

脂肪细胞分化的分子机制研究进展

伍家利¹ 张秀玲¹ 杜润家² 黄睿^{1*} 赵志芳¹ 杨战利¹

(¹西北民族大学医学院, 兰州 730030; ²甘肃省肿瘤医院超声科, 兰州 730050)

摘要 肥胖已经成了世界性的健康问题, 肥胖是由于个体的吸收大于消耗而引起的, 在细胞水平上, 肥胖是由于脂肪细胞的数目增多或单个脂肪细胞体积增大引起的。脂肪的形成被分为两个阶段: 第一阶段, 新的脂肪细胞从间充质干细胞产生或者原有脂肪细胞通过去分化形成前脂肪细胞; 第二阶段, 前脂肪细胞通过终末分化形成成熟的脂肪细胞。脂肪的分化过程在前脂肪细胞系3T3-L1中被广泛的研究。该文综述了前脂肪细胞分化的调控机制, 其中, 主要涉及前脂肪细胞向终末分化细胞转化过程中的脂肪细胞关键基因表达调控因子过氧化物增殖物受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)的表观遗传修饰及活化的PPAR γ 与CCAAT增强子结合蛋白家族(CCAAT/enhancer-binding protein, C/EBP)转录因子的协同作用, 同时, 也讨论了目前对脂肪分化作用方面的研究热点。

关键词 脂肪生成; 脂肪细胞分化; 过氧化物增殖物受体; CCAAT增强子结合蛋白; 3T3-L1细胞

Advance in Molecular Mechanism of Adipocyte Differentiation

Wu Jiali¹, Zhang Xiuling¹, Du Runjia², Huang Rui^{1*}, Zhao Zhifang¹, Yang Zhanli¹

(¹Medical College of Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, China;

²Department of Ultrasound, Gansu Provincial Cancer Hospital, Lanzhou 730050, China)

Abstract Obesity is an increasing health problem all over the world. Obesity occurs when energy intake by an individual exceeds the rate of energy expenditure. At the cellular level, obesity was originally considered a hypertrophic disease resulting from an increase in the number and/or the size of individual adipocytes. Adipogenesis is thought to occur in two stages. In the first stage, new fat cells could arise from a mesenchymal stem cells or through the dedifferentiation of adipocytes to preadipocytes. Then preadipocytes proliferate and terminal differentiation into mature adipocytes in the second stage. The differentiation of adipocytes from preadipocytes has been extensively studied in the cell lines of preadipocyte such as 3T3-L1. This paper reviewed the advance in molecular mechanism of differentiation of adipocytes which mainly involved the epigenomic activation of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) induced by adipogenic stimuli and the synergistic action between activated PPAR γ and CCAAT enhancer binding protein (C/EBP) family transcription factors during the process of transformation from committed preadipocytes to terminally differentiated cells. Meanwhile, the focal points and developing trend about the differentiation of adipocytes were also discussed.

Keywords adipogenesis; adipose differentiation; PPAR; C/EBP; 3T3-L1

收稿日期: 2016-12-02 接受日期: 2017-03-06

中央高校基本科研业务费专项资金项目(批准号: 31920160069、31920150041)资助的课题

*通讯作者。Tel: 15117119103, E-mail: huangrui0813@126.com

Received: December 2, 2016 Accepted: March 6, 2017

This work was supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (Grant No.31920160069, 31920150041)

*Corresponding author. Tel: +86-15117119103, E-mail: huangrui0813@126.com

网络出版时间: 2017-05-19 18:28:22

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170519.1828.018.html>

随着人们生活水平的不断提高, 肥胖已经成了世界性的健康问题。不健康的生活方式、饮食习惯等使肥胖人口数量在发达国家和发展中国家迅速增长, 从2011至2012年, 美国0~2岁的儿童有8.1%超重, 2~19岁的孩子中肥胖孩子所占比例达到16.9%, 20岁及以上的成年人中肥胖人口比例达到34.9%^[1]。

肥胖由个体的能量摄入率超出能量消耗率而产生。在细胞水平上, 肥胖是个体脂肪细胞的数目或体积增加所导致的结果^[2]。细胞是多细胞生物的基本结构和功能单位。生物体从一个受精卵发育成一个正常的个体, 不仅要经历细胞的增殖, 还要经历细胞的分化过程。细胞增殖和分化是多细胞生物发育过程中的两个基本过程^[3]。人们通常认为, 增殖状态的细胞必须先退出细胞周期才能进行分化, 通常在细胞周期的G₁期, 细胞将根据其内外环境因素决定是继续分裂还是停止分裂进入分化状态。细胞的分裂能力越强其分化能力越差, 尤其是一些特化细胞, 如神经细胞、脂肪细胞完全丧失了细胞的分裂能力^[4]。另外, 已知细胞的增殖和分化过程之间存在着精密的协调作用^[5]。过去认为, 脂肪细胞只是具有单纯的储存能量的功能。近几年的研究发现, 脂肪细胞还具有重要的调节内分泌的功能^[6]。有研究报道, 过度肥胖被认为是诸如冠心病、高血压、2型糖尿病、癌症、呼吸系统疾病和骨关节炎等一系列代谢紊乱疾病的最危险的因素之一^[7]。

