskov V, Peris E et al. Metabolic dysfunction drives a mechanistically distinct proinflammatory phenotype in adipose tissue macrophages. *Cell Metab.* 2014;20(4):614-25. doi:10.1016/j.cmet.2014.08.010. [PubMed: 25242226]
41. Boutens L, Hooiveld GJ, Dhingra S, Cramer RA, Netea MG, Stienstra R. Unique metabolic activation of adipose tissue macrophages in obesity promotes inflammatory responses. *Diabetologia.* 2018;61(4):942-53. doi:10.1007/s00125-017-

4526-6. [PubMed: 29333574]

42. Tiwari P, Blank A, Cui C, Schoenfelt KQ, Zhou G, Xu Y et al. Metabolically activated adipose tissue macrophages link obesity to triple-negative breast cancer. *J Exp Med*. 2019;216(6):1345- 58. doi:10.1084/jem.20181616. [PubMed: 31053611]

43. Henegar C, Tordjman J, Achard V, Lacasa D, Cremer I, Guerre-Millo M et al. Adipose tissue transcriptomic signature highlights the pathological relevance of extracellular matrix in human obesity. *Genome Biol*. 2008;9(1):R14. doi:10.1186/gb-2008-9-1-r14. [PubMed: 18208606]

44. Tanaka M, Ikeda K, Suganami T, Komiya C, Ochi K, Shirakawa I et al. Macrophage-inducible C- type lectin underlies obesity-induced adipose tissue fibrosis. *Nature Commun*. 2014;5:4982. doi:10.1038/ncomms5982. [PubMed: 25236782]

45. Chamberlin T, Thompson V, Hillers-Ziemer LE, Walton BN, Arendt LM. Obesity reduces mammary epithelial cell TGFp1 activity through macrophage-mediated extracellular matrix remodeling. *FASEB J*. 2020. doi:10.1096/fj.202000228RR.

46. Lacasa D, Taleb S, Keophiphath M, Miranville A, Clement K. Macrophage-secreted factors impair human adipogenesis: involvement of proinflammatory state in preadipocytes. *Endocrinol*. 2007;148(2):868-77. doi:10.1210/en.2006-0687.

47. Keophiphath M, Achard V, Henegar C, Rouault C, Clement K, Lacasa D. Macrophage-secreted factors promote a profibrotic phenotype in human preadipocytes. *Mol Endocrinol*. 2009;23(1):11-24. doi:10.1210/me.2008-0183. [PubMed: 18945811]

48. Ferrante AW. The immune cells in adipose tissue. *Diabetes Obes Metab*. 2013;15(0 3):34-8. doi:10.1111/dom.12154. [PubMed: 24003919]

49. Elgazar-Carmon V, Rudich A, Hadad N, Levy R. Neutrophils transiently infiltrate intra-abdominal fat early in the course of high-fat feeding. *J Lipid Res*. 2008;49(9). doi:10.1194/jlr.M800132- JLR200.

50. Talukdar S, Oh DY, Bandyopadhyay G, Li D, Xu J, McNelis J et al.

Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet through secreted elastase. *Nature Med.* 2012;18(9). doi:10.1038/nm.2885.

51. Xia S, Sha H, Yang L, Ji Y, Ostrand-Rosenberg S, Qi L. Gr-1⁺ CD11b⁺ myeloid-derived suppressor cells suppress inflammation and promote insulin sensitivity in obesity. *J Biol Chem.* 2011;286(26):23591-9. doi:10.1074/jbc.M111.237123. [PubMed: 21592961]

52. Kado T, Nawaz A, Takikawa A, Usui I, Tobe K. Linkage of CD8(+) T cell exhaustion with high-fat diet-induced tumorigenesis. *Sci Rep.* 2019;9(1):12284. doi:10.1038/s41598-019-48678-0. [PubMed: 31439906]

