

CÉLULAS MADRE PLURIPOTENTES INDUCIDAS Y ADIPOGÉNESIS

Jorly Mejia-Montilla¹, Eduardo Reyna-Villasmil², Melchor Álvarez-Mon³, Andreina Fernández-Ramírez⁴

¹Cátedra de Dietoterapia, Facultad de Medicina, La Universidad del Zulia, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. ²Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital Central "Dr. Urquinaona", Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. ³Departamento de Medicina, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, España. ⁴Cátedra de Química Orgánica, Facultad de Humanidades, La Universidad del Zulia, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

Rev Venez Endocrinol Metab 2018;16(1): 4-11

RESUMEN

La pérdida, degeneración o mala distribución del tejido adiposo conduce al desarrollo de diabetes, graves defectos en la homeostasis lipídica y acumulación ectópica de grasa. En los mamíferos coexisten tres tipos funcionales de tejido adiposo: tejido adiposo blanco, pardo y beige, que están implicados en el balance energético con diversas funciones. El tejido adiposo blanco está involucrado en el almacenamiento y movilización de energía. Por el contrario, el tejido adiposo marrón quema grasa y se especializa en el gasto energético. Los adipocitos beige aparecen dentro del tejido graso blanco inducido por estímulos termogénicos fisiológicos. Estos componentes adiposos individuales poseen diferentes momentos de aparición durante el desarrollo, así como distintas propiedades funcionales, lo que sugiere posibles diferencias en su origen de desarrollo. La confirmación de la presencia de tejido adiposo pardo funcional en humanos ha renovado el interés por investigar su potencial uso terapéutico. Las células madre pluripotentes inducidas proporcionan un modelo celular para investigar la ontogénesis del tejido adiposo humano. Desde un punto de vista clínico, existen varios problemas que deben ser resueltos antes de utilizar células progenitoras de adipocitos derivados provenientes de células madres pluripotentes inducidas humanas en el tratamiento de la obesidad.

Palabras claves: Adipogénesis; células madre pluripotentes inducidas; tejido adiposo blanco, tejido adiposo pardo; tejido adiposo pardo; obesidad.

INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS AND ADIPOGENESIS

ABSTRACT

Loss, degeneration or poor distribution of adipose tissue leads to the development of diabetes, severe defects in lipid homeostasis and ectopic accumulation of fat. In mammals, three functional types of adipose tissue coexist: white, brown and beige adipose tissue, which are involved in the energy balance with various functions. White adipose tissue is involved in energy storage and mobilization. In contrast, brown adipose tissue burns fat and specializes in energy expenditure. Beige adipocytes appear within white fat tissue induced by physiological thermogenic stimuli. These individual adipose components have different development time, as well as different functional properties, suggesting possible differences in their origin of development. Confirmation of the presence of functional brown adipose tissue in humans has renewed interest in investigating its potential therapeutic use. Induced pluripotent stem cells provide a cellular model to investigate the ontogenesis of human adipose tissue. From a clinical standpoint, there are a number of problems that need to be solved before using adipocyte progenitor cells derived from human induced pluripotent stem cells in the treatment of obesity.

Keywords: Adipogenesis; induced pluripotent stem cells; white adipose tissue; brown adipose tissue; beige adipose tissue; obesity.

Artículo recibido en: Julio 2017. Aceptado para publicación en: Octubre 2017.

Dirigir correspondencia a: Eduardo Reyna-Villasmil. Email: sippenbauch@gmail.com

INTRODUCCIÓN

En los mamíferos coexisten tres tipos de adipocitos, pardo, beige y blanco, todos ellos regulan el equilibrio energético con diferentes funciones. El tejido adiposo blanco (TAB) se encuentra por todo el cuerpo y su principal función es el almacenamiento de energía. En contraste, el tejido adiposo pardo (TAP) se especializa en gasto energético. Su activación promueve el consumo del sustrato metabólico y quema grasa para producir calor gracias a la proteína desacoplante-1. Los adipocitos beige se han descrito como adipocitos similares a los pardos y representan un tercer tipo de adipocitos que están dentro del TAB¹ (Figura 1). La activación del TAP o de adipocitos beige conduce a potentes efectos contra el desarrollo de la obesidad y diabetes en ratones.

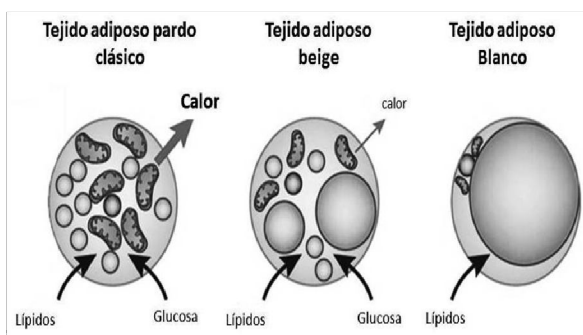


Figura 1. Tipos de adipocitos en los mamíferos y sus principales características.

