



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Immunometabolism in osteoarthritis

Jong, A.J. de

Citation

Jong, A. J. de. (2018, February 20). *Immunometabolism in osteoarthritis*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/59469>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/59469>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/59469> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Jong, Anja de

Title: Immunometabolism in osteoarthritis

Date: 2018-02-20

Chapter 8

Nederlandse samenvatting

Osteoartrose (OA) is een heterogene aandoening die alle gewrichten van het lichaam kan treffen, maar het komt vooral voor in heup-, knie- en handgewrichten. Lang dacht men dat OA enkel een ziekte was die veroorzaakt wordt door slijtage, maar tegenwoordig wordt het gezien als een complexere ziekte waarbij ontstekingsfactoren en alle gewrichtscompartimenten, zoals kraakbeen, bot en het gewrichtsvlies (synovium) een rol spelen [1, 2]. Overgewicht is een belangrijke factor die geassocieerd is met de ontwikkeling en progressie van OA. Oorspronkelijk werd gedacht dat de toegenomen druk op de gewrichten de oorzaak is, maar de associatie tussen OA en obesitas is niet alleen voor gewicht dragende gewrichten [3-5], maar ook voor niet-gewicht dragende gewrichten zoals de handen [5-7]. Dit suggereert dat niet alleen mechanische factoren een rol spelen bij de associatie tussen OA en obesitas, maar ook systemische factoren. Deze kunnen onder andere bestaan uit milde ontstekingsreacties, een verstoord lipide metabolisme, glucose metabolisme en/of adipokines [4].

Immunometabolisme is een nieuw veld dat immunologie met metabolisme verbind. Hierbij wordt niet alleen gekeken naar de interactie tussen de stofwisseling van het lichaam en het immuunsysteem, maar ook naar de interactie tussen de stofwisseling op cellulair niveau en de immuuncel functies.

Van vetweefsel werd lang aangenomen dat het fungeert als energieopslag van het lichaam, maar inmiddels is aangetoond dat vetweefsel een metabool en endocrien actief orgaan is dat het hele lichaam kan beïnvloeden [8-10]. Met overgewicht zijn er allerlei veranderingen waar te nemen in het vetweefsel: de adipocyten (ofwel vetcellen) vergroten, immuuncellen infiltreren het vetweefsel en pro-inflammatoire adipocytokines worden uitgescheiden. Dit zorgt ervoor dat het vetweefsel een algehele pro-inflammatoire staat krijg in plaats van de anti-inflammatoire staat bij een normaal gewicht.

In het kniegewricht zit een vetlichaam, genaamd Hoffa's vetlichaam, waarvan gedacht wordt dat het een belangrijke rol kan spelen in OA. Echter, de contributie van Hoffa's vetlichaam bij de ontstekingsprocessen in het gewricht en het effect van obesitas op het vetlichaam zijn onbekend. Daarom hebben we in het eerste deel van het proefschrift Hoffa's vetlichaam gekarakteriseerd zowel op cellulair als moleculair niveau om de mogelijke rol van Hoffa's vetlichaam in de pathofysiologie van OA te bepalen.

Als eerste stap hebben we in de studies beschreven in **hoofdstuk 2** Hoffa's vetlichaam van reumatoïde artritis (RA) patiënten met Hoffa's vetlichaam van OA patiënten vergeleken. In beide ziekten speelt ontsteking een rol, maar RA heeft over het algemeen gesproken meer ontsteking in het synovium [11] en het synoviale vocht [12-14] dan OA. We hebben de hoeveelheid van adipocytokines uitgescheiden door het vetlichaam (vet-geconditioneerd medium) en adipocyten (adipocyten-geconditioneerd medium) bepaald en vonden dat zowel vetlichaam als adipocyten in staat zijn om verschillende adipocytokines uit te scheiden. Echter, er bleek geen verschil te zijn tussen RA en OA patiënten.