脂肪组织分为白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)和褐色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT), 对应的脂肪细胞被分为白色脂肪细胞和褐色脂肪细胞^[8]。所有的脂肪细胞, 连同成骨细胞、肌细胞和软骨细胞一起, 均从间充质干细胞分化获得, 而这种分化的过程被称为脂肪的生成过程^[9]。本文只讨论白色脂肪细胞的生成过程。

成熟的脂肪细胞形成包括两个阶段: 这两个阶段分别是决定和终末分化。如图1所示, 多能间充质干细胞是前脂肪细胞的前体。一旦细胞决定分化, 前脂肪细胞会进入接触抑制阶段, 细胞形态等发生改变, 然后当加入脂肪生成的刺激因子时, 前脂肪细胞形态发生改变(变圆), 脂滴积累转化为成熟的脂肪细胞^[10]。本文主要综述前脂肪细胞分化过程中的分子机制以及表观遗传方面的修饰激活脂肪形成的主要调控因子。

1 脂肪细胞分化的调控网络

前脂肪细胞能够定向分化为脂肪细胞, 但是前脂肪细胞在没有外源脂肪生成刺激因子时, 不会自发的经历终末分化过程。小鼠的3T3-L1前脂肪细胞系是最常用的诱导白色脂肪分化的体外研究细胞模型^[12]。在体外, 通过添加包括糖皮质激素、cAMP激动剂和胰岛素等在内的脂肪生成刺激因子时, 3T3-L1细胞诱导分化为成熟的脂肪细胞^[13]。一系列的信号通路、转录因子及其相关蛋白在这一过程中被激活(图2)。

1.1 脂肪细胞分化过程中的信号通路

1.1.1 WNT信号通路 WNT蛋白质家族的成员属于分泌糖蛋白, 在发育过程中发挥着关键的作用。经典的WNT信号是由WNT配体, 如WNT10B结合细胞表面的异二聚体受体, 这些受体包括低密度脂蛋白受体相关的蛋白5/6(low-density lipoprotein receptor-related 5/6, LRP5/LRP6)以及卷曲蛋白。当WNT配体结合到LRP5/LRP6和卷曲蛋白形成的异二聚体时, 诱导 β -连蛋白进入细胞核, 募集连环素蛋白依赖的共激活复合体(β -catenin-dependent co-activator complex)结合到T细胞特异的转录因子(T cell-specific transcription factors, TCFs)上, 激活

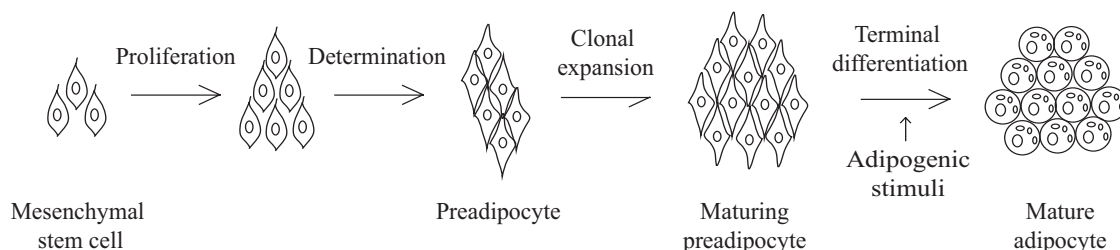
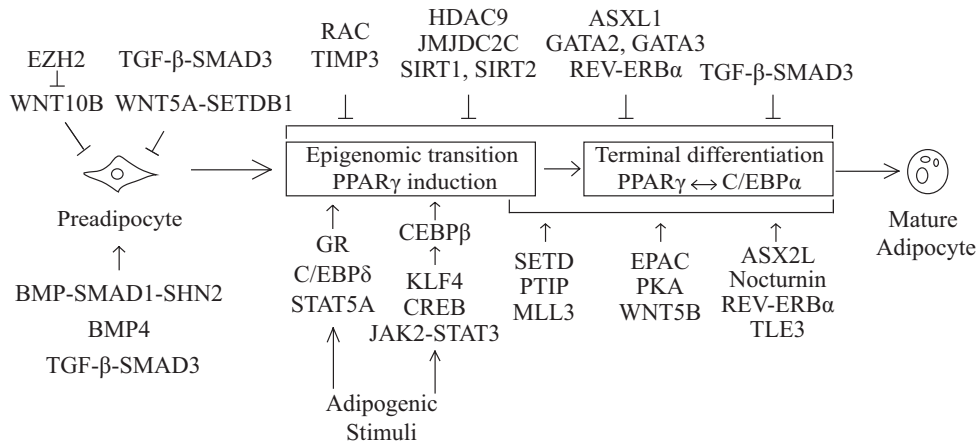


