

β -石竹烯通过上调 PPAR γ /PGC-1 α /UCP1 通路促进肥胖小鼠白色脂肪棕色化作用

蒋皓冉¹, 唐晓飞¹, 吴界霖¹, 王姣玲¹, 黄诚宇¹, 祝曙光², 臧林泉¹

¹ 广东药科大学药学院药理实验室, 广州 510006;

² 广东药科大学附属第一医院胸心外科, 广州 510080)

摘要 目的 探究 β -石竹烯(BCP)对肥胖小鼠白色脂肪棕色化的作用及其机制。方法 雄性昆明小鼠高脂饮食辅以丙硫氧嘧啶生理盐水溶液[14.4 mg/(kg·d)]腹腔注射建立肥胖小鼠模型。肥胖模型小鼠随机分为模型组(Model组)和BCP给药组(BCP-50组),正常饮食小鼠设为对照组(Control组),每组8只。BCP给药组按50 mg/kg早晚灌胃给药各一次,其余组用吐温80水溶液灌胃,持续4周。4周给药结束后进行口服糖耐量实验,实验结束禁食过过夜后处死小鼠,快速收集血液样本和脂肪组织用于后续实验检测。试剂盒检测血清学相关指标;苏木精-伊红染色观察脂肪组织形态;免疫组化染色观察脂肪组织解偶联蛋白1(UCP1)表达;Western blot检测附睾白色脂肪(eWAT)中过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活剂1- α (PGC-1 α)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)、UCP1和大麻素受体2(CNR2)蛋白的表达。结果 与Model组相比,BCP-50组肥胖小鼠的体质量显著减轻($P < 0.05$),摄食量减少($P < 0.01$),胰岛素抵抗得到改善($P < 0.0001$),肥胖小鼠血清中低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和非酯化脂肪酸(NEFA)含量降低($P < 0.0001$ 和 $P < 0.01$),总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量无明显变化。此外,BCP-50组肥胖小鼠的脂肪系数和eWAT比重降低($P < 0.05$);eWAT和BAT中脂肪细胞减小,UCP1蛋白表达升高($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$);除了UCP1外,BCP-50组肥胖小鼠eWAT中PGC1 α 、PPAR γ 和CNR2蛋白的表达水平也明显升高($P < 0.01$, $P < 0.05$ 和 $P < 0.001$)。结论 BCP通过上调PPAR γ /PGC-1 α /UCP1通路表达促进白色脂肪棕色化,从而改善肥胖。

关键词 β -石竹烯;白色脂肪棕色化;白色脂肪组织;附睾白色脂肪组织;过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ;过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活剂1- α ;解偶联蛋白1

中图分类号 R 966;R 589.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)09-1591-08

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.09.014

肥胖已成为一项全球的公共卫生挑战。然而目前上市的药物存在减肥效果不佳,药物副作用大、易反弹等缺点。因此,迫切需要开发新的安全有效的减肥药物。机体的能量摄入大于能量消耗是肥胖发生的根本原因^[1]。脂肪组织可调节全身的能量代谢,其包括白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)、米色脂肪组织和棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)。在特定条件下,白色脂肪可转化为米色脂肪,这一过程称为“白色脂肪棕色化”^[2-3]。近年来,促进白色脂肪棕色化,增加机体

能量消耗已成为改善肥胖的新策略。 β -石竹烯(β -caryophyllene, BCP)是一种膳食大麻素,本课题组前期研究^[4]显示BCP具有减肥作用。有研究^[5]表明BCP能上调白色脂肪中解偶联蛋白1(uncoupling protein 1, UCP-1)的表达,这提示其可能具有促进WAT褐变的潜能。该研究探讨了BCP是否具有促进白色脂肪棕色化作用以及其潜在机制,为肥胖药物的开发提供新选择。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂 BCP(纯度98%,CAS:87-44-5,西安小草植物科技有限公司);丙硫氧嘧啶(51-52-5,上海麦克林生物科技有限公司);吐温80(天津市大茂化工厂);血糖试纸(三诺生物传感股份有限公司);总胆固醇(total cholesterol, TC)检测试剂盒、三酰甘油(triglyceride, TG)检测试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)检测试剂盒和高密度脂蛋白胆固醇(high density

2024-08-27 接收

基金项目:广东省自然科学基金(编号:2017A030313856)

作者简介:蒋皓冉,女,硕士研究生;

臧林泉,男,教授,硕士生导师,通信作者, E-mail: zanglq@gdpu.edu.cn;