Comunicaciones independientes han informado que el trasplante de TAP en ratones adultos podría revertir los diferentes trastornos metabólicos causados por el aumento del tejido graso, lo que hace que el trasplante de adipocitos pardos / beige sea una estrategia posible para tratar la obesidad y la diabetes tipo 2²⁻⁴. Se ha demostrado que los adipocitos beige derivados de capilares del tejido adiposo subcutáneo humano fueron capaces de aumentar la tolerancia a la glucosa después de su implantación en ratones⁵. Por lo tanto, ha surgido la idea del trasplante de células progenitoras de adipocitos pardo o beige en sujetos obesos como una posible perspectiva terapéutica para contrarrestar la obesidad y sus complicaciones metabólicas.

Sin embargo, el TAP representa solo una fracción menor del tejido adiposo en los seres humanos y desaparece de la mayoría de las áreas con el envejecimiento, persistiendo sólo alrededor de los órganos profundos⁶. Las células progenitoras de adipocitos (CPA) pardo o beige humanas son difíciles de aislar, por lo tanto, se necesita una fuente celular para amplificar y caracterizar las CPA pardo o beige humanas. Las células madre pluripotentes aparecieron como un modelo para descifrar la ontogénesis de los adipocitos humanos y como una fuente ilimitada de CPA pardo o beige autólogas para el trasplante³. Esta revisión proporciona una visión detallada de informes y hallazgos sobre la adipogénesis, la identificación de células progenitoras y el papel terapéutico potencial que pueden jugar las células madre pluripotentes inducidas en la generación y desarrollo del tejido graso.

ADIPOGÉNESIS

Existe escasa información disponible sobre la formación del TAB y TAP durante el desarrollo embrionario. En roedores, el TAB no se puede detectar macroscópicamente durante la embriogénesis y se desarrolla después del nacimiento, primero en los depósitos perigonádicos y subcutáneos, y sólo más tarde en los depósitos abdominales. Diferentes estudios anatómicos macro y microscópicos en embriones - fetos porcinos y humanos indican que la formación del TAB comenzaría antes del nacimiento en ambas especies⁷⁻⁸. En los seres humanos, los primeros "lóbulos grasos" aparecen en la región cefálica, alrededor de las 14-16 semanas de embarazo. Luego aparecen progresivamente en tronco y extremidades, y a las 28 semanas puede detectarse TAB en todos los sitios viscerales y subcutáneos⁹.

Se ha descrito que el TAP se desarrolla antes del TAB durante la embriogénesis y que puede identificarse fácilmente luego del nacimiento tanto en roedores como en seres humanos, en particular en la región interescapular, donde es innervado por el sistema nervioso simpático (Figura 2). Hasta hace muy poco tiempo se suponía que el TAP involucionaba durante la infancia hasta desaparecer

completamente en los adultos humanos mientras que en pequeños mamíferos permanecía como pequeños depósitos para asegurar la termogénesis adaptativa¹⁰⁻¹².



Figura 2. Zona de ubicación de la grasa parda en humanos al nacer.

La adipogénesis se describe como un proceso de dos pasos. En la figura 3 se muestra un resumen de las células y moléculas involucradas en cada uno de los pasos de la adipogénesis. El primer paso consiste en la generación de CPA a partir de células madre mesenquimatosas multipotentes, mientras que el segundo paso implica la diferenciación terminal de estas CPA en adipocitos maduros y

funcionales. La diferenciación de los adipocitos ha sido ampliamente estudiado *in vitro*^{13,14}. En contraste, los mecanismos que conducen a la formación de células madre mesenquimatosas multipotentes y CPA son desconocidos. Del mismo modo, el origen embrionario de células madre mesenquimatosas multipotentes y el linaje adipocito sigue siendo poco claro. Los resultados de esos estudios se han visto obstaculizados por la falta de marcadores de superficie celular específicos para identificar y aislar células madre mesenquimatosas multipotentes y CPA *in vivo*.

Los adipocitos, al igual que otros tipos de células mesenquimatosas, generalmente derivan del mesodermo, pero durante el desarrollo de los vertebrados superiores, el mesodermo no es la única fuente de células mesenquimales. En la zona de la cabeza, por ejemplo, se ha demostrado que huesos faciales y tejidos conectivos asociados provienen de la cresta neural, una población de células que aparece del neuroectodermo¹⁴.