图1 多能间充质干细胞定向诱导分化为成熟的脂肪细胞的模型(根据参考文献[56]修改)

Fig.1 The multipotent mesenchymal stem cell (MSC) differentiation induced to mature adipocyte (modified from reference [56])



RAC: Ras相关C3肉毒杆菌毒素; TIMP3: 基质金属蛋白酶组织抑制剂3。

RAC: Ras-related C3 botulinum toxin; TIMP3: tissue inhibitor of MMP 3.

图2 影响脂肪分化过程的信号分子(根据参考文献[11]修改)

Fig.2 Cue signaling molecules influencing adipogenesis (modified from reference [11])

下游靶基因转录^[14]。经典的WNT信号通路抑制脂肪的形成^[14]。研究发现, 当前脂肪细胞内加入WNT配体时, 脂肪的形成被抑制^[15]。在前脂肪细胞内通过组蛋白甲基转移酶zeste2同源物增强子EZH2(enhancer of zeste homolog 2)抑制WNT10B和其他经典配体能够促进脂肪细胞分化^[16]。同样, 发现缺失WNT受体LRP6的小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts, MEFs)中的脂肪分化增强^[17]。然而, WNT信号通路抑制脂肪的生成细节目前还未知, WNT5B是非经典的WNT配体, 通过抑制β-连蛋白向细胞核转移, 间接促进脂肪生成。WNT5A也属于非经典的配体信号, 也抑制脂肪的生成, 通过激活组蛋白甲基转移酶SET结构域分支型1[Su(var)3-9, enhancer-of-zeste and trithorax domain bifurcated 1, SETDB1]、NEMO-like激酶(NEMO-like kinase, NLK)和染色质解旋酶DNA-结合蛋白7(chromodomain helicase DNA-binding 7, CHD7)抑制目的基因的转录。

1.1.2 TGF-β超家族信号通路 转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)超家族配体被成型基因分泌。其中一些配体对间充质干细胞的遗传决定和前脂肪细胞向终末分化细胞的决定非常重要^[18]。TGF-β是该家族最典型的一个成员, 其在脂肪形成方面的详细功能至今还不是很清楚, TGF-β在肥胖的人和肥胖的模式动物中表达量较高^[18], 但是在3T3-F442A细胞的脂肪形成过程中被SMAD3(mothers against decapentaplegic homolog 3)抑制^[19]。然而, SMAD3基因缺失的小鼠能够抵

制饮食诱导的肥胖, 这些小鼠的脂肪形成的能力降低^[20]。尽管体内和体外的研究结果相矛盾, 很可能是TGF-β-SMAD3信号通路的异常激活, 或者是内源TGF-β和SMAD3的精细调控所致^[11]。因此, TGF-β-SMAD3信号通路可能在白色脂肪组织膨胀的早期阶段具有促进多能祖细胞向脂肪细胞转化的潜能, 但是在前脂肪细胞向脂肪细胞的转化过程中却起到抑制作用^[21]。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)是TGF-β超家族的成员, 已被发现参与脂肪生成^[18]。BMPs通过激活SMADs而促进脂肪生成。BMP2激活SMAD1并促进转录激活子SHN2(schnurri 2)向细胞核转移, 直接激活过氧化物增殖物受体γ(peroxisome proliferator-activated receptor γ, PPARγ)在早期脂肪细胞分化过程中表达。BMP4在C3H10T1/2细胞内也能响应脂肪生成的刺激, 特异地促进白色脂肪细胞分化^[22]。

1.2 脂肪分化过程中的调控因子

一旦前脂肪细胞决定向脂肪细胞转化, 一系列转录因子被激活, 诱导代谢基因和脂肪因子的表达, 如脂肪酸结合蛋白4(fatty acid-binding protein 4, FABP4)、葡萄糖转运蛋白4(glucose transporter 4, GLUT4)、瘦蛋白(leptin)和脂联素(liponectin)等被活化, 这个阶段就是终末分化阶段^[23]。研究人员通过在汇合状态的前脂肪细胞中加入脂肪分化刺激因子, 发现了多种调控终末分化的分子机制, 尤其是通过糖皮质激素介导的糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)和cAMP激动剂介导的蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)依赖的和非依赖的途径^[24]。