Het karakteriseren van Hoffa's vetlichaam op cellulair niveau liet zien dat Hoffa's vetlichaam van RA-patiënten wel een hoger cel aantal heeft dan Hoffa's vetlichaam van OA patiënten, maar de percentages van de verschillende cel subsets, zoals T cellen, macrofagen en endotheelcellen waren vergelijkbaar tussen RA en OA patiënten. Het enige waargenomen verschil was het percentage mestcellen, dit percentage was lager in OA patiënten ten opzichte van RA patiënten. Deze bevindingen zijn in tegenstelling met de bevindingen van het synovium zoals beschreven in **hoofdstuk 2** en [11]. Onze bevindingen suggereren dat Hoffa's vetlichaam een verwaarloosbare rol speelt in de ontsteking van andere weefsels in het gewricht zoals het synovium of synoviaalvocht van RA patiënten aangezien er geen verschil is in het profiel van uitgescheiden adipocytokines tussen RA patiënten en OA patiënten. Echter, het aantal cellen in Hoffa's vetlichaam zou wel de hogere cellulair ontsteking in het gewricht van RA patiënten kunnen vertegenwoordigen. Zoals verwacht is er een verhoogd aantal cellen in Hoffa's vetlichaam van RA patiënten ten opzichte van Hoffa's vetlichaam in OA patiënten. RA patiënten hebben namelijk vaak een hogere ontsteking dan OA patiënten. Echter, het is verrassend dat de aard van de ontsteking in Hoffa's vetlichaam vergelijkbaar was tussen het Hoffa's vetlichaam van RA en OA patiënten, aangezien RA gezien wordt als een auto-immuunziekten in tegenstelling tot OA.

In het vetlichaam zijn verschillende immuuncellen aanwezig. Van T cellen wordt gedacht dat ze een grote rol spelen bij de milde ontsteking in vetweefsel [15-18]. Meerdere studies hebben aangetoond dat T cellen in het vetweefsel een beperkt T cel receptor (TCR) repertoire hebben [15, 17-19]. Dit suggereert dat ze clonale uitbreiding hebben ondergaan en waarschijnlijk vetweefsel antigenen herkennen. Verrassend genoeg zijn T cellen uit Hoffa's vetlichaam in staat om direct *ex vivo*

IL-6 uit te scheiden [20]. Dit suggereert dat deze T cellen recent geactiveerd zijn, misschien wel in het vetlichaam zelf. Daarom hebben we in de studies beschreven in **hoofdstuk 3** deze IL-6 positieve populatie verder onderzocht en gekarakteriseerd. We bevestigden de bevinding dat CD4⁺ T cellen uit Hoffa's vetlichaam in staat zijn om IL-6 direct *ex vivo* uit te scheiden en konden deze IL-6 positieve T cellen ook in synovium, bloed en subcutaan vetweefsel aantonen.

Fenotypische karakterisering liet zien dat deze IL-6⁺ CD4⁺ T cellen conventionele (TCR $\alpha\beta$) T cellen zijn met een specifiek geactiveerd geheugen, wat onze hypothese ondersteunt dat ze recent zijn geactiveerd. Daarnaast hebben we cytokine-productie en chemokine-receptor expressie levels bepaald waaruit bleek dat we deze populatie niet aan een bepaalde T helper subset kunnen toewijzen. Verder onthulde TCR β gen-analyse dat IL-6⁺ CD4⁺ T cellen een andere TCR β gebruik hebben dan IL-6⁻ CD4⁺ T cellen, dit zou kunnen betekenen dat IL-6⁺ CD4⁺ T cellen andere antigenen herkennen dan hun IL-6⁻ tegenhangers.