ADIPOCITOS BLANCO, PARDO Y BEIGE

Hasta hace poco, solo dos tipos principales de células fueron considerados como parte del tejido adiposo de los mamíferos y se identificaron como

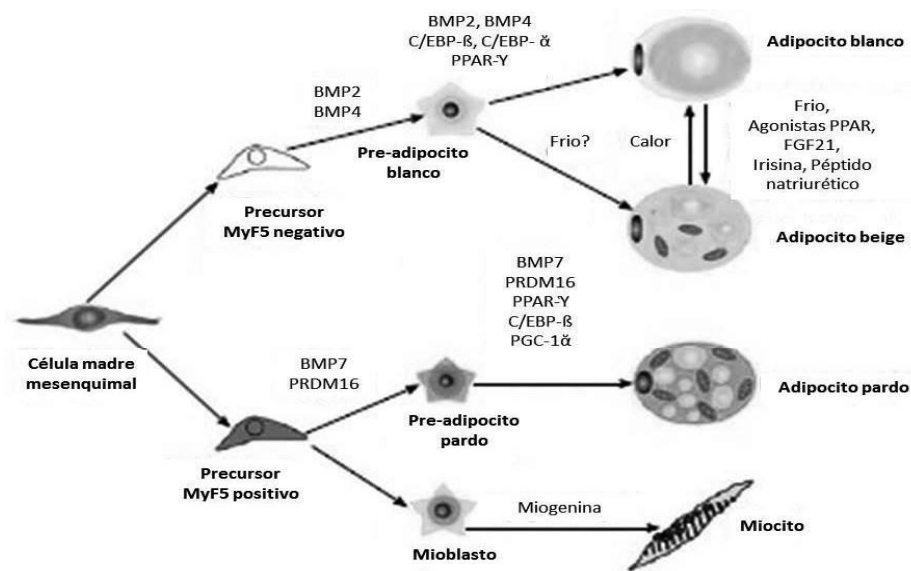


Figura 3. Principales células y moléculas en el proceso de adipogénesis.

adipocitos blancos y pardos. A pesar de que en ambos tipos de tejido se puede acumular una cantidad sustancial de lípidos, cumplen diferentes funciones: almacenamiento de combustible y protección mecánica en el caso del adipocito blanco; disipación de energía y producción de calor en el caso del adipocito pardo. El TAB se distribuye en diferentes depósitos a lo largo del eje corporal, mientras que el TAP tiene una localización mucho más específica. Por ejemplo, el TAP en ratones forma depósitos en la región interescapular y alrededor de la aorta, pero los adipocitos pardos también pueden identificarse como focos intercalados en el músculo esquelético y dentro de los depósitos de TAB subcutáneos y retroperitoneales¹⁵. En humanos adultos, se pueden identificar depósitos pequeños de TAP en el área cervical-supraclavicular, que son similares a los depósitos en roedores¹⁶.

Varios estudios han informado de la existencia de un tercer tipo de células adiposas, el adipocito pardo dentro del TAB, denominado "beige". Al igual que en el TAP, la selección de los adipocitos beige dentro del TAB es un proceso bidireccional que es inducido por estímulos termogénicos fisiológicos como ejercicio, estimulación simpática y la microbiota intestinal, así como tratamientos farmacológicos con péptidos natriuréticos, péptido similar al glucagón tipo 1, ácidos biliares, irisina, agonistas beta-adrenérgicos o tiazolidindiona^{1,17}. El desarrollo de células beige dentro del TAB se conoce como el "bronceamiento" de este y puede observarse mediante análisis histológico que demuestra un mayor número de adipocitos portadores de gotas lipídicas multiloculares características dispersos dentro del depósito de TAB^{1,18}.

Hay dos moléculas fundamentales para que se cumpla este proceso. El receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma, que es un miembro de la superfamilia de receptores nucleares de factores de transcripción activados por ligandos y es un requisito previo para la diferenciación de adipocitos marrones y blancos⁶. También se ha establecido que el receptor activado del proliferador peroxisoma gamma coactivador-1

alfa desempeña un papel crucial en la biogénesis en diversos tejidos, sin embargo, se descubrió originalmente en adipocitos pardos como un asociado de unión al receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma. En el TAB, regula la expresión de genes termogénicos después de la estimulación con frío¹⁴.

Estas células beige presentan expresión genética similar a la de los adipocitos pardos típicos. Estos hallazgos indican que los adipocitos pardos, que residen como focos intercalados dentro del depósito de TAB, son convertidos a células beige. Sin embargo, a pesar de sus similitudes con el TAP, los adipocitos beige tienen patrones de expresión genética específicos que son diferentes de los adipocitos blancos y pardos y son capaces de producir neuregulina 4, adiponectina, interleucina 6, triyodotironina y factor 21 de crecimiento de trofoblastos¹⁸. El perfil de expresión genética demostró que la expresión de *Zic1* era bastante específica del TAP, mientras que *Hoxc9* era específica de los adipocitos beige y *Tcf21* de los adipocitos blancos¹⁹. En un estudio independiente, también identificaron *Tmem26*, *Cd137* y *Tbx1* como marcadores específicos para células beige, lo que sugiere que los adipocitos pardo y beige muestran una respuesta selectiva a factores específicos de diferenciación como *Bmp7* (una mioquina derivada del músculo esquelético)¹⁸.