1.2.1 DNA甲基化对脂肪细胞分化的影响 人们通常认为, 增殖状态的细胞必须先退出细胞周期才能进行分化。然而, Wu等^[25]在3T3-L1细胞的研究中发现, 在细胞接触抑制阶段, 3T3-L1细胞被许可获得分化潜能, 其中表观遗传因素(DNA甲基化和组蛋白乙酰化)可能参与了此过程。如果在接触抑制阶段干扰相应的表观遗传变化, 随后的分化效率将大为降低。更重要的是, 这些表观遗传变化在细胞传代过程中被保留。与此对应的是, 获得分化潜能的细胞则在细胞周期的不同时间点都可以被诱导分化^[25]。

研究表明, 脂肪细胞分化过程中部分关键基因的DNA甲基化影响其表达水平。瘦蛋白是一种调节能量稳态的脂肪激素。瘦蛋白的启动子富含CpG位点, 是染色体组织特异性甲基区, 在人和小鼠体内可发生动态甲基化。通过检测3T3-L1细胞分化前后瘦蛋白基因启动子区CpG位点DNA甲基化的变化, 证实脂肪细胞分化前后该基因启动子区DNA甲基化程度降低, DNA去甲基化促进瘦蛋白基因在3T3-L1细胞内的表达^[26]。Yokomori等^[27]发现, 在3T3-L1分化过程中*GLUT4*启动子区也表现出类似的DNA甲基化变化。Horii等^[6]通过甲基化敏感性内切酶PCR方法筛选出一种小G蛋白Rho家族鸟嘌呤核苷酸交换因子(Rho guanine nucleotide exchange factor 19, *ARHGEF19*)基因, 现已证明, 该基因在调控脂肪细胞分化方面具有重要作用。对脂肪分化关键调控因子PPAR γ 的研究发现, DNA甲基化抑制剂5-脱氧杂氮胞苷(5-aza-2'-deoxycytidine, AzaD)可干扰3T3-L1前脂肪细胞的正常分化, 抑制脂肪细胞中脂质的积累^[8]。但与此矛盾的报道是, AzaD在3T3-L1前脂肪细胞分化过程中上调PPAR γ 的表达, 其机理尚不明确^[9]。此外, 调控PPAR甲基化的一些调控基因也在间接地调控脂肪的生成。Wakabayashi等^[28]发现, 组蛋白赖氨酸甲基转移酶SET[Su(var)3-9, enhancer-of-zeste and trithorax]结构域蛋白PR-SET7/SETD8也参与前脂肪细胞分化, 组蛋白H4的赖氨酸20(histone H4 lysine 20, H4K20)的单甲基化转移酶PR-SET7/SETD8在脂肪生成时PPAR γ 被上调, PR-SET7/SETD8通过H4K20单甲基化正调控PPAR γ 基因的表达。H4K3甲基转移酶(myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukaemia 3, MLL3)参与脂肪生成过程, MLL3功能缺失的小鼠只有很少的白色脂肪组

织^[29]。相反, jumonji结构域蛋白2C/lysine脱甲基酶4C(jumonji domain-containing 2C/lysine demethylase 4C, JMJD2C/KDM4C)抑制脂肪生成, 这种抑制作用很可能是I型组蛋白脱乙酰酶(histone deacetylase, HDAC)的结合导致的^[30]。PAX(paired box)反式激活结构域互作蛋白PTIP(PAX transactivation domain interacting protein, 也称PAXIP1)和MLL3、MLL4形成一复合体, 增加PPARG/和CEBPA启动子区的H3K4me3。PTIP缺失抑制脂肪分化^[31]。此外, 转录调控因子ASXL1(additional sex comb-like 1)和ASXL2能够募集组蛋白甲基转移酶到基因的启动子区域, 分别抑制和刺激脂肪的生成^[32]。

1.2.2 组蛋白乙酰化在脂肪细胞分化过程中的作用 研究发现, 当在体外培养的脂肪生成细胞模型内加入脂肪生成刺激因子时, PPAR基因的表现遗传修饰状态被包括CCAAT增强子结合蛋白家族(CCAAT/enhancer-binding protein, C/EBP)及GR调控^[33]。基因组水平上的组蛋白修饰位点(如H3K9被乙酰化为H3K9ac, 或H3K27被乙酰化为H3K27ac)的研究表明, PPAR基因转录起始位点上游122 Kb的位置存在多处功能增强位点^[34]。由于脂肪生成过程中组蛋白乙酰化的动态改变, 因此, 有多种调控这些位点的蛋白被证明参与脂肪细胞的分化过程, 如HDACs具有亚型特异功能和脱靶效应, 如II型HDAC的抑制能够抑制脂肪生成, II型HDAC蛋白HDAC9抑制脂肪生成不依赖于脱乙酰化酶^[35]。此外, 脂肪生成时III型HDACs蛋白sirtuin 1和sirtuin 2的表达下调, 并且抑制白色脂肪组织分化^[36-37]。