53. Reynolds CM, McGillicuddy FC, Harford KA, Finucane OM, Mills KH, Roche HM. Dietary saturated fatty acids prime the NLRP3 inflammasome via TLR4 in dendritic cells-implications for diet-induced insulin resistance. *Mol Nutr Food Res.* 2012;56(8):1212-22. doi:10.1002/mnfr.201200058. [PubMed: 22700321]

54. Bertola A, Ciucci T, Rousseau D, Bourlier V, Duffaut C, Bonnafous S et al. Identification of adipose tissue dendritic cells correlated with obesity-associated insulin-resistance and inducing Th17 responses in mice and patients. *Diabetes.* 2012;61(9):2238-47. doi:10.2337/db11-1274. [PubMed: 22596049]

55. Stefanovic-Racic M, Yang X, Turner MS, Mantell BS, Stolz DB, Sumpter TL et al. Dendritic cells promote macrophage infiltration and comprise a substantial proportion of obesity-associated increases in CD11c⁺ cells in adipose tissue and liver. *Diabetes.* 2012;61(9):2330-9. doi:10.2337/db11-1523. [PubMed: 22851575]

56. Cho KW, Zamarron BF, Muir LA, Singer K, Porsche CE, DelProposto JB et al. Adipose tissue dendritic cells are independent contributors to obesity-induced inflammation and insulin resistance. *J Immunol.* 2016;197(9):3650-61. doi:10.4049/jimmunol.1600820. [PubMed: 27683748]

57. Feuerer M, Herrero L, Cipolletta D, Naaz A, Wong J, Nayer A et al. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nat Med.* 2009;15(8):930-9. doi:10.1038/nm.2002. [PubMed: 19633656]

58. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M et al. CD8⁺ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med.* 2009;15(8):914-20. doi:10.1038/nm.1964. [PubMed: 19633658]
59. Yang H, Youm YH, Vandanmagsar B, Ravussin A, Gimble JM, Greenway F et al. Obesity increases the production of proinflammatory mediators from adipose tissue T cells and compromises TCR repertoire diversity: implications for systemic inflammation and insulin resistance. *J Immunol.* 2010;185(3):1836-45. doi:10.4049/jimmunol.1000021. [PubMed: 20581149]
60. Rausch ME, Weisberg S, Vardhana P, Tortoriello DV. Obesity in C57BL/6J mice is characterized by adipose tissue hypoxia and cytotoxic T-cell infiltration. *Int J Obes.* 2008;32(3):451-63. doi:10.1038/sj.ijo.0803744.
61. Zhang C, Yue C, Herrmann A, Song J, Egelston C, Wang T et al. STAT3 activation-induced fatty acid oxidation in CD8(+) T effector cells is critical for obesity-promoted breast tumor growth. *Cell Metab.* 2020;31(1):148-61.e5. doi:10.1016/j.cmet.2019.10.013. [PubMed: 31761565]
62. Zeyda M, Huber J, Prager G, Stulnig TM. Inflammation correlates with markers of T-cell subsets including regulatory T cells in adipose tissue from obese patients. *Obesity.* 2011;19(4). doi:10.1038/oby.2010.123.
63. Travers RL, Motta AC, Betts JA, Bouloumie A, Thompson D. The impact of adiposity on adipose tissue-resident lymphocyte activation in humans. *Int J Obesity.* 2015;39(5). doi:10.1038/ijo.2014.195.
64. Duffaut C, Zakaroff-Girard A, Bourlier V, Decaunes P, Maumus M, Chiotasso P et al. Interplay between human adipocytes and T lymphocytes in obesity: CCL20 as an adipochemokine and T lymphocytes as lipogenic modulators. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(10). doi:10.1161/ATVBAHA.109.192583.
65. Adhikary S, Hoskin TL, Stallings-Mann ML, Arshad M, Frost MH, Winham SJ et al. Cytotoxic T cell depletion with increasing epithelial abnormality in women with benign breast disease. *Breast Cancer Res Treat.* 2020;180(1):55-61.