Aangezien eerdere studies hebben gesuggereerd dat er een samenspraak is tussen adipocyten en T cellen [21, 22], hebben we de locatie van de IL-6⁺ CD4⁺ T cellen in het vetlichaam bepaald. We vonden dat de IL-6⁺ CD4⁺ T cellen verspreid liggen door het vetlichaam. Verder vonden we dat adipocyten in staat waren om IL-6 productie door CD4⁺ T cellen te verhogen. Ook al blijft de functie van de IL-6⁺ CD4⁺ T cellen onduidelijk, het is heel goed mogelijk dat deze cellen op hun beurt adipocyten kunnen beïnvloeden, temeer omdat aangezien van IL-6 bekend is dat het de lipolyse van adipocyten kan verhogen. Dit beperkt de toename in grootte van adipocyten beperkt [23, 24], en suggereert dat er inderdaad een samenspraak is tussen adipocyten en T cellen, waar IL-6⁺ CD4⁺ T cellen een regulatoire functie hebben bij de ontsteking in het vetlichaam en daardoor een rol kunnen spelen in de pathofysiologie van OA.

Obesitas staat bekend als een belangrijke risicofactor voor de ontwikkeling en progressie van OA [3-7]. Daarnaast gaat obesitas vaak gepaard met ontsteking van het vetweefsel. In de studies beschreven in **hoofdstuk 4** hebben we de mogelijke invloed van obesitas op Hoffa's vetlichaam bij OA patiënten beschreven, omdat kennis hierover ontbreekt. Verrassend genoeg konden we geen obesitas gerelateerde veranderingen in Hoffa's vetlichaam aan tonen; we onderzochten het volume van Hoffa's vetlichaam, het volume en formaat van de adipocyten,

de zogenaamde “crown-like structures”, de infiltrerende immuuncellen en de cytokines die door het vetlichaam, de adipocyten en de immuuncellen uitgescheiden worden.

Het blijft onduidelijk waarom obesitas gerelateerde kenmerken niet aanwezig zijn in Hoffa's vetlichaam. Een verklaring hiervoor zou kunnen zijn dat er simpelweg te weinig ruimte is in het gewricht waardoor Hoffa's vetlichaam beperkt is in zijn groei. Maar het zou ook kunnen dat de adipocyten in Hoffa's vetlichaam metabool minder actief zijn en daardoor beperkt zijn in de opname van vetzuren en de opslag in vetdruppels, waardoor ze gehinderd zijn in hun vermogen om te groeien met obesitas. De onmogelijkheid van de adipocyten om te groeien zou dan het hele proces van hun dood, infiltratie van macrofagen en andere immuuncellen, dat normaal gesproken plaats vindt in vetweefsel, kunnen voorkomen en daardoor ook het optreden van ontsteking. Of adipocyten in Hoffa's vetlichaam echt minder metabolisch zijn moet verder onderzoek uitwijzen.

In onze studie konden we geen obesitas gerelateerde veranderingen in Hoffa's vetlichaam vinden. Hieruit blijkt dat dit vetlichaam zich anders dan vetweefsel zoals bijvoorbeeld subcutaan vetweefsel gedraagt. Deze bevindingen worden ondersteund door de bevindingen dat Hoffa's vetlichaam metabool actiever is dan ander vetweefsel zoals subcutaan vetweefsel [25-28]. Ook al weten we niet wat de cellulaire bron is, we hebben wel gevonden dat de secretie van TNF α door Hoffa's vetlichaam BMI-afhankelijk is (hoofdstuk 4 en Klein-Wieringa et al. [26]). Aangezien TNF α is betrokken bij de pathofysiologie van OA, zou het Hoffa's vetlichaam op deze manier een rol kunnen spelen.

Ook al hebben we geen obesitas gerelateerde kenmerken gevonden in Hoffa's vetlichaam, we hebben wel macrofagen geïdentificeerd die geassocieerd zijn met een anti-inflammatoir fenotype (CD206 en CD163) terwijl ze pro-inflammatoire cytokines (TNF α en IL-6) uitscheiden. Aangezien CD163⁺ is betrokken bij wondgenezing [29-31] en ontsteking [32-36] hebben we deze macrofaag subpopulatie verder onderzocht. Daarbij hebben we gevonden dat CD163⁺ macrofagen in Hoffa's vetlichaam pro-inflammatoir, groter en meer geactiveerd zijn vergeleken met hun CD163⁻ tegenhangers. Aangezien deze CD163⁺ macrofagen groter en actiever zijn, zou dit kunnen betekenen dat deze macrofagen dode adipocyten hebben opgeruimd en daarbij vetten hebben opgenomen. Dit zou

kunnen betekenen dat deze CD163⁺ macrofagen een belangrijke rol spelen in vetweefsel ontsteking en daarbij betrokken zijn bij de pathofysiologie van OA.