CÉLULAS MADRES PLURIPOTENTES Y GENERACIÓN DE ADIPOCITOS

Las células madre pluripotentes inducidas (CMPI) surgieron como una fuente ilimitada de adipocitos para tratamiento basado en células autólogas para tratar la obesidad. Los adipocitos generados a partir de estas células pueden mantener sus propiedades funcionales durante semanas después de ser trasplantadas en ratones²⁰. Estos datos revelaron que los adipocitos de CMPI podrían usarse en forma potencial para corregir los parámetros metabólicos en pacientes con diagnóstico de lipodistrofia de diferentes causas²¹.

En estos experimentos, los cultivos diferenciados de CMPI se enriquecieron con adipocitos después

de la inducción adipogénica, pero también contienen varios otros tipos de células que no son deseables para el trasplante, incluyendo CMPI indiferenciadas que pueden formar teratomas. Esto indica que se requiere la purificación de los adipocitos productos de las CMPI y con alta capacidad adipogénica antes de proponer un enfoque terapéutico basado en estas células^{21,22}.

Se han desarrollado varios procedimientos para generar adipocitos pardos funcionales a partir de las CMPI usando un cóctel hematopoyético para inducir la diferenciación de estas células²². Los adipocitos pardos derivados de esta manera fueron capaces de mejorar la tolerancia a la glucosa después del trasplante en ratones. Esto indica que las CMPI podrían ser potencialmente utilizadas para generar adipocitos pardos con propiedades terapéuticas. También se han podido generar adipocitos pardos y blancos puros a partir de CMPI, pero sólo luego de la transducción con genes claves para la adipogénesis²³. La necesidad de modificar genéticamente los adipocitos producto de las CMPI para generar adipocitos ilustra claramente el bajo potencial adipogénico de estas células²⁰⁻²².

ADIPOGÉNESIS DE LAS CÉLULAS PROGENITORAS DE ADIPOCITOS DERIVADAS DE CÉLULAS MADRE PLURIPOTENTES INDUCIDAS (CMPI)

Se ha descrito la limitada capacidad de las CMPI derivadas de tejidos mesenquimales para lograr la diferenciación adipocitaria, una característica que se ha observado en diferentes investigaciones, pero que ha sido escasamente estudiada²⁴. Las razones de esta condición son aún desconocidas y dificultan la utilidad de estas células tanto en la investigación básica como en la terapia celular. Algunos autores afirman que la baja capacidad de diferenciación se limita a la adipogénesis, ya que las células mesenquimales derivadas de CMPI son capaces de diferenciarse en números elevados en linajes como los condrogénicos y osteogénicos²⁵⁻²⁷.

Es improbable que la baja capacidad adipogénica de las CMPI se deba al método utilizado para su derivación. De hecho, existen dos enfoques principales para diferenciar las células madre pluripotentes en progenitores adipocíticos. Una estrategia implica la formación del cuerpo embrionario donde los cultivos en suspensión permiten que las células madre pluripotentes formen estructuras tridimensionales llamadas cuerpo embrionario. Este paso, modela el desarrollo embrionario *in vitro* con la transformación de las células en las tres capas germinales primarias. Los cuerpos embrionarios se siembran sobre placas de cultivo y después de una etapa de proliferación, las células en crecimiento se mantienen en un medio de cultivo específico para células mesenquimales. Posteriormente, las células adherentes muestran una morfología similar a los fibroblastos y adquieren marcadores mesenquimatosos específicos^{28,29}. Una estrategia alternativa implica la diferenciación directa de células madre pluripotentes sin el paso de cuerpo embrionario³⁰. Otra versión de este protocolo se basa en la diferenciación espontánea de células madre pluripotentes en células mesenquimales, en las cuales se observó un bajo potencial adipogénico utilizando esta técnica³¹. Las células mesenquimales derivadas de diferentes líneas de CMPI de varios donantes usando diferentes procedimientos de derivación, tienen características adipogénicas similares^{30,31}.

El potencial de baja diferenciación no se limita solo a las CMPI. Las células mesenquimales derivadas de células madres embrionarias humanas también muestran las mismas características, descartando así la posibilidad de que la baja capacidad adipogénica de los adipocitos derivados de CMPI pudiese ser debida al proceso de reprogramación o algún mecanismo epigenético³¹.