基因组甲基化模式的重编程可能构成基因表达调控的另一种编码, 其中有关C/EBP α 甲基化水平是否影响脂肪细胞的分化至今未有报道。此外, PPAR γ 和C/EBP α 对其下游靶基因的表达调控也是脂肪分化调控的关键。

1.2.3 PPARs和C/EBPs等重要转录因子的调控作用 迄今为止, 此过程中转录因子的表达和调控被研究得最多, 主要是有关PPARs和C/EBPs转录因子的研究。其中, PPAR γ 和C/EBP α 被认为是脂肪细胞分化过程中必不可少的转录因子^[38]。

PPAR是一种配体激活的转录因子, 属于类固醇/甲状腺激素受体超家族的成员^[39]。PPAR通过与类视黄醇X受体(retinoid X receptor, RXR)形成异二聚体募集转录共激活蛋白, 并与靶基因上的结合位

点结合^[40], 是一类细胞内抗糖尿病的噻唑烷二酮类药物(thiazolidinediones, TZDs)。该物质起初被命名为PPAR, 随后其结构类似物PPAR β 和PPAR γ 也被发现。PPAR γ 和PPAR β 在脂肪生成时表达, PPAR γ 主要在脂肪生成的早期表达量迅速增加^[41]。PPAR γ 又可分为PPAR γ 1和PPAR γ 2两个同分异构体, 两者只有N-端的某些氨基酸序列稍有差异, 决定了其脂肪细胞表达的特异性不同^[42]。PPAR γ 1在脂肪细胞表达量较其他细胞中低, 而在乳腺和前列腺组织中表达量较高, PPAR γ 2仅特异地在脂肪细胞内表达^[43]。

研究发现, PPAR γ 在C/EBP α 缺陷的细胞中也能够促进脂肪的形成。Rosen等^[44]也建立了一种稳定的不表达PPAR γ 的成纤维细胞系, 验证了在PPAR γ 缺陷的细胞中, C/EBP α 并不会促进脂肪的形成, 因此, PPAR γ 对于脂肪的形成是必需的。PPAR γ 基因敲除导致脂肪组织不能形成, PPAR γ 激动剂能强烈促进脂肪细胞的分化。因此, 没有PPAR γ 时, 终末分化不能发生。PPAR γ 在分化早期被激活, PPAR δ 也在分化的早期被激活, 它能促进PPAR γ 的激活和表达^[45]。在分化过程的早期, 转录因子C/EBP β 和C/EBP δ 的表达很快增加, 随后, 活化的C/EBP β 和C/EBP δ 激活C/EBP α 和PPAR γ 。C/EBP α 和PPAR γ 不仅能促进自身的表达增加, 而且还能够相互刺激对方的激活和表达^[45], 这两个转录因子对于大部分脂肪细胞特异基因[如aP2(a carrier protein for fatty acids)、GLUT4、瘦蛋白、胰岛素受体等]的表达是必需的, 它们的表达和被激活稍早于脂肪细胞中大多数功能基因的表达和激活^[25,45]。

此外, 一些调控PPAR活性和表达水平的蛋白质也间接地影响脂肪分化过程。例如, 生物钟转录因子REV-ERB α [也称为NR1D1(nuclear receptor subfamily 1, group D, member 1)], 能够被脂肪刺激因子调控、敲除和过表达该蛋白质时, 在终末分化阶段分别抑制脂肪生成和诱导PPAR γ ^[46]。Nocturnin是一个昼夜节律调控蛋白, 在终末分化阶段共激活PPAR γ , 并增强其活性, 因此也间接地促进脂肪分化^[47]。其他的转录因子[如GATA-结合蛋白(GATA2和GATA3)]抑制PPAR γ 活性, 因此, 当加入脂肪刺激因子时, 抑制前脂肪细胞向脂肪细胞转化^[48], 相反地, Groucho家族成员转导蛋白样增强子3(transducin-like enhancer 3, TLE3)是PPAR γ 的共激活因子, 促进脂肪生成^[49]。

