

TRANSFERTS GRAISSEUX AU NIVEAU DU SEIN : implications oncologiques

J-L. NIZET (1), A. GONZALEZ (2), O. PEULEN (3), V. CASTRONOVO (4)

RESUME : Les transferts graisseux au niveau du sein sont un des grands progrès de la chirurgie plastique mammaire. Ce lipomodelage fonctionne dans des conditions techniques déterminées, et pose peu de questions cliniques, car les résultats sont significatifs et durables. Cependant, dans les séquelles de traitement conservateur du cancer du sein, se posent les problèmes de la surveillance par imagerie de ces transferts graisseux, et surtout de l'innocuité du transfert de graisse au niveau du sein.

MOTS-CLÉS : *Cancer du sein - Transfert de graisse - Etudes expérimentales*

Les transferts graisseux au niveau du sein sont un des grands progrès de la chirurgie plastique mammaire. Les aspects techniques ne sont pas envisagés dans cet article.

La technique de transfert graisseux (lipomodelage du sein pour Delay) est considérée comme validée lorsqu'elle est réalisée sur un site de mastectomie totale, que ce soit en complément d'une reconstruction par lambeau de grand dorsal, en adjonction pour les reconstructions par prothèse, ou même en lipomodelage exclusif répété (1).

Cependant, le lipomodelage dans les séquelles de traitement conservateur est controversé, vu le risque de coïncidence entre le lipomodelage et la récurrence locale. C'est l'objet de cet article.

De nombreuses études (2, 3) totalisant plus de 1.500 cas ont été publiées sans montrer une augmentation du risque de récurrence locale, ni une plus grande difficulté de diagnostic, même si une grande étude européenne (non encore publiée, discutée au congrès BC3 de Washington) semble aller dans un sens différent, avec une augmentation du nombre de récurrences locales après lipomodelage (4).

AUTOLOGOUS FAT GRAFTING IN THE BREAST : ONCOLOGICAL IMPLICATIONS

SUMMARY : Autologous fat grafting for breast is increasing dramatically. This fat injection needs accurate technical conditions, and shows very good and long-lasting clinical results. Nevertheless, in breast conservative treatment sequelae, fat injection could lead to difficulties in breast imaging, but also there is some concerns about the potential oncologic risks of these procedures.

KEYWORDS : *Breast Cancer - Fat injection - Experimental studies*

DÉTECTION D'UNE RÉCIDIVE OU D'UN NOUVEAU CANCER

La nécrose graisseuse (cystostéatonecrose) au niveau du sein peut être rencontrée dans de nombreuses circonstances cliniques : après biopsie, tumorectomie, radiothérapie, réduction mammaire, changement de prothèses ou dans certaines affections : traitement anti-coagulant, vascularité (lupus, maladie de Weber-Christian),... Elle peut aussi survenir après lipomodelage (5).

La phase initiale de cette nécrose graisseuse implique les phénomènes inflammatoires classiques, suivis par de la fibrose et des remaniements, pouvant mener à des calcifications. Si, dans les années 80, des craintes ont été émises sur les difficultés de diagnostics différentiels mammographiques entre ces nécroses graisseuses et des récurrences néoplasiques, les progrès de l'imagerie, couplés aux macro-biopsies éventuelles, permettent actuellement des diagnostics précis (6).

ETUDES FONDAMENTALES

En 2009, l'American Society of Plastic Surgeons a mis sur pied une commission visant à analyser l'innocuité et l'efficacité des greffes autologues de tissu adipeux. La conclusion de la commission mentionne qu'aucune publication ne met en lumière un risque accru de récurrence de cancer du sein après un lipomodelage (6). Cependant, aucune étude n'atteint les critères préalablement définis par la commission pour être considérée comme valide. La majorité des études cliniques rassemble de petites séries de

(1) Chef de Service, Service de Chirurgie Plastique et Maxillo-Faciale, CHU de Liège.

(2) Chercheur Télévie, (3) Professeur Adjoint, (4) Professeur Ordinaire, Laboratoire de Recherche sur les Métastases, CHU de Liège.

patients, avec un suivi limité dans le temps, une définition peu précise du statut du cancer chez ces patients ou l'absence d'un groupe contrôle (7, 8).