Varias hipótesis podrían explicar la baja capacidad adipogénica de los adipocitos derivados de CMPI en comparación con las CPA maduras. La hipótesis con mayor fuerza propone que los factores o condiciones de cultivo necesarios para inducir la diferenciación de los adipocitos de las CPA derivados de tejidos de adultos y de células similares en el embrión podrían ser diferentes³².

La baja capacidad adipogénica de los adipocitos derivados de células madres pluripotentes inducidas fue reportada inicialmente en 2011³³. Allí se observó que el tejido adiposo epididimario, que experimenta desarrollo postnatal en el ratón, está compuesto de células progenitoras multipotentes pero carece de capacidad adipogénica *in vitro*. En contraste con las células derivadas de otras zonas, las células de grasa epididimaria requieren condiciones de cultivo tridimensionales y un microambiente diferente para lograr la diferenciación. Estos resultados demuestran que el microambiente tiene un papel crítico en la diferenciación, que podría diferir entre células adultas y embrionarias. Esto fue confirmado por una investigación que logró generar en forma selectiva células progenitoras de adipocitos blancos y pardos a partir de CMPI específicas³⁴. Posteriormente, se han identificado un conjunto de factores, incluyendo factores angiogénicos, capaces de controlar y dirigir la diferenciación de CMPI específicas para el TAP a valores similares al del tejido adiposo humano adulto derivado de CPA pardos³⁵. En conjunto, estos datos resaltan que es necesario un microambiente específico para activar la adipogénesis de CMPI de adipocitos pardos y abre nuevas oportunidades para desarrollar estrategias alternativas para contrarrestar la obesidad.

ORÍGEN DE CÉLULAS PROGENITORAS DE ADIPOCITOS PARDOS EN HUMANOS

El conocimiento del origen y desarrollo de las diferentes CPA es fundamental para comprender la diversidad del tejido adiposo. La información de las herramientas de rastreo de linaje es que los adipocitos blanco, pardo y beige se generan a partir de células que tienen múltiples orígenes. Se ha propuesto inicialmente que el adipocito pardo clásico se origina de un precursor que expresa el factor 5 regulador miogénico 5 (Myogenic factor 5, Myf-5)³⁶. Los adipocitos blancos y beige serían Myf5 negativos. Sin embargo, otros estudios revelaron que todos los linajes de adipocitos también provienen de CPA Myf5 positivos o negativos^{37,38}, por lo que se ha propuesto que

una sub-población de adipocitos beige deriva de células musculares lisas³⁹.

Otra investigación demostró que los adipocitos blancos tienen dos orígenes embrionarios en roedores dependiendo de su localización corporal: neuroectodermo y mesodermo⁴⁰. Se considera que los adipocitos que derivan de las células madres mesenquimales surgen solo del mesodermo³⁹.

Sin embargo, durante el desarrollo de los vertebrados superiores, el mesodermo no es la única fuente de las células mesenquimales en la capa germinal. En la región de la cabeza, por ejemplo, se ha demostrado que los huesos faciales derivan de la cresta neural (CN), una población de células que nace del neuroectodermo. Después del cierre del tubo neural, las células de la CN sufren transición epitelio-mesenquimal y migran a diversas regiones del embrión en desarrollo, donde se diferencian en varios tipos celulares. En la cabeza y el cuello también se producen precursores mesenquimales que se diferencian en células del tejido conectivo⁴¹. La adipogénesis *in vitro* de las células madres embrionarias de ratón proporcionó un primer modelo para investigar estos primeros pasos del desarrollo del adipocito y reveló hechos sorprendentes con relación a la ontogenia de estas células en la CN, conocidas por generar células neuronales y células gliales.

En el sistema de células madres embrionarias de ratón, la generación de adipocitos depende de la exposición temprana y transitoria al ácido retinoico y el posterior tratamiento con factores adipogénicos convencionales, y fue el primer intento de aclarar los eventos subyacentes a la formación de derivados mesenquimatosos en células madres embrionarias tratadas con ácido retinoico. Posteriormente se examinó la expresión de varios marcadores mesodérmicos y mesenquimales en las células madres embrionarias tempranas y se demostró que el tratamiento con ácido retinoico produjo una marcada disminución en varios marcadores mesodérmicos, así como la supresión de la formación de cardiomiocitos. También se ha demostrado que los marcadores *sox9*, *sox10*, *foxd3* y *runx2* desempeñan un importante papel en la formación de la CN y en la condensación

mesenquimal, y son reguladas en forma positiva tras el tratamiento con ácido retinoico⁴². Estos datos sugieren que neuroectodermo / CN es la principal fuente de células mesenquimales por parte de las células madres embrionarias de ratón tratados con ácido retinoico.