C/EBPs是一类在许多不同类型的细胞发育阶

段起作用的广泛表达的转录因子。C/EBP通过脂肪生成的刺激因子被激活。C/EBP α 在3T3-L1前脂肪细胞中过量表达会引起脂肪细胞自动分化, C/EBP α 基因敲除的小鼠因为没有脂肪组织, 存在严重的代谢紊乱, 所以在出生后一周内死亡^[45]。基因组水平的研究表明, 加入脂肪生成刺激因子之前, C/EBP β 在前脂肪细胞的决定阶段以很低的水平存在。当加入脂肪生成刺激因子后, 基因组水平表现出了活跃的增强子和募集其他脂肪形成转录因子的作用, 如C/EBP δ 、转录5A激活子(signal transducer and activator of transcription 5A, STAT5A)、GR和RXR的特征。C/EBP β 对于除C/EBP δ 之外的其他关键转录因子的结合是必需的^[50]。当加入脂肪生成刺激因子时, C/EBP β 被诱导表达。此外, cAMP激动剂能显著诱导C/EBP β 表达^[51], 这个过程由转录激活子响应cAMP结合元件的蛋白CREB(cAMP response element-binding protein)介导。在早期脂肪生成过程中, 当加入cAMP激动剂时, CREB磷酸化, 磷酸化的CREB直接激活C/EBP β ^[51]。研究发现, 在前脂肪细胞内, JAK2(Janus kinase 2)和STAT3信号通路也直接激活C/EBP β ^[52]。KLF4(Krüppel-like 4)也在终末分化的早期直接激活C/EBP β ^[53]。当加入脂肪形成的激动剂时, C/EBP β 和C/EBP δ 增加并使包括GR、信号转导子和STAT5A、RXR和一个共激活复合体在内的转录激活复合物募集, 而这些结合点同时又是DNase I敏感区和激活的组蛋白区(如乙酰化和甲基化)。

2 展望与讨论

脂肪细胞分化的分子机制及其调控方面的研究, 不仅对于探讨重大生命和疾病过程具有重要理论意义, 而且对于疾病的预防与治疗, 特别是对于在细胞和分子水平上筛选针对这些疾病的药物, 具有实际意义。过去关于脂肪细胞分化的大部分研究都集中于转录水平调控的研究方面。目前, 越来越多的研究人员把研究的焦点集中在了脂肪细胞分化的其他复杂的调控方面^[54]以及筛选抑制脂肪细胞分化的药物方面。Andersen等^[55]提到了多种植物化合物在抑制前脂肪细胞分化、刺激脂类分解、诱导已经存在的脂肪细胞凋亡方面具有重要作用, 如黄酮类和芪类化合物。另外, 也有一些体内外的实验研究酚酸、生物碱、维生素等植物类化合物对脂肪形

成的作用。然而, 这些药物的临床试验仍然缺乏^[56]。此外, 这些研究多数都是在细胞水平上进行的, 没有发现在生物体内脂肪分化过程中的特异标记性蛋白, 因此, 对于体内脂肪的分化过程的研究仍有待于进一步的探索和验证。

参考文献 (References)

- Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. *JAMA* 2014; 311(8): 806-14.
- Ginsbergfellner F, Knittle JL. Weight reduction in young obese children. I. Effects on adipose tissue cellularity and metabolism. *Pediatr Res* 1981; 15(10): 1381-9.
- Musri MM, Gomis R, Parrizas M. Chromatin and chromatin-modifying proteins in adipogenesis. *Biochem Cell Biol* 2007; 85(4): 397-410.
- Buttitta LA, Edgar BA. Mechanisms controlling cell cycle exit upon terminal differentiation. *Curr Opin Cell Biol* 2007; 19(6): 697-704.
- Ruijtenberg S, van den Heuvel S. Coordinating cell proliferation and differentiation: Antagonism between cell cycle regulators and cell type-specific gene expression. *Cell Cycle* 2016; 15(2): 196-212.
- Horii T, Morita S, Kimura M, Hatada I. Epigenetic regulation of adipocyte differentiation by a Rho guanine nucleotide exchange factor, WGEF. *PLoS One* 2009; 4(6): e5809.
- Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature* 2000; 404(6778): 635-43.
- Sakamoto H, Kogo Y, Ohgane J, Hattori N, Yagi S, Tanaka S, *et al.* Sequential changes in genome-wide DNA methylation status during adipocyte differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 366(2): 360-6.
- Fujiki K, Kano F, Shiota K, Murata M. Expression of the peroxisome proliferator activated receptor γ gene is repressed by DNA methylation in visceral adipose tissue of mouse models of diabetes. *BMC Biol* 2009; 7(1): 1-14.
- Algire C, Medrikova D, Herzig S. White and brown adipose stem cells: From signaling to clinical implications. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1831(5): 896-904.
- Cristancho AG, Lazar MA. Forming functional fat: A growing understanding of adipocyte differentiation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12(11): 722-34.
- Green H, Kehinde O. Spontaneous heritable changes leading to increased adipose conversion in 3T3 cells. *Cell* 1976; 7(1): 105-13.
- Zebisch K, Voigt V, Wabitsch M, Brandsch M. Protocol for effective differentiation of 3T3-L1 cells to adipocytes. *Anal Biochem* 2012; 425(1): 88-90.
- Takada I, Kouzmenko AP, Kato S. Wnt and PPAR γ signaling in osteoblastogenesis and adipogenesis. *Nat Rev Rheumatol* 2009; 5(8): 442-7.
- Ross SE, Hemati N, Longo KA, Bennett CN, Lucas PC, Erickson RL, *et al.* Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling. *Science* 2000; 289(5481): 950-3.
- Wang L, Jin Q, Lee JE, Su IH, Ge K. Histone H3K27 methyltransferase Ezh2 represses Wnt genes to facilitate adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(16): 7317-22.
- Kawai M, Mushiaki S, Bessho K, Murakami M, Namba N, Kokubu C, *et al.* Wnt/Lrp/ β -catenin signaling suppresses adipogenesis by inhibiting mutual activation of PPAR γ and C/EBP α . *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 363(2): 276-82.
- Zamani N, Brown CW. Emerging roles for the transforming growth factor- β superfamily in regulating adiposity and energy expenditure. *Endocr Rev* 2011; 32(3): 387-403.
- Choy L, Skillington J, Derynckab R. Roles of autocrine TGF receptor and smad signaling in adipocyte differentiation. *J Cell Biol* 2000; 149(3): 667-82.
- Yadav H, Quijano C, Kamaraju AK, Gavrilova O, Malek R, Chen W, *et al.* Protection from obesity and diabetes by blockade of TGF- β /Smad3 signaling. *Cell Metab* 2011; 14(14): 67-79.
- James AW. Review of signaling pathways governing MSC osteogenic and adipogenic differentiation. *Scientifica* 2013; doi: 10.1155/2013/684736.
- Kanesashi SN. Schnurri-2 controls BMP-dependent adipogenesis via interaction with Smad proteins. *Dev Cell* 2006; 10(4): 461-71.
- Lefterova MI, Lazar MA. New developments in adipogenesis. *Med Clin North Am* 2009; 89(6): 1379-97.
- Tzamelis I, Fang H, Ollero M, Shi H, Hamm JK, Kievit P, *et al.* Regulated production of a peroxisome proliferator-activated receptor- γ ligand during an early phase of adipocyte differentiation in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem* 2004; 279(34): 36093-102.
- Guo W, Zhang KM, Tu K, Li YX, Zhu L, Xiao HS, *et al.* Adipogenesis licensing and execution are disparately linked to cell proliferation. *Cell Res* 2009; 19(2): 216-23.
- Kuroda M, Tominaga A, Nakagawa K, Nakagawa K, Nishiguchi M, Sebe M, Miyatake Y, *et al.* DNA methylation suppresses leptin gene in 3T3-L1 adipocytes. *PLoS One* 2016; 11(8): e0160532.
- Yokomori N, Tawata M, Onaya T. DNA demethylation during the differentiation of 3T3-L1 cells affects the expression of the mouse GLUT4 gene. *Diabetes* 1999; 48(4): 685-90.
- Wakabayashi K, Okamura M, Tsutsumi S, Nishikawa NS, Tanaka T, Sakakibara I, *et al.* The peroxisome proliferator-activated receptor γ /retinoid X receptor α heterodimer targets the histone modification enzyme PR-Set7/Setd8 gene and regulates adipogenesis through a positive feedback loop. *Mol Cell Biol* 2009; 29(13): 3544-55.
- Lee J, Saha PK, Yang QH, Lee S, Park JY, Suh Y, *et al.* Targeted inactivation of MLL3 histone H3-Lys-4 methyltransferase activity in the mouse reveals vital roles for MLL3 in adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(49): 19229-34.
- Lizcano F, Romero C, Vargas D. Regulation of adipogenesis by nuclear receptor PPAR γ is modulated by the histone demethylase JMJD2C. *Genet Mol Biol* 2011; 34(1): 19-24.
- Cho YW, Hong S, Jin Q, Wang L, Lee JE, Gavrilova O, *et al.* Histone methylation regulator PTIP is required for PPAR γ and C/EBP α expression and adipogenesis. *Cell Metab* 2009; 10(1): 27-39.
- Izawa T, Rohatgi N, Fukunaga T, Wang QT, Silva MJ, Gardner MJ, *et al.* ASXL2 regulates glucose, lipid, and skeletal homeostasis. *Cell Rep* 2015; 11(10): 1625-37.

