



Doctoral Thesis

Transdifferentiation of brown adipocytes and regulation of their formation and function

Author(s):

Rosenwald, Matthias Hubert

Publication Date:

2013

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-009907090> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 21067

Transdifferentiation of Brown Adipocytes and Regulation of their Formation and Function

A dissertation submitted to

ETH Zurich

for the degree of
Doctor of Sciences

presented by

Matthias Hubert Rosenwald, geb. Buck

Diplom-Biochemiker, Eberhard-Karls-Universität Tübingen

born 24.04.1983
citizen of Germany

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Christian Wolfrum

Prof. Dr. Johan Auwerx

Prof. Dr. Alex Hajnal

Prof. Dr. Manfred Kopf

2013

Summary

Brown fat or brown adipose tissue enables mammals to maintain their body temperature via non-shivering thermogenesis. Brown adipocytes are the tissue's functional cell type and contain uncoupling protein 1 (UCP1) in their inner mitochondrial membrane. This unique protein allows them to efficiently convert energy from various substrates into heat.

During the past years, the mechanisms underlying brown adipocyte formation and function attracted increasing scientific interest, mainly because functional brown adipocytes were found in adult humans. If it was possible to induce non-shivering thermogenesis pharmacologically, this could provide an efficient therapeutic approach against obesity and related metabolic disorders. The human brown adipocytes are located in patches within the energy-storing white adipose tissue and, similarly, brite (brown-in-white) adipocytes can be found in white adipose tissue of mice. The number of these cells increases during adaptation to colder temperatures and decreases in the warmth. A highly argued theory of their formation is that bidirectional transdifferentiation occurs, i.e. that white and brite adipocytes can be converted directly into the opposed cell type. In order to test this hypothesis *in vivo*, I generated novel transgenic mouse strains for labelling and tracing of brown and brite adipocytes. Using these strains, the changes in certain adipocyte populations were traced and the resulting cells further analysed. I could show that transdifferentiation between brite and white adipocytes indeed occurs in healthy adult mice during adaptation to changes in environmental temperature. In contrast to humans, mice also possess an adipose tissue depot of pure brown adipocytes, located between their shoulder blades and present throughout life independent of environmental temperature. Many of the proteins that control formation of these classical brown adipocytes are known, however our understanding of the regulatory network is still incomplete. Using microarray data of different fat depot cell populations and a small-scale screening set-up, I discovered serum response factor (SRF) to be a negative regulator of brown adipocyte differentiation. This inhibitory effect on brown adipogenesis, effective on several different cell lines, can be controlled by its cofactor myocardin-related

transcription factor A (MRTF-A). Interference with the SRF/MRTF-A signalling axis thus might be an interesting approach for inducing thermogenic capacity pharmacologically.

The best-characterised and most important protein that controls adipocyte differentiation and function is peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ). However, the critical role of this transcription factor in the maintenance of brown adipocyte function *in vivo* is not yet understood. I generated transgenic mice with a specific deletion of PPAR γ solely in brown adipocytes and showed that these cells unexpectedly survive without PPAR γ . The loss of this protein does not lead to any significant changes in whole body metabolism at room temperature. During cold stimulation, however, it results in altered food intake, improved cold tolerance and changes in overall nutrient usage, indicating that brown adipocytes regulate central control mechanisms of metabolism. Therefore, brown adipose tissue plays a role in cold adaptation beyond the heat generation through non-shivering thermogenesis.

The presented findings provide novel insights into the formation and function of brown and brite adipocytes. They lead to a better understanding of how these cells might be recruited to increase the capacity for non-shivering thermogenesis and in which ways they can influence whole body metabolism. The results might contribute to therapeutic approaches counteracting obesity by increasing energy expenditure.

Zusammenfassung

Braunes Fettgewebe ermöglicht es Säugetieren, ihre Körpertemperatur mittels zitterfreier Thermogenese aufrechtzuerhalten. Als funktionalen Zelltyp enthält es braune Fettzellen, die Uncoupling protein 1 (UCP1) in ihrer inneren Mitochondrienmembran besitzen. Dieses einzigartige Protein gestattet ihnen, Energie aus verschiedenen Quellen effizient in Wärme umzuwandeln.