Eerdere bevindingen laten zien dat CD4⁺ T cellen de cellulaire basis kunnen zijn voor de associatie tussen synovitis en pijn in de knie van OA patiënten [20]. Aangezien de uitscheiding van vetzuren door Hoffa's vetlichaam is geassocieerd met BMI en vetzuren CD4⁺ T cellen kunnen beïnvloeden zou dit de correlatie tussen het percentage CD4⁺ T cellen in het OA synovium en met BMI kunnen verklaren. Daarom is het van belang dat de mechanismen waarmee vetzuren T cellen kunnen beïnvloeden bestudeerd worden. Daarvoor hebben we in het tweede deel van dit proefschrift onderzocht hoe vrije vetzuren hun effect uitoefenen op CD4⁺ T cellen. Hiervoor hebben we eerst in **hoofdstuk 5** een overzicht gemaakt van de bestaande literatuur met betrekking tot de effecten van vrije vetzuren en lipide mediators (geoxideerde vetzuren) op T cellen en hun functie. In dit overzicht hebben we een model voorgesteld hoe vrije vetzuren hun effect op T cellen uitoefenen. Ook al is het mechanisme nog onbekend, het is wel duidelijk dat vrije vetzuren de cel in gaan. In de cel kunnen ze geïncorporeerd worden in neutrale vetzuren zoals fosfolipiden, triglyceriden en cholesterolesters. Lage concentraties van vetzuren kunnen proliferatie en cytokineproductie opwekken, terwijl hoge concentraties van vetzuren kunnen leiden tot depolarisatie van het mitochondriale membraan. Dit kan geprogrammeerde celdood en apoptose tot gevolg hebben.

Eerder is beschreven dat vetzuren in staat zijn om de proliferatie van CD4⁺ T cellen op te wekken [37], maar het onderliggende mechanisme voor de verhoogde proliferatie is onbekend. Hypothetisch zijn meerdere mechanismes mogelijk: vetzuren kunnen 1) gebruikt worden als bouwsteen voor dochter cellen, 2) afgebroken worden door vetzuur oxidatie en als energiebron dienen, of 3) de signalering van de T cel beïnvloeden. Daarom was ons doel in de studies beschreven in **hoofdstuk 6** om meer inzicht te verkrijgen in de onderliggende mechanismes van de verhoogde proliferatie van CD4⁺ T cellen in de aanwezigheid van vetzuren. In ons onderzoek hebben we oliezuur gebruikt, want hiervan is bekend dat het de proliferatie van CD4⁺ T cellen kan verhogen. We vonden dat oliezuur in staat is om proliferatie te induceren, zelfs als het verwijderd werd na 24 uur. Dit suggereert dat de geïnduceerde veranderingen in een vroeg stadium plaatsvinden. Dit wordt ook ondersteund door de vinding dat na 24 uur meer ³H-Thymidine geïncorporeerd is, wat suggereert dat de cellen zich voorbereiden op celdeling.

Om het effect van oliezuur op het metabolisme van de cellen te bepalen hebben we functionele analyses naar het metabolisme uitgevoerd en vonden we dat zowel glycolyse als oxidatieve fosforylering niet beïnvloed werden door het toevoegen van oliezuur. Deze bevindingen suggereren dat oliezuur niet gebruikt wordt als energiebron door de T cel. Uitgebreide analyse van het metabolisme van de T cellen toonde aan dat oliezuur wel een bescheiden verandering oproep in de glycolyse (fosfoenolpyruvaat), tussenproducten van de citroenzuurcyclus (citraat) en de pyrimidine synthese, maar dat oliezuur hier zelf niet voor gebruikt werd. Verder toonde de analyse van het metabolisme aan dat oliezuur niet afgebroken wordt, maar geïncorporeerd wordt in fosfatidylcholine. Wanneer oliezuur werd toegevoegd in een hogere concentratie werd het ook in triglycerides geïncorporeerd.