祝曙光,男,主任医师,通信作者, E-mail: zhusg65@126.com

lipoprotein cholesterol, HDL-C) 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所);非酯化脂肪酸(nonesterified fatty acid, NEFA)含量测定试剂盒(上海江莱生物科技有限公司);HE 染液套装(武汉塞维尔生物科技有限公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)(上海碧云天生物技术有限公司);鼠源 β -actin、GADPH 和过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活剂 1- α (peroxisome proliferator-activated receptor γ co-activator1- α , PGC-1 α) 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司);兔源 UCP1 和过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) 抗体(万类生物科技有限公司);兔源大麻素受体 2(cannabinoid receptor 2, CNR2) 抗体(武汉塞维尔生物科技有限公司)。

1.2 实验动物 30 只 18~22 g 雄性 SPF 级昆明小鼠购自南方医科大学实验动物管理中心,许可证号 SCXK(粤)2021-0041。所有动物饲养于广东药科大学实验动物中心 SPF 环境中,自由饮食饮水,12 h 光照/12 h 黑暗,湿度 40%~50%。动物实验已获得广东药科大学实验动物伦理委员会批准(批准号:gdpulacSPF2022372)。

1.3 实验方法

1.3.1 药液配制 按照等量递加法,以纯水为溶剂,适量体积的 BCP 和吐温 80(体积占比 2%)研磨制备得到 BCP 乳液,涡旋 10 min 后,低温超声 20 min 即可得 BCP 药液。

1.3.2 动物分组与实验设计 参考课题组前期造模方法^[6],30 只 KM 小鼠适应性喂养 7 d 后,随机分为正常对照组(Control 组)8 只和高脂饮食组 22 只,正常饮食组小鼠给予正常饲料和正常水喂养,同时以生理盐水溶液腹腔注射;高脂饮食组小鼠给予高脂饲料和 5% 糖水喂养,同时辅以丙硫氧嘧啶生理盐水溶液(14.4 mg/kg)腹腔注射,1 次/d。持续造模 63 d 后高脂饮食组有 16 只小鼠肥胖模型复制成功,将其随机分为模型组(Model 组)和 BCP 给药组(50 mg/kg, BCP-50 组),每组 8 只。参考课题组前期研究^[6]的给药剂量,BCP-50 组小鼠每天按 50 mg/kg 剂量灌胃给药 2 次,早晚各 1 次,同时 Control 组和 Model 组灌胃等体积吐温 80 水溶液,持续 28 d。

1.3.3 小鼠体质量和摄食量测定 每天固定时间称量并记录各组剩余饲料和补充饲料,每周固定时间称量各组小鼠体质量。

1.3.4 口服葡萄糖耐量实验 28 d 给药结束后,小

鼠禁食不禁水过夜,称重,尾尖取血测量血糖记为 0 min 血糖,之后以 2 g/kg 剂量灌胃葡萄糖溶液,分别测量并记录 15、30、60、90、120 min 时血糖水平。

1.3.5 血清学相关指标的测定 小鼠禁食不禁水过夜后以异氟烷麻醉,摘眼球取血,血液样本室温下静置 1 h 后,4 $^{\circ}$ C、3 000 r/min 离心 15 min,取上清液,按照试剂盒说明书进行测定。

1.3.6 脂肪组织的采集与指标测定 取血后脱颈处死小鼠,进行解剖,分别收集附睾白色脂肪组织(epididymal white adipose tissue, eWAT)、BAT 和其他脂肪组织。称重后计算脂肪组织与体质量的比值。脂肪系数 = 脂肪组织总质量/体质量 \times 100%; eWAT 比重 = eWAT 质量/体质量 \times 100%; BAT 比重 = BAT 质量/体质量 \times 100%。

1.3.7 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色观察脂肪组织形态学 取部分 eWAT、BAT 固定于 4% 多聚甲醛固定液中固定 48 h 后,经洗涤、乙醇梯度脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、切片(5 μ m)后常规 HE 染色得到脂肪组织切片,光学显微镜下放大 200 倍观察并拍照记录脂肪组织形态。

1.3.8 免疫组化(immunohistochemical, IHC)染色观察脂肪组织 UCP1 表达 取脂肪组织石蜡块切片,脱蜡水化,抗原修复、阻断内源性过氧化物酶、BSA 封闭,UCP1 抗体(1:400 稀释)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,洗涤 3 次,对应的二抗(1:200)室温孵育 1 h, DAB 显色,HE 复染细胞核得到免疫组化切片,光学显微镜下放大 200 倍观察并拍照记录。