Para comprobar esta hipótesis, se verificó si los adipocitos se podían obtener de células de CN utilizando el rastreo de linaje en ratón. Este estudio reveló la presencia de adipocitos derivados de CN en depósitos adiposos craneofaciales. Por el contrario, no se detectaron adipocitos derivados en depósitos adiposos corporales, incluidos tejido subcutáneo, perirrenal, periepididimal e interscapular⁴³. Estos datos proporcionan información relevante sobre la morfogénesis del linaje de los adipocitos y demuestran que durante el desarrollo normal, un subconjunto de adipocitos en la región craneofacial proviene del CN y no del mesodermo. El papel de la ácido retinoico en estos primeros pasos del desarrollo de los adipocitos en ratones aún debe ser demostrado *in vivo*. Si se ha demostrado que este es necesario para la diferenciación en adipocitos de las células de la CN cefálica en el desarrollo de embriones de pez cebra⁴⁴.

Está bien documentado que los tejidos adiposos tienen impactos diferentes sobre las complicaciones metabólicas de la obesidad y posee signos distintivos del gen para su desarrollo, lo que sugiere que estos orígenes pueden contribuir en las propiedades y funciones de los adipocitos^{45,46}. Por lo tanto, los estudios sobre los orígenes de adipocitos abren al menos dos preguntas: si los adipocitos de diferentes orígenes tiene un desarrollo funcionalmente diferente, y cuál es el origen de los adipocitos en los seres humanos. Dado que el trazado del linaje es imposible de realizar en los seres humanos, sólo la expresión de marcadores específicos podría utilizarse para proponer un origen embrionario de muestras humanas. Se ha demostrado que la expresión de PAX3 está asociada con el desarrollo de la CN en seres humanos y que se mantendría en células mesenquimales⁴⁷⁻⁴⁸. El PAX3 representaría un marcador único para establecer el destino de las células de la CN en los seres humanos. Los

adipocitos pardos de CMPI específicas expresan PAX3 en la CN. La expresión de PAX3 se mantiene en humanos adultos y el análisis de microarreglos reveló que su expresión marca en forma preferente los depósitos de tejido adiposo que expresan la proteína desacoplante-1 localizados en la cara⁴⁹. En conjunto, estos informes sugieren que los adipocitos pardos humanos se originan en la cresta neural.

CONCLUSIÓN

La adipogénesis de las CMPI humanas es una nueva área que permite comprender cómo se generan las células adiposas pardas que disipan la energía. La comprensión completa de las señales que rigen la generación y la diferenciación de las células PAX3+ durante el desarrollo de CMPI podría abrir nuevas oportunidades para conocer mejor la ontogenia de los adipocitos pardos en humanos y desarrollar estrategias alternativas para contrarrestar la obesidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lee P, Werner CD, Kebebew E, Celi FS. Functional thermogenic beige adipogenesis is inducible in human neck fat. *Int J Obes (Lond)* 2014;38:170-176.
2. Roberts-Toler C, O'Neill BT, Cypess AM. Diet-induced obesity causes insulin resistance in mouse brown adipose tissue. *Obesity (Silver Spring)* 2015;23:1765-1770.
3. Gunawardana SC, Piston DW. Insulin-independent reversal of type 1 diabetes in nonobese diabetic mice with brown adipose tissue transplant. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2015;308:E1043-E1055.
4. Martins FF, Bargut TC, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Thermogenesis, fatty acid synthesis with oxidation, and inflammation in the brown adipose tissue of ob/ob (-/-) mice. *Ann Anat* 2017;210:44-51.
5. Min SY, Kady J, Nam M, Rojas-Rodriguez R, Berkenwald A, Kim JH, Noh HL, Kim JK, Cooper MP, Fitzgibbons T, Brehm MA, Corvera S. Human 'brite/beige' adipocytes develop from capillary networks, and their implantation improves metabolic homeostasis in mice. *Nat Med* 2016;22:312-318.
6. Cinti S. The adipose organ. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005;73:9-15.