D'un point de vue fondamental, un problème majeur existe dans le cadre particulier de la reconstruction mammaire après traitement conservateur. Il concerne l'interaction, directe ou non, qui peut exister entre le tissu adipeux greffé et les cellules cancéreuses mammaires de l'hôte (9). Ces interactions restent à ce jour peu étudiées et controversées, tant *in vitro* que *in vivo*. Néanmoins, des arguments forts sont en faveur d'un effet pro-cancéreux du tissu adipeux ou de ses composants.

LES RÉPONSES DES ÉTUDES *IN VITRO*

Les premiers résultats obtenus *in vitro* sont basés sur l'utilisation d'une lignée cellulaire dénommée 3T3-L1 et dérivée de fibroblastes murins (10). Ces cellules, sous des conditions adéquates, acquièrent un phénotype adipocyte-like. Elles synthétisent et accumulent alors les triglycérides et sont sensibles aux hormones lipogéniques et lipolytiques (insuline, adrénaline, ...). L'utilisation de cette lignée résulte des difficultés techniques rencontrées lors de l'utilisation d'adipocytes uniloculaires. Ces difficultés sont liées, d'une part, à la taille importante et à la fragilité des adipocytes et, d'autre part, à leur densité inférieure à celle de tout liquide aqueux, ce qui rend leur culture dans des systèmes classiques impossible.

Les cellules 3T3-L1 produisent des facteurs solubles qui stimulent la prolifération des cellules mammaires normales de souris (NMMG), mais pas celle de cellules cancéreuses mammaires humaines (MCF-7) oestrogéno-dépendantes (11). Cette absence d'induction de la prolifération des cellules MCF-7 est surprenante compte tenu du fait que les cellules 3T3-L1 expriment le gène codant pour l'aromatase (12) et sont donc susceptibles de produire des oestrogènes. De plus, le milieu conditionné par les cellules 3T3-L1 induit dans les mêmes cellules MCF-7 la transcription de gènes impliqués dans la promotion de la tumorigénèse, comme IGF2, FOS, JUN, cycline D1, et dans le potentiel invasif, comme MMP1, ATF3 (13). La même lignée adipocyte-like s'est cependant montrée capable de stimuler la croissance d'une lignée cancéreuse mammaire murine dénommée SP1 par l'intermédiaire de la production d'Hepatocyte Growth Factor (HGF) (14).

La lignée préadipocytaire murine (OP9) différenciée en adipocytes produit des facteurs solu-

bles qui stimulent la prolifération et le potentiel de migration des cellules cancéreuses mammaires (MDA-MB-231) (15). Ce potentiel migratoire des cellules MDA-MB-231 est également accru, via la production d'interleukine-6, par les cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux humain (Adipose Stromal Cells - ASC) (16).

L'utilisation des Adipose Stromal Cells dans des systèmes de coculture en présence de cellules cancéreuses mammaires humaines (MDA-MB-231) influence positivement la prolifération et le potentiel invasif des cellules cancéreuses par l'intermédiaire de la libération du facteur CCL5 (17).

Une étude a tenté de replacer des adipocytes uniloculaires de rat dans un contexte tridimensionnel grâce à une culture de ceux-ci au sein d'une matrice de collagène de type I. Différentes lignées (MCF-7, ZR75-1, T47-D et MMT 060562) de cellules cancéreuses mammaires humaines étaient également dispersées dans cette matrice. Parmi celles-ci, celles qui étaient oestrogéno-dépendantes (MCF-7, ZR75-1, T47-D) forment des colonies dont la taille croît avec la présence des adipocytes dans la matrice (18). Certaines cellules cancéreuses adhèrent aux adipocytes et les utilisent comme substrat de croissance.

Au-delà des études concernant les cancers mammaires, une approche semblable à celle décrite par Manabe et al. (18), et réalisée à l'aide de cellules cancéreuses de côlon (Caco-2, T84 et HT-29), a permis de montrer que le tissu adipeux (adipocytes uniloculaires et/ou préadipocytes) murin accroissait significativement la prolifération des cellules cancéreuses (19). De façon intéressante, l'effet pro-prolifératif des adipocytes est levé lorsque ces cellules proviennent de souris obèses (ob/ob) mutées au niveau du gène codant pour la leptine. Ceci suggère un lien entre l'induction de la prolifération et la présence de leptine.