1.3.9 Western blot 检测 eWAT 中白色脂肪棕色化相关蛋白的表达 取冷冻的 eWAT 组织加入预冷的裂解液后充分研磨,4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 30 min,取上清液,用 BCA 蛋白定量试剂盒定量 35 μ g 后,加入 5 \times SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液和纯水,100 $^{\circ}$ C 金属浴 5 min 得到蛋白上样液。用 10% SDS PAGE 凝胶电泳,转膜, TBST 缓冲液洗涤,5% BSA 封闭 1.5 h,洗涤 3 次,一抗(β -actin 浓度为 1:20 000; GADPH 浓度为 1:100 000; PGC-1 α 浓度为 1:20 000; PPAR γ 浓度为 1:500; UCP1 浓度为 1:1 000; CNR2 浓度为 1:1 000)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,洗涤,二抗(HRP 偶联的山羊抗兔 IgG 和 HRP 偶联的山羊抗小鼠 IgG 浓度均为 1:10 000)室温封闭 1 h,洗涤, ECL 显色,全自动发光仪显影。

1.4 统计学处理 所有数据采用 SPSS 27.0 进行统计学分析,以均数 \pm 标准误($\bar{x} \pm s$)表示。组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)法,以 $P <$

0.05 表示差异有统计学意义。使用 GraphPad Prism 8 软件进行绘图。

2 结果

2.1 BCP 对肥胖小鼠体质量和摄食量的影响

BCP 给药期间, Model 组小鼠体质量高于 Control 组 ($P < 0.05$)。与 Model 组相比, BCP 给药后小鼠体质量减轻, 摄食量减少, 给药 14 d 后, BCP-50 组小鼠摄食量明显减少 ($P < 0.01$), 给药 21 d 后, BCP-50 组小鼠体质量出现明显降低 ($F = 5.505, P < 0.05$), 见图 1。

2.2 BCP 对肥胖小鼠口服糖耐量的影响 与 Control 组相比, Model 组小鼠对葡萄糖的敏感性增加,

15 min 时, 血糖浓度达到峰值, 血糖曲线下面积 (area under the curve, AUC) 显著增加 ($P < 0.01$)。BCP 给药组小鼠血糖浓度在 30 min 达到峰值, 与 Model 组相比, 对葡萄糖敏感性降低, AUC 显著减少 ($P < 0.0001$), 见图 2。

2.3 BCP 对肥胖小鼠血清学相关指标的影响 血清学相关指标检测结果显示, 与 Control 组相比, Model 组小鼠血清中 TC、LDL-C、HDL-C 和 NEFA 含量均升高 ($P < 0.05, P < 0.01, P < 0.001$), TG 含量无明显差异。与 Model 组相比, BCP 给药 28 d 后, 小鼠血清中 LDL-C 和 NEFA 含量均降低 ($F = 16.45, P < 0.0001; F = 13.38, P < 0.01$), 而 TC、TG 和 HDL-C 含量无显著差异, 见图 3。

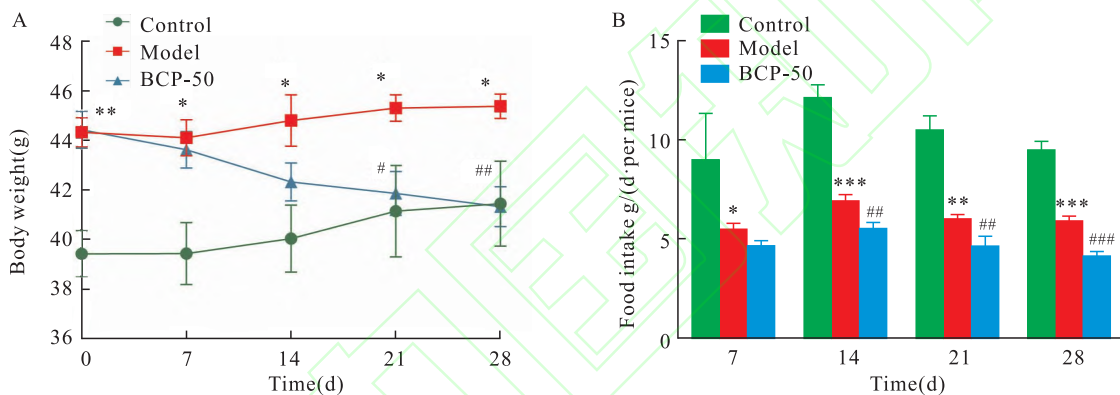


图 1 BCP 对肥胖小鼠体质量和摄食量的影响

Fig. 1 Effect of BCP on body mass and food intake in obese mice

A: Effect of 4-week BCP administration on body mass of obese mice; B: Effect of 4-week BCP administration on food intake of obese mice ($\bar{X} \pm SEM, n = 8$); * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$ vs model group.