Oliezuur toevoeging resulteerde niet in veranderingen in basale levels van de calciumflux, maar de calciumflux was wel verhoogd na T cel receptor stimulatie in aanwezigheid van oliezuur. Ook al was de calciumflux wel beïnvloed door oliezuur, de fosforylatie van ZAP70 was niet beïnvloed.

Toekomstperspectieven

De data beschreven in dit proefschrift laten zien dat obesitas-gerelateerde kenmerken, die normaal gesproken aanwezig zijn in vetweefsel, niet aanwezig zijn in Hoffa's vetlichaam. Echter, dit impliceert niet dat Hoffa's vetlichaam helemaal geen rol heeft in de pathofysiologie van OA. Hoffa's vetlichaam kan nog steeds een belangrijke rol spelen door het uitscheiden van vetzuren of mogelijk andere mechanismen. Om verder uit te zoeken wat de rol van Hoffa's vetlichaam is in de pathofysiologie van OA is het belangrijk om meerdere onderzoekslijnen op te zetten.

Aangezien IL-6⁺ T cellen een rol kunnen spelen in de pathofysiologie van OA zou verder onderzoek zich moeten richten op de mogelijke samenspraak tussen adipocyten en IL-6⁺ T cellen in Hoffa's vetlichaam en de daarbij behorende signalen. Daarnaast zou onderzocht moeten worden of vetzuren, die uitgescheiden kunnen worden door adipocyten in Hoffa's vetlichaam in staat zijn om de IL-6 productie van T cellen te verhogen. Deze studies zouden uit kunnen wijzen of deze IL-6⁺ T cellen een regulatoire rol hebben in Hoffa's vetlichaam.

Verder zou het effect van obesitas op Hoffa's vetlichaam verder onderzocht moeten worden aangezien een recente studie met een populatie van patiënten met een hoog BMI enkele obesitas-gerelateerde kenmerken in Hoffa's vetlichaam heeft aangetoond. Maar de mogelijkheid dat de adipocyten in Hoffa's vetlichaam minder metabool actief zijn dan de adipocyten in subcutaan vetweefsel moet ook onderzocht worden. Daarnaast is het belangrijk om de bron van TNF α te vinden, aangezien deze op een BMI-afhankelijke manier uitgescheiden wordt door het vetweefsel en TNF α betrokken is in de pathofysiologie van OA.

Zoals eerder beschreven kunnen CD4⁺ T cellen de cellulaire basis zijn voor de associatie tussen synovitis en pijn in de knie van OA patiënten. Vetzuren zouden wellicht het onderliggende mechanisme kunnen zijn dat hier ten grondslag ligt. Daarom is het van belang om de mechanismen waarmee vetzuren T cellen kunnen beïnvloeden te ontrafelen. Uit onze studies blijkt dat oliezuur eigenlijk niet gebruikt wordt als energiebron voor de delende cellen, maar het lijkt wel een bouwsteen voor de dochtercellen te kunnen zijn en de signalering van de T cel te kunnen beïnvloeden. Echter, verder onderzoek is nog nodig. Het blijft namelijk onduidelijk of de verhoogde synthese van pyrimidine door de toevoeging van oliezuur nu belangrijk is voor de progressie door de celcyclus of dat de pyrimidines juist gebruikt worden voor DNA-synthese of lipide synthese. Daarnaast is het onbekend in welke membranen de oliezuur bevattende fosfatidylcholines geïncorporeerd worden. Inbouw van deze fosfatidylcholines in het celmembraan zou de vloeibaarheid kunnen beïnvloeden en daarmee ook de signalering van de cel.