Während der letzten Jahre stieg das Interesse an den Mechanismen, die der Bildung und Funktion von braunen Fettzellen zugrunde liegen, da funktionsfähige braune Fettzellen in erwachsenen Menschen entdeckt wurden. Wenn es möglich wäre, zitterfreie Thermogenese pharmakologisch herbeizuführen, könnte dies einen neuen therapeutischen Ansatz im Kampf gegen Fettleibigkeit und damit zusammenhängende Krankheiten ermöglichen. Die menschlichen braunen Fettzellen befinden sich in kleinen Arealen inmitten des energie-speichernden weißen Fettgewebes. Ähnlich dazu konnten „brite“ (brown-in-white = braun-in-weiß) Fettzellen im weißen Fettgewebe von Mäusen beobachtet werden. Die Anzahl dieser Zellen erhöht sich während der Anpassung an kältere Temperaturen und verringert sich in der Wärme. Eine kontroverse Theorie zu ihrer Entstehung ist die der wechselseitigen Transdifferenzierung, sprich dass „brite“ und weiße Fettzellen sich direkt in den jeweils anderen Zelltyp umwandeln können. Um diese Hypothese *in vivo* zu testen, habe ich neue transgene Mausstämme entwickelt, mit denen sich braune und „brite“ Fettzellen spezifisch anfärben lassen. Mit Hilfe dieser Mausstämme habe ich die Veränderungen in einer bestimmten Fettzell-Population verfolgen und die entstehenden Zellen weiter analysieren können. Ich konnte zeigen, dass Transdifferenzierung zwischen „brite“ und weißen Fettzellen in der Tat während der Anpassung an veränderte Umgebungstemperaturen in gesunden erwachsenen Mäusen stattfindet.

Im Gegensatz zu Menschen besitzen Mäuse zusätzlich ein Fettdepot aus reinen braunen Fettzellen zwischen ihren Schulterblättern, welches während der gesamten Lebensdauer unabhängig von der Umgebungstemperatur vorhanden ist. Viele der Proteine, die die Bildung dieser klassischen braunen Fettzellen kontrollieren, sind bekannt, aber unser Verständnis dieses Prozesses ist noch

unvollständig. Mittels Microarray-Daten verschiedener Zellpopulationen aus unterschiedlichen Fettdepots und einer Analyse daraus gewonnener Kandidaten, habe ich Serum Response Factor (SRF) als einen negativen Regulator der braunen Differenzierung entdeckt. Der inhibierende Effekt auf braune Fettentstehung war auf verschiedenen Zelllinien zu beobachten und kann durch den SRF-Cofaktor Myocardin-related transcription factor A (MRTF-A) kontrolliert werden. Eine Störung des SRF/MRTF-A Signalweges könnte daher ein interessanter Ansatz zur pharmakologischen Erzeugung einer erhöhten Thermogenesekapazität sein.

Das wichtigste und am intensivsten studierte Protein, das die Differenzierung und Funktion von Fettzellen kontrolliert, ist Peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ). Allerdings ist die kritische Rolle dieses Transkriptionsfaktors in der Funktionserhaltung brauner Fettzellen noch nicht vollständig aufgeklärt. Ich habe transgene Mausstämme erzeugt, die kein funktionsfähiges PPAR γ in braunen Fettzellen produzieren können, und konnte zeigen, dass diese Zellen überraschenderweise ohne PPAR γ überleben. Der Verlust dieses Proteins führt zu keinen nennenswerten Veränderungen des Gesamtstoffwechsels bei Raumtemperatur. Während einer Kältestimulation hingegen ergeben sich daraus eine veränderte Nahrungsaufnahme, eine verbesserte Kältetoleranz und Veränderungen in der Nährstoffnutzung. Dies weist darauf hin, dass braune Fettzellen eine Rolle in der Kälteanpassung spielen, die über die reine zitterfreie Thermogenese hinausgeht.

Diese Erkenntnisse bieten neue Einsichten in die Bildung und Funktion von braunen und "brite" Fettzellen. Sie führen zu einem besseren Verständnis davon, wie diese Zellen erzeugt werden um die Kapazität für zitterfreie Thermogenese zu erhöhen und in welcher Weise sie den Stoffwechsel des gesamten Organismus beeinflussen können. Diese Ergebnisse könnten zu neuen therapeutischen Ansätzen gegen Fettleibigkeit durch Steigerung des Energieumsatzes beitragen.