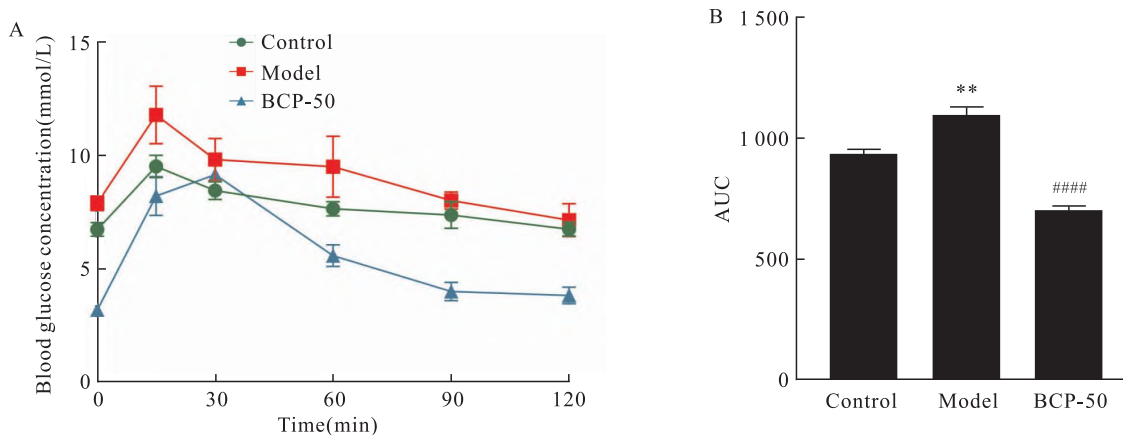


图 2 BCP 对高脂饮食肥胖小鼠口服糖耐量的影响

Fig. 2 Effects of BCP on oral glucose tolerance in obese mice on high-fat diets

A: Graph of blood glucose changes in mice; B: Comparison of area under the blood glucose curve in mice ($\bar{X} \pm SEM, n = 8$); * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$ vs model group.

2.4 BCP 对肥胖小鼠脂肪系数和各脂肪组织比重的影响 与 Control 组相比, Model 组小鼠的脂肪系数和 eWAT 比重均升高 ($P < 0.01, P < 0.05$), BAT 比重无显著差异。而 BCP 给药 28 d 后, 与 Model 组小鼠相比, BCP 给药组小鼠的脂肪系数和 eWAT 比