Met de kennis die voortkomt uit deze onderzoekslijnen zou de rol van Hoffa's vetlichaam in de pathofysiologie van OA verder ontrafeld kunnen worden.

References

1. Berenbaum, F., *Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!)*. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013. 21(1): p. 16-21.
2. Sokolove, J. and Lepus, C.M., *Role of inflammation in the pathogenesis of osteoarthritis: latest findings and interpretations*. *Ther Adv Musculoskelet Dis*, 2013. 5(2): p. 77-94.
3. Bijlsma, J.W., Berenbaum, F., and Lafeber, F.P., *Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice*. *Lancet*, 2011. 377(9783): p. 2115-26.
4. Thijssen, E., van Caam, A., and van der Kraan, P.M., *Obesity and osteoarthritis, more than just wear and tear: pivotal roles for inflamed adipose tissue and dyslipidaemia in obesity-induced osteoarthritis*. *Rheumatology (Oxford)*, 2015. 54(4): p. 588-600.
5. Reyes, C., Leyland, K.M., Peat, G., Cooper, C., Arden, N.K., and Prieto-Alhambra, D., *Association Between Overweight and Obesity and Risk of Clinically Diagnosed Knee, Hip, and Hand Osteoarthritis: A Population-Based Cohort Study*. *Arthritis Rheumatol*, 2016. 68(8): p. 1869-75.
6. Yusuf, E., Nelissen, R.G., Ioan-Facsinay, A., Stojanovic-Susulic, V., DeGroot, J., van Osch, G., Middelorp, S., Huizinga, T.W., and Kloppenburg, M., *Association between weight or body mass index and hand osteoarthritis: a systematic review*. *Ann Rheum Dis*, 2010. 69(4): p. 761-5.
7. Visser, A.W., de Mutser, R., le Cessie, S., den Heijer, M., Rosendaal, F.R., Kloppenburg, M., and Group, N.E.O.S., *The relative contribution of mechanical stress and systemic processes in different types of osteoarthritis: the NEO study*. *Ann Rheum Dis*, 2015. 74(10): p. 1842-7.
8. Coelho, M., Oliveira, T., and Fernandes, R., *Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ*. *Arch Med Sci*, 2013. 9(2): p. 191-200.
9. Galic, S., Oakhill, J.S., and Steinberg, G.R., *Adipose tissue as an endocrine organ*. *Mol Cell Endocrinol*, 2010. 316(2): p. 129-39.
10. Vazquez-Vela, M.E., Torres, N., and Tovar, A.R., *White adipose tissue as endocrine organ and its role in obesity*. *Arch Med Res*, 2008. 39(8): p. 715-28.
11. de Lange-Brokaar, B.J., Kloppenburg, M., Andersen, S.N., Dorjee, A.L., Yusuf, E., Herb-van Toorn, L., Kroon, H.M., Zuurmond, A.M., Stojanovic-Susulic, V., Bloem, J.L., Nelissen, R.G., Toes, R.E., and Ioan-Facsinay, A., *Characterization of synovial mast cells in knee osteoarthritis: association with clinical parameters*. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016. 24(4): p. 664-71.
12. Krenn, V., Morawietz, L., Burmester, G.R., Kinne, R.W., Mueller-Ladner, U., Muller, B., and Haupl, T., *Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis*. *Histopathology*, 2006. 49(4): p. 358-64.
13. Ropes, M.W. and Bauer, W., *Synovial fluid changes in joint disease*. 1953, Cambridge, Mass.: Harvard Univ. Press. xvi, 150 p.
14. Jonasdottir, H.S., Brouwers, H., Kwekkeboom, J.C., van der Linden, E.M., Huizinga, T., Kloppenburg, M., Toes, R.E., Giera, M., and Ioan-Facsinay, A., *Targeted lipidomics reveals activation of resolution pathways in knee osteoarthritis in humans*. *Osteoarthritis Cartilage*, 2017.
15. Nishimura, S., Manabe, I., Nagasaki, M., Eto, K., Yamashita, H., Ohsugi, M., Otsu, M., Hara, K., Ueki, K., Sugiura, S., Yoshimura, K., Kadowaki, T., and Nagai, R., *CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity*. *Nat Med*, 2009. 15(8): p. 914-20.
16. Duffaut, C., Galitzky, J., Lafontan, M., and Bouloumie, A., *Unexpected trafficking of immune cells within the adipose tissue during the onset of obesity*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009. 384(4): p. 482-5.
17. Winer, S., Chan, Y., Paltser, G., Truong, D., Tsui, H., Bahrami, J., Dorfman, R., Wang, Y., Zielenski, J., Mastroradi, F., Maezawa, Y., Drucker, D.J., Engleman, E., Winer, D., and Dosch, H.M., *Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy*. *Nat Med*, 2009. 15(8): p. 921-9.
18. Feuerer, M., Herrero, L., Cipolletta, D., Naaz, A., Wong, J., Nayer, A., Lee, J., Goldfine, A.B., Benoist, C., Shoelson, S., and Mathis, D., *Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters*. *Nat Med*, 2009. 15(8): p. 930-9.
19. Yang, H., Youm, Y.H., Vandanmagsar, B., Ravussin, A., Gimble, J.M., Greenway, F., Stephens, J.M., Mynatt, R.L., and Dixit, V.D., *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): p. 1836-45.
20. Klein-Wieringa, I.R., de Lange-Brokaar, B.J., Yusuf, E., Andersen, S.N., Kwekkeboom, J.C., Kroon, H.M., van Osch, G.J., Zuurmond, A.M., Stojanovic-Susulic, V., Nelissen, R.G., Toes, R.E., Kloppenburg, M., and Ioan-Facsinay, A., *Inflammatory Cells in Patients with Endstage Knee Osteoarthritis: A Comparison between the Synovium and the Infrapatellar Fat Pad*. *J Rheumatol*, 2016. 43(4): p. 771-8.