Les adipocytes ne sont plus uniquement considérés comme des réserves énergétiques de triglycérides, mais comme des cellules endocrines complexes (pour revue, voir 20). En effet, les adipocytes produisent une abondance de molécules qui peuvent influencer le comportement des cellules voisines, y compris accroître la prolifération ou le potentiel invasif de cellules cancéreuses mammaires. Parmi ces substances on retrouve : les acides gras (21), la leptine (22, 23), des cytokines (16), ...

TABLEAU I. RÉSUMÉ DES DIFFÉRENTS RÉSULTATS OBTENUS DANS LE CADRE DE L'ÉTUDE DES INTERACTIONS ENTRE LE TISSU ADIPEUX OU UN DE SES COMPOSANTS ET DES CELLULES CANCÉREUSES MAMMAIRES

Tissu adipeux		Cancer		in vitro - in vivo	Procancer	Références
Cellules	Espèce	Lignées	Espèce			
3T3-L1	souris	MCF-7	humain	<i>In vitro</i>	Non Oui	Johnston et al., 1992 (11) Iyengar et al., 2003 (13)
3T3-L1	souris	SP1	souris	<i>In vitro</i>	Oui	Rahimi et al., 1994 (14)
OP9	souris	MDA-MB231	humain	<i>In vitro</i>	Oui	Kim et al., 2009 (15)
ASC	humain	MDA-MB231	humain	<i>In vitro</i>	Oui	Walter et al., 2009 (16) Pinilla et al., 2009 (17)
ADPC	rat	MCF-7 ZR75-1 T47-D	humain	<i>In vitro</i>	Oui	Manabe et al., 2003 (18)
ADPC	rat	MMT060562	humain	<i>In vitro</i>	Non	Manabe et al., 2003 (18)
TA	souris	SP1	souris	<i>In vivo</i>	Oui	Elliott et al., 1992 (24)
3T3-L1	souris	SUM159PT	humain	<i>In vivo</i>	Oui	Iyengar et al., 2003 (13)
TA	souris	MMTV-PyMT	souris	<i>In vivo</i>	Oui	Iyengar et al., 2005 (25)

ASC = Adipose Stromal Cells, ADPC = adipocytes uniloculaires, TA = tissu adipeux.

LES RÉPONSES DES ÉTUDES IN VIVO

Il a été démontré très tôt que le tissu adipeux murin était susceptible d'accroître la croissance et le potentiel métastatique de la lignée SP1 (24). Cette croissance accrue était dépendante de la présence d'œstrogènes.

L'injection à des souris de cellules cancéreuses mammaires d'origine humaine (SUM159PT) produit des tumeurs de taille plus importante lorsque ces cellules sont injectées conjointement à des cellules 3T3-L1 (13).

L'utilisation d'un modèle murin générant spontanément des tumeurs mammaires (Mouse Mammary Tumor Virus/Polyoma virus Middle T oncogene - MMTV-PyMT) et modifié génétiquement pour produire ou non du collagène de type VI, principalement produit par les adipocytes, indique que la présence de ce collagène influence positivement la croissance tumorale (25).

En dehors du cadre des cancers mammaires, il a été démontré que la coinjection sous-cutanée ou intracrânienne de cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux humain (Adipose Stromal Cells) et de cellules cancéreuses pulmonaires (H460) ou de glioblastomes (U87MG) avait un effet promoteur de la croissance tumorale (26). Un résultat comparable a été obtenu en utilisant des cellules de cancer de la prostate (MDA PCa 118b) (27) ou du sein (4T1) (28).

Outre l'aspect pro-prolifératif vis-à-vis des cellules cancéreuses, le tissu adipeux humain issu d'obèses (IMC moyen = 46,5 kg/m², N = 36) stimule l'angiogenèse sur membrane chorioallantoïque de poulet. Cette angiogenèse est abolie par l'ajout d'anticorps neutralisant le VEGF humain (bêvacizumab) (29). Or, il est largement reconnu que l'angiogenèse est un facteur de pronostic important dans le cadre du cancer du sein (30, 31).

PERSPECTIVES

À la lecture des lignes précédentes et comme on peut s'en apercevoir dans le tableau I, une conclusion est frappante. Aucune publication ne s'intéresse à l'interaction directe qui peut exister entre le tissu adipeux, ou du moins les adipocytes uniloculaires matures, d'origine humaine et les cellules cancéreuses mammaires. Les études qui s'en approchent le plus ne s'intéressent qu'aux cellules souches dérivées du tissu adipeux.