- 33 Siersbæk R, Nielsen R, John S, Sung MH, Baek S, Loft A, *et al.* Extensive chromatin remodelling and establishment of transcription factor 'hotspots' during early adipogenesis. *EMBO J* 2011; 30(8): 1459-72.
- 34 Mikkelsen TS, Xu Z, Zhang X, Wang L, Gimble JM, Lander ES, *et al.* Comparative epigenomic analysis of murine and human adipogenesis. *Cell* 2010; 143(1): 156-69.
- 35 Chatterjee TK, Idelman G, Blanco V, Blomkalns AL, Weintraub DS, *et al.* Histone deacetylase 9 is a negative regulator of adipogenic differentiation. *J Biol Chem* 2011; 286(286): 27836-47.
- 36 Picard F, Kurtev M, Chung N, Topark-Ngarm A, Senawong T, Oliveira RMD, *et al.* Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature* 2004; 429(6993): 771-6.
- 37 Lefterova MI, Zhang Y, Steger DJ, Schupp M, Schug J, Cristancho A, *et al.* PPAR γ and C/EBP factors orchestrate adipocyte biology via adjacent binding on a genome-wide scale. *Genes Dev* 2008; 22(21): 2941-52.
- 38 Satoh A, Stein L, Imai S. The role of mammalian sirtuins in the regulation of metabolism, aging, and longevity. *Handb Exp Pharmacol* 2011; 206(2): 125.
- 39 Siersbaek R, Nielsen R, Mandrup S. PPARgamma in adipocyte differentiation and metabolism—novel insights from genome-wide studies. *FEBS Lett* 2010; 584(15): 3242-9.
- 40 Qi C, Zhu Y, Reddy JK. Peroxisome proliferator-activated receptors, coactivators, and downstream targets. *Cell Biochem Biophys* 2000; 32 Spring(1): 187.
- 41 Adams M, Montague CT, Prins JB, Holder JC, Smith SA, Sanders L, *et al.* Activators of peroxisome proliferator-activated receptor gamma have depot-specific effects on human preadipocyte differentiation. *J Clin Invest* 1997; 100(12): 3149-53.
- 42 Tsuchida A, Yamauchi T, Kadowaki T. Nuclear receptors as targets for drug development. molecular mechanisms for regulation of obesity and insulin resistance by peroxisome proliferator-activated receptor gamma, CREB-binding protein, and adiponectin. *J Pharmacol Sci* 2005; 97(2): 164-70.
- 43 Tontonoz P, Hu E, Graves RA, Budavari AI, Spiegelman BM. mPPAR gamma 2 tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes Dev* 1994; 8(10): 1224-34.
- 44 Rosen ED, Hsu CH, Wang X, Sakai S, Freeman MW, Gonzalez FJ, *et al.* C/EBP α induces adipogenesis through PPAR γ a unified pathway. *Genes Dev* 2002; 16(1): 22-6.
- 45 Tang QQ, Zhang JW, Lane MD. Sequential gene promoter interactions of C/EBP β , C/EBP α , and PPAR γ during adipogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 319(1): 235-9.
- 46 Wang J, Lazar MA. Bifunctional role of Rev-erb α in adipocyte differentiation. *Mol Cell Biol* 2008; 28(7): 2213-20.
- 47 Kawai M, Potts JT. A circadian-regulated gene, Nocturnin, promotes adipogenesis by stimulating PPAR- γ nuclear translocation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(23): 10508-13.
- 48 Tong Q, Dalgin G, Xu HY, Chaonan T, Leiden JM, Hotamisligil GS. Function of GATA transcription factors in preadipocyte-adipocyte transition. *Science* 2000; 290(5489): 134-8.
- 49 Villanueva CJ, Waki H, Godio C, Nielsen R, Chou WL, Vargas L, *et al.* TLE3 is a dual function transcriptional coregulator of adipogenesis. *Cell Metab* 2011; 13(13): 413-27.
- 50 Siersbaek R, Nielsen R, John S, Sung MH, Baek S, Loft A, *et al.* Extensive chromatin remodelling and establishment of transcription factor 'hotspots' during early adipogenesis. *EMBO J* 2011; 30(8): 1459-72.
- 51 Zhang JW, Klemm DJ, Vinson C, Lane MD. Role of CREB in transcriptional regulation of CCAAT/enhancer-binding protein beta gene during adipogenesis. *J Biol Chem* 2004; 279(6): 4471-8.
- 52 Zhang K, Guo W, Yang Y, Wu J. JAK2/STAT3 pathway is involved in the early stage of adipogenesis through regulating C/EBP β transcription. *J Cell Biochem* 2011; 112(2): 488-97.
- 53 Birsoy K, Chen Z, Friedman J. Transcriptional regulation of adipogenesis by KLF4. *Cell Metab* 2008; 7(4): 339-47.
- 54 Poulos SP, Dodson MV, Culver MF. The increasingly complex regulation of adipocyte differentiation. *Exp Biol Med* 2016; 241(5): 244-52.
- 55 Andersen C, Rayalam S, Della-Fera MA, Baile CA. Phytochemicals and adipogenesis. *Bio Factors* 2010; 36(6): 415-22.