21. Duffaut, C., Zakaroff-Girard, A., Bourlier, V., Decaunes, P., Maumus, M., Chiotasso, P., Sengenès, C., Lafontan, M., Galitzky, J., and Bouloumie, A., *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): p. 1608-14.
22. Scotece, M., Perez, T., Conde, J., Abella, V., Lopez, V., Pino, J., Gonzalez-Gay, M.A., Gomez-Reino, J.J., Mera, A., Gomez, R., and Gualillo, O., *Adipokines induce pro-inflammatory factors in activated Cd4+ T cells from osteoarthritis patient*. *J Orthop Res*, 2016.
23. van Hall, G., Steensberg, A., Sacchetti, M., Fischer, C., Keller, C., Schjerling, P., Hiscock, N., Moller, K., Saltin, B., Febbraio, M.A., and Pedersen, B.K., *Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003. 88(7): p. 3005-10.
24. Trujillo, M.E., Sullivan, S., Harten, I., Schneider, S.H., Greenberg, A.S., and Fried, S.K., *Interleukin-6 regulates human adipose tissue lipid metabolism and leptin production in vitro*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. 89(11): p. 5577-82.
25. Eymard, F., Pigenet, A., Citadelle, D., Tordjman, J., Foucher, L., Rose, C., Flouzat Lachaniette, C.H., Rouault, C., Clement, K., Berenbaum, F., Chevalier, X., and Houard, X., *Knee and hip intra-articular adipose tissues (IAATs) compared with autologous subcutaneous adipose tissue: a specific phenotype for a central player in osteoarthritis*. *Ann Rheum Dis*, 2017.
26. Klein-Wieringa, I.R., Kloppenburg, M., Bastiaansen-Jenniskens, Y.M., Yusuf, E., Kwekkeboom, J.C., El-Bannoudi, H., Nelissen, R.G., Zuurmond, A., Stojanovic-Susulic, V., Van Osch, G.J., Toes, R.E., and Ioan-Facsinay, A., *The infrapatellar fat pad of patients with osteoarthritis has an inflammatory phenotype*. *Ann Rheum Dis*, 2011. 70(5): p. 851-7.
27. Distel, E., Cadoudal, T., Durant, S., Poinard, A., Chevalier, X., and Benelli, C., *The infrapatellar fat pad in knee osteoarthritis: an important source of interleukin-6 and its soluble receptor*. *Arthritis Rheum*, 2009. 60(11): p. 3374-7.
28. Gross, J.B., Guillaume, C., Gegout-Pottie, P., Reboul, P., Jouzeau, J.Y., Mainard, D., and Presle, N., *The infrapatellar fat pad induces inflammatory and degradative effects in articular cells but not through leptin or adiponectin*. *Clin Exp Rheumatol*, 2017. 35(1): p. 53-60.