7. Blüher M. Adipose tissue dysfunction in obesity. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2009;117:241-250.
8. Hausman GJ, Richardson RL. Adipose tissue angiogenesis. *J Anim Sci* 2004;82:925-934.
9. Cho KH, Lee HS, Katori Y, Rodríguez-Vázquez JF, Murakami G, Abe S. Deep fat of the face revisited. *Clin Anat* 2013;26:347-356.
10. Oelkrug R, Polymeropoulos ET, Jastroch M. Brown adipose tissue: physiological function and evolutionary significance. *J Comp Physiol B* 2015;185:587-606.
11. Ahima RS. Editorial: Unlocking Therapeutic Potential of Brown Fat. *Mol Endocrinol* 2016;30:275-277.
12. Frontini A, Cinti S. Distribution and development of brown adipocytes in the murine and human adipose organ. *Cell Metab* 2010;11:253-256.
13. Laudes M. Role of WNT signalling in the determination of human mesenchymal stem cells into preadipocytes. *J Mol Endocrinol* 2011;46:R65-R72.
14. Ali AT, Hochfeld WE, Myburgh R, Pepper MS. Adipocyte and adipogenesis. *Eur J Cell Biol* 2013;92:229-236.
15. Aldiss P, Davies G, Woods R, Budge H, Sacks HS, Symonds ME. 'Browning' the cardiac and peri-vascular adipose tissues to modulate cardiovascular risk. *Int J Cardiol* 2017;228:265-274.
16. Shao X, Shao X, Wang X, Wang Y. Characterization of brown adipose tissue 18F-FDG uptake in PET/CT imaging and its influencing factors in the Chinese population. *Nucl Med Biol* 2016;43:7-11.
17. Sun L, Trajkovski M. MiR-27 orchestrates the transcriptional regulation of brown adipogenesis. *Metabolism* 2014;63:272-282.
18. Schulz TJ, Huang P, Huang TL, Xue R, McDougall LE, Townsend KL, Cypess AM, Mishina Y, Gussoni E, Tseng YH. Brown-fat paucity due to impaired BMP signalling induces compensatory browning of white fat. *Nature* 2013;495:379-383.
19. de Jong JM, Larsson O, Cannon B, Nedergaard J. A stringent validation of mouse adipose tissue identity markers. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2015;308:E1085-E1105.
20. Dave S, Kaur NJ, Nanduri R, Dkhar HK, Kumar A, Gupta P. Inhibition of adipogenesis and induction of apoptosis and lipolysis by stem bromelain in 3T3-L1 adipocytes. *PLoS One* 2012;7:e30831.
21. Noguchi M, Hosoda K, Nakane M, Mori E, Nakao K, Taura D, Yamamoto Y, Kusakabe T, Sone M, Sakurai H, Fujikura J, Ebihara K, Nakao K. In vitro characterization and engraftment of adipocytes derived from human induced pluripotent stem cells and embryonic stem cells. *Stem Cells Dev* 2013;22:2895-2905.
22. Nishio M, Saeki K. Differentiation of human pluripotent stem cells into highly functional classical brown adipocytes. *Methods Enzymol* 2014;537:177-197.
23. Ahfeldt T, Schinzel RT, Lee YK, Hendrickson D, Kaplan A, Lum DH, Camahort R, Xia F, Shay J, Rhee EP, Clish CB, Deo RC, Shen T, Lau FH, Cowley A, Mowrer G, Al-Siddiqi H, Nahrendorf M, Musunuru K, Gerszten RE, Rinn JL, Cowan CA. Programming human pluripotent stem cells into white and brown adipocytes. *Nat Cell Biol* 2012;14:209-219.
24. Wang Y, Liu J, Tan X, Li G, Gao Y, Liu X, Zhang L, Li Y. Induced pluripotent stem cells from human hair follicle mesenchymal stem cells. *Stem Cell Rev* 2013;9:451-460.
25. Xu C, Jiang J, Sottile V, McWhir J, Lebkowski J, Carpenter MK. Immortalized fibroblast-like cells derived from human embryonic stem cells support undifferentiated cell growth. *Stem Cells* 2004;22:972-980.
26. Drissi H, Gibson JD, Guzzo RM, Xu RH. Derivation and Chondrogenic Commitment of Human Embryonic Stem Cell-Derived Mesenchymal Progenitors. *Methods Mol Biol* 2015;1340:65-78.
27. Boyd NL, Nunes SS, Jokinen JD, Krishnan L, Chen Y, Smith KH, Stice SL, Hoying JB. Microvascular mural cell functionality of human embryonic stem cell-derived mesenchymal cells. *Tissue Eng Part A* 2011;17:1537-1548.
28. Li O, Tormin A, Sundberg B, Hyllner J, Le Blanc K, Scheding S. Human embryonic stem cell-derived mesenchymal stroma cells (hES-MSCs) engraft in vivo and support hematopoiesis without suppressing immune function: implications for off-the shelf ES-MSC therapies. *PLoS One* 2013;8:e55319.
29. Domev H, Amit M, Laevsky I, Dar A, Itskovitz-Eldor J. Efficient engineering of vascularized ectopic bone from human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells. *Tissue Eng Part A* 2012;18:2290-2302.
30. Kang R, Zhou Y, Tan S, Zhou G, Aagaard L, Xie L, Bünger C, Bolund L, Luo Y. Mesenchymal stem cells derived from human induced pluripotent stem cells retain adequate osteogenicity and chondrogenicity but less adipogenicity. *Stem Cell Res Ther* 2015;6:144.