Il est donc urgent de répondre de façon univoque à ces questions fondamentales concernant le tissu adipeux humain, tel qu'il est réinjecté lors de procédures de lipomodélage :

- influence-t-il *in vitro* la prolifération, l'invasion, la migration de cellules cancéreuses mammaires d'origine humaine;

- influence-t-il *in vivo* la croissance de tumeurs formées à partir de cellules cancéreuses mammaires d'origine humaine;

- influence-t-il *in vivo* la récurrence d'un cancer à partir d'un nombre subliminaire de cellules cancéreuses;

- est-il capable de provoquer l'induction ou la promotion de cellules cancéreuses mammaires.

Malheureusement, la grande variabilité des caractéristiques des tissus adipeux, ainsi que les difficultés technologiques liées à l'expérimentation sur le tissu adipeux, rendent l'accès à ces questions peu aisé.

CONCLUSION

Concernant ces questions essentielles au niveau des sciences fondamentales, notre laboratoire a plusieurs études en cours, orientées principalement sur les trois points suivants :

1) caractérisation de la suspension d'adipocytes obtenue à partir du tissu adipeux sous-cutané pour le lipomodélage;

2) effet de la présence des adipocytes sur des cellules cancéreuses mammaires humaines, dans des modèles de co-culture;

3) effet de la présence des adipocytes sur le développement des tumeurs mammaires humaines expérimentales dans un modèle *ex ovo* utilisant un modèle original de tumeur humaine développée à la surface de la membrane chorio-allantoïdienne de l'œuf embryonné de poule.

Ces recherches devraient donc pouvoir déterminer si des adipocytes transférés lors du lipomodélage du sein représentent un danger potentiel de récurrence locale dans le cas où des cellules cancéreuses seraient encore présentes dans le sein opéré.