29. Philippidis, P., Mason, J.C., Evans, B.J., Nadra, I., Taylor, K.M., Haskard, D.O., and Landis, R.C., *Hemoglobin scavenger receptor CD163 mediates interleukin-10 release and heme oxygenase-1 synthesis: antiinflammatory monocyte-macrophage responses in vitro, in resolving skin blisters in vivo, and after cardiopulmonary bypass surgery*. *Circ Res*, 2004. 94(1): p. 119-26.
30. Evans, B.J., Haskard, D.O., Sempowski, G., and Landis, R.C., *Evolution of the Macrophage CD163 Phenotype and Cytokine Profiles in a Human Model of Resolving Inflammation*. *Int J Inflam*, 2013. 2013: p. 780502.
31. Moestrup, S.K. and Moller, H.J., *CD163: a regulated hemoglobin scavenger receptor with a role in the anti-inflammatory response*. *Ann Med*, 2004. 36(5): p. 347-54.
32. Baeten, D., Demetter, P., Cuvelier, C.A., Kruithof, E., Van Damme, N., De Vos, M., Veys, E.M., and De Keyser, F., *Macrophages expressing the scavenger receptor CD163: a link between immune alterations of the gut and synovial inflammation in spondyloarthritis*. *J Pathol*, 2002. 196(3): p. 343-50.
33. Demetter, P., De Vos, M., Van Huysse, J.A., Baeten, D., Ferdinande, L., Peeters, H., Mielants, H., Veys, E.M., De Keyser, F., and Cuvelier, C.A., *Colon mucosa of patients both with spondyloarthritis and Crohn's disease is enriched with macrophages expressing the scavenger receptor CD163*. *Ann Rheum Dis*, 2005. 64(2): p. 321-4.
34. Baeten, D., Moller, H.J., Delanghe, J., Veys, E.M., Moestrup, S.K., and De Keyser, F., *Association of CD163+ macrophages and local production of soluble CD163 with decreased lymphocyte activation in spondylarthritis synovitis*. *Arthritis Rheum*, 2004. 50(5): p. 1611-23.
35. Vandooren, B., Noordenbos, T., Ambarus, C., Krausz, S., Cantaert, T., Yeremenko, N., Boumans, M., Lutter, R., Tak, P.P., and Baeten, D., *Absence of a classically activated macrophage cytokine signature in peripheral spondylarthritis, including psoriatic arthritis*. *Arthritis Rheum*, 2009. 60(4): p. 966-75.
36. Fuentes-Duculan, J., Suarez-Farinas, M., Zaba, L.C., Nograles, K.E., Pierson, K.C., Mitsui, H., Pensabene, C.A., Kzhyshkowska, J., Krueger, J.G., and Lowes, M.A., *A subpopulation of CD163-positive macrophages is classically activated in psoriasis*. *J Invest Dermatol*, 2010. 130(10): p. 2412-22.
37. Ioan-Facsinay, A., Kwekkeboom, J.C., Westhoff, S., Giera, M., Rombouts, Y., van Harmelen, V., Huizinga, T.W., Deelder, A., Kloppenburg, M., and Toes, R.E., *Adipocyte-derived lipids modulate CD4+ T-cell function*. *Eur J Immunol*, 2013. 43(6): p. 1578-87.