31. Diederichs S, Tuan RS. Functional comparison of human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal cells and bone marrow-derived mesenchymal stromal cells from the same donor. *Stem Cells Dev* 2014;23:1594-1610.
32. Hafner AL, Dani C. Human induced pluripotent stem cells: A new source for brown and white adipocytes. *World J Stem Cells* 2014;6:467-472.
33. Han J, Lee JE, Jin J, Lim JS, Oh N, Kim K, Chang SI, Shibuya M, Kim H, Koh GY. The spatiotemporal development of adipose tissue. *Development* 2011;138:5027-5037.
34. Mohsen-Kanson T, Hafner AL, Wdziekonski B, Takashima Y, Villageois P, Carrière A, Svensson M, Bagnis C, Chignon-Sicard B, Svensson PA, Casteilla L, Smith A, Dani C. Differentiation of human induced pluripotent stem cells into brown and white adipocytes: role of Pax3. *Stem Cells* 2014;32:1459-1467.
35. Hafner AL, Contet J, Ravaud C, Yao X, Villageois P, Suknuntha K, Annab K, Peraldi P, Binetruy B, Slukvin II, Ladoux A, Dani C. Brown-like adipose progenitors derived from human induced pluripotent stem cells: Identification of critical pathways governing their adipogenic capacity. *Sci Rep* 2016;6:32490.
36. Hondares E, Rosell M, Díaz-Delfín J, Olmos Y, Monsalve M, Iglesias R, Villarroya F, Giral M. Peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) induces PPAR γ coactivator 1 α (PGC-1 α) gene expression and contributes to thermogenic activation of brown fat: involvement of PRDM16. *J Biol Chem* 2011;286:43112-42122.
37. Sanchez-Gurmaches J, Guertin DA. Adipocyte lineages: tracing back the origins of fat. *Biochim Biophys Acta* 2014;1842:340-351.
38. Sanchez-Gurmaches J, Hung CM, Guertin DA. Emerging Complexities in Adipocyte Origins and Identity. *Trends Cell Biol* 2016;26:313-326.
39. Long JZ, Svensson KJ, Tsai L, Zeng X, Roh HC, Kong X, Rao RR, Lou J, Lokurkar I, Baur W, Castellot JJ Jr, Rosen ED, Spiegelman BM. A smooth muscle-like origin for beige adipocytes. *Cell Metab* 2014;19:810-820.
40. Billon N, Dani C. Developmental origins of the adipocyte lineage: new insights from genetics and genomics studies. *Stem Cell Rev* 2012;8:55-66.
41. Shellard A, Mayor R. Chemotaxis during neural crest migration. *Semin Cell Dev Biol* 2016;55:111-118.
42. Freyria AM, Courtes S, Mallein-Gerin F. Differentiation of adult human mesenchymal stem cells: chondrogenic effect of BMP-2. *Pathol Biol (Paris)* 2008;56:326-333.
43. Coelho-Aguiar JM, Le Douarin NM, Dupin E. Environmental factors unveil dormant developmental capacities in multipotent progenitors of the trunk neural crest. *Dev Biol* 2013;384:13-25
44. Li N, Kelsh RN, Croucher P, Roehl HH. Regulation of neural crest cell fate by the retinoic acid and Pparg signalling pathways. *Development* 2010;137:389-394.
45. Tchkonja T, Lenburg M, Thomou T, Giorgadze N, Frampton G, Pirtskhalava T, Cartwright A, Cartwright M, Flanagan J, Karagiannides I, Gerry N, Forse RA, Tchoukalova Y, Jensen MD, Pothoulakis C, Kirkland JL. Identification of depot-specific human fat cell progenitors through distinct expression profiles and developmental gene patterns. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;292:E298-E307.
46. Brune JE, Kern M, Kunath A, Flehmig G, Schön MR, Lohmann T, Dressler M, Dietrich A, Fasshauer M, Kovacs P, Stumvoll M, Blüher M, Klöting N. Fat depot-specific expression of HOXC9 and HOXC10 may contribute to adverse fat distribution and related metabolic traits. *Obesity (Silver Spring)* 2016;24:51-59.
47. Kinikoglu B, Kong Y, Liao EC. Characterization of cultured multipotent zebrafish neural crest cells. *Exp Biol Med (Maywood)* 2014;239:159-168.
48. Avery J, Dalton S. Methods for derivation of multipotent neural crest cells derived from human pluripotent stem cells. *Methods Mol Biol* 2016;1341:197-208.
49. Kim B, Lee B, Kim MK, Gong SP, Park NH, Chung HH, Kim HS, No JH, Park WY, Park AK, Lim JM, Song YS. Gene expression profiles of human subcutaneous and visceral adipose-derived stem cells. *Cell Biochem Funct.* 2016;34:563-571.