BIBLIOGRAPHIE

1. Delay E, Moutran M, Toussoun G, et al.— Apport des transferts graisseux en reconstruction mammaire. *Encyclopédie Médico-chirurgicale*, 2011, **1**, 45-665D.
2. Delay E, Garson S, Toussoun G, et al.— Fat injection to the breast : technique, results and indications based on 880 procedures over 10 years. *Aesthet Surg J*, 2009, **29**, 360-376.
3. Rigotti G, Marchi A, Stringhini P, et al.— Determining the oncological risk of autologous lipoaspirate grafting for post-mastectomy breast reconstruction. *Aesthet Plast Surg*, 2010, **34**, 475-480.
4. Breast Cancer Coordinated care. Washington February 3-5, 2011 - <http://www.bc3conference.com/> - Consultation du 27 février 2011.
5. Delay E, Gosset J, Toussoun G, et al.— Séquelles thérapeutiques du sein après traitement conservateur du cancer du sein. *Ann Chir Plast Esthet*, 2008, **2**, 135-152.
6. Gutowski et ASPS Fat Graft Task Force.— Current applications and safety of autologous fat grafts : a report of the ASPS fat graft task force. *Plast Reconstr Surg*, 2009, **124**, 272-280.
7. Petit JY, Clough K, Sarfati I, et al.— Lipofilling in breast cancer patients : from surgical technique to oncologic point of view. *Plast Reconstr Surg*, 2010, **126**, 262-263.
8. Fraser J, Hedrick M, Cohen S.— Oncologic risks of autologous fat grafting to the breast. *Aesthet Surg J*, 2011, **31**, 68-75.
9. Mojallal A, Saint-Cyr M, Garrido I.— Autologous fat transfer : controversies and current indications for breast surgery. *Aesthet Surg J*, 2009, **62**, 708-710.
10. Green H, Kehinde O.— An established preadipose cell line and its differentiation in culture. II. Factors affecting the adipose conversion. *Cell*, 1975, **5**, 19-27.
11. Johnston P, Rondinone C, Voeller D, et al.— Identification of a protein factor secreted by 3T3-L1 preadipocytes inhibitory for the human MCF-7 breast cancer cell line. *Cancer Research*, 1992, **52**, 6860.
12. Yamada K, Harada N.— Expression of estrogen synthetase (P-450 aromatase) during adipose differentiation of 3T3-L1 cells. *Bioch Biophys Res Com*, 1990, **169**, 531-536.
13. Iyengar P, Combs T, Shah S, et al.— Adipocyte-secreted factors synergistically promote mammary tumorigenesis through induction of anti-apoptotic transcriptional programs and proto-oncogene stabilization. *Oncogene*, 2003, **22**, 6408-6423.
14. Rahimi N, Saulnier R, Nakamura T, et al.— Role of hepatocyte growth factor in breast cancer : a novel mitogenic factor secreted by adipocytes. *DNA Cell Biol*, 1994, **13**, 1189-1197.
15. Kim KY, Baek A, Park YS, et al.— Adipocyte culture medium stimulates invasiveness of MDA-MB-231 cell via CCL20 production. *Oncol Rep*, 2009, **22**, 1497-1504.
16. Walter M, Liang S, Ghosh S, et al.— Interleukin 6 secreted from adipose stromal cells promotes migration and invasion of breast cancer cells. *Oncogene*, 2009, **28**, 2745-2755.
17. Pinilla S, Alt E, Abdul Khalek FJ, et al.— Tissue resident stem cells produce CCL5 under the influence of cancer cells and thereby promote breast cancer cell invasion. *Cancer letters*, 2009, **284**, 80-85.
18. Manabe Y, Toda S, Miyazaki K, et al.— Mature adipocytes, but not preadipocytes, promote the growth of breast carcinoma cells in collagen gel matrix culture through cancer-stromal cell interactions. *J Pathol*, 2003, **201**, 221-228.
19. Amemori S, Ootani A, Aoki S, et al.— Adipocytes and preadipocytes promote the proliferation of colon cancer cells *in vitro*. *Am J Physiol Gast Liver Physiol*, 2007, **292**, 923-929.
20. Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR.— Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol*, 2010, **316**, 129-139.
21. Soto-Guzman A, Navarro-Tito N, Castro-Sanchez L, et al.— Oleic acid promotes MMP-9 secretion and invasion in breast cancer cells. *Clin Exp Metastasis*, 2010, **27**, 505-515.
22. Perera C, Chin H, Duru N, et al.— Leptin-regulated gene expression in MCF-7 breast cancer cells : mechanistic insights into leptin-regulated mammary tumor growth and progression. *J Endocrinol*, 2008, **199**, 221-233.
23. Grossmann M, Ray A, Nkhata K, et al.— Obesity and breast cancer : status of leptin and adiponectin in pathological processes. *Cancer Met Rev*, 2010, **29**, 641-653.

24. Elliott B, Tam SP, Dexter D, et al.— Capacity of adipose tissue to promote growth and metastasis of a murine mammary carcinoma : effect of estrogen and progesterone. *Int J Cancer*, 1992, **51**, 416-424.
25. Iyengar P, Espina V, Williams T, et al.— Adipocyte-derived collagen VI affects early mammary tumor progression *in vivo*, demonstrating a critical interaction in the tumor/stroma microenvironment. *J Clin Invest*, 2005, **115**, 1163-1176.
26. Yu JM, Jun ES, Bae YC, et al.— Mesenchymal stem cells derived from human adipose tissues favor tumor cell growth *in vivo*. *Stem Cells Devel*, 2008, **17**, 463-473.
27. Prantl L, Muehlberg F, Navone N, et al.— Adipose tissue-derived stem cells promote prostate tumor growth. *Prostate*, 2010, **70**, 1709-1715.
28. Muehlberg F, Song YH, Krohn A, et al.— Tissue-resident stem cells promote breast cancer growth and metastasis. *Carcinogenesis*, 2009, **30**, 589-597.
29. Ledoux S, Queguiner I, Msika S, et al.— Angiogenesis associated with visceral and subcutaneous adipose tissue in severe human obesity. *Diabetes*, 2008, **57**, 3247-3257.
30. Giovannini M, Aldrighetti D, Zucchinelli P, et al.— Antiangiogenic strategies in breast cancer management. *Crit Rev Oncol/Hematol*, 2010, **76**, 13-35.
31. Parrish J, Metzinger S.— Autogenous fat grafting and breast augmentation : a review of the literature. *JPRAS*, 2010, **30**, 549-556.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Pr J.L. Nizet, Service de Chirurgie Plastique et Maxillo-Faciale, CHU de Liège, 4000 Liège, Belgique
E-mail : jlnizet@chu.ulg.ac.be