重均降低 ($P < 0.05$), BAT 比重无明显差异, 见图 4。

2.5 BCP 对肥胖小鼠脂肪组织形态学影响 HE 染色结果显示, 与 Control 组相比, Model 组小鼠 eWAT 和 BAT 中脂肪细胞直径增加, 脂滴变大, 单

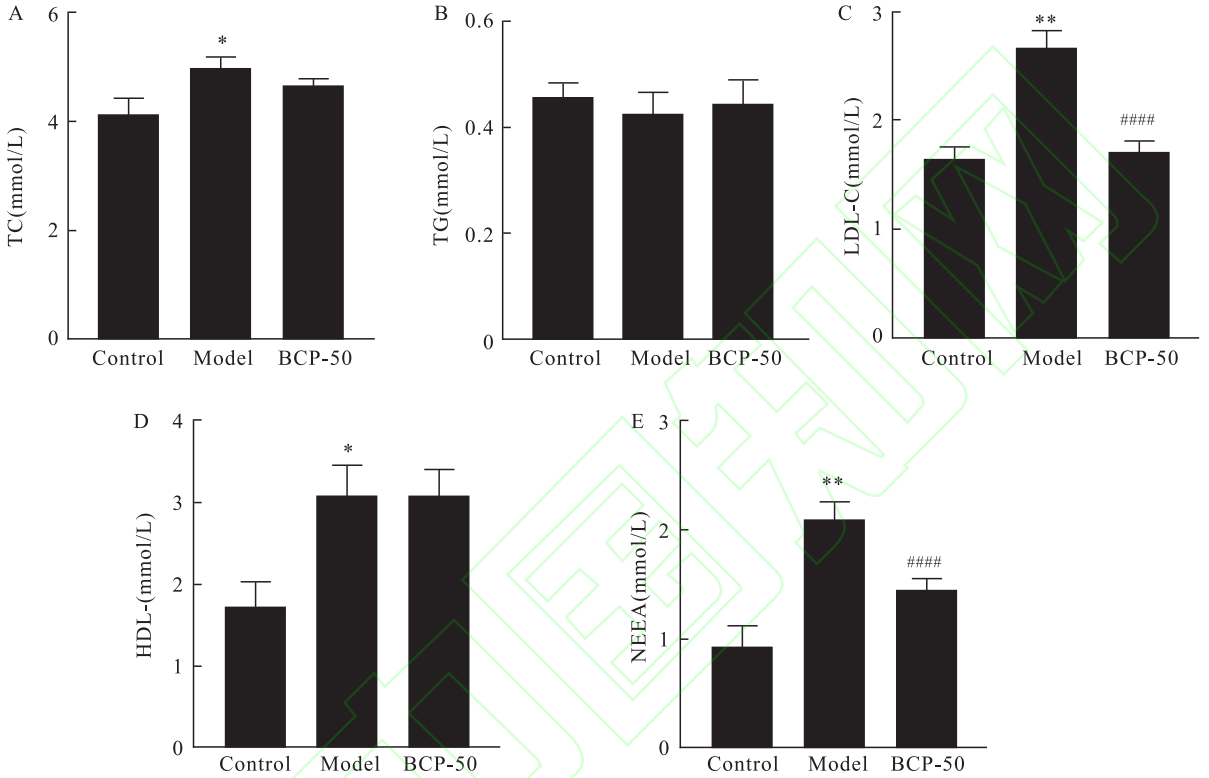


图3 BCP 对肥胖小鼠血清学相关指标的影响

Fig. 3 Effect of BCP on serological-related indexes in obese mice

A: Serum TC content; B: Serum TG content; C: Serum LDL-C content; D: Serum HDL-C content; E: Serum NEFA content ($\bar{X} \pm SEM, n = 8$); * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; #### $P < 0.0001$ vs Model group.

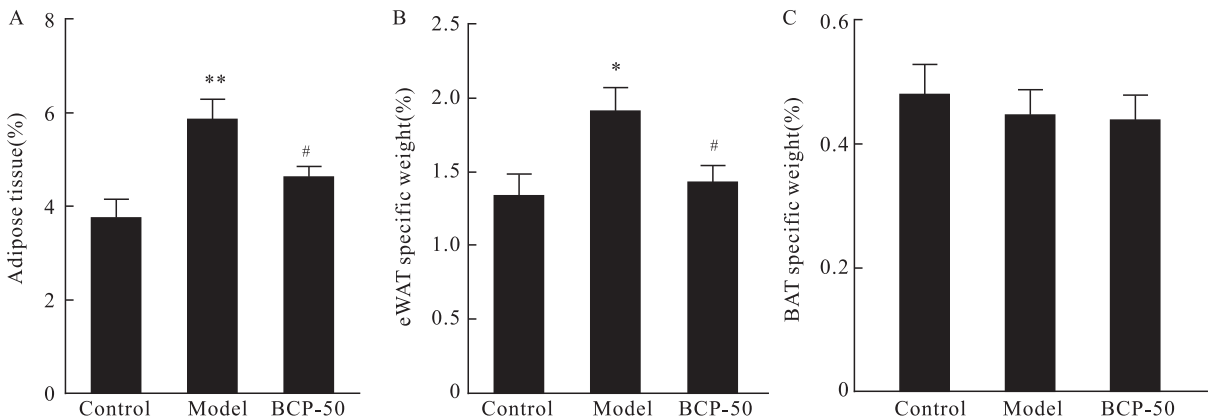


图4 BCP 对肥胖小鼠脂肪系数的影响

Fig. 4 Effect of BCP on adiposity coefficient in obese mice

A: Total adiposity coefficient of mice; B: eWAT specific weight of mice; C: BAT specific weight of mice ($\bar{X} \pm SEM, n = 8$); * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Control group; # $P < 0.05$ vs Model group.

位面积内细胞数量减少。而 BCP 给药组小鼠的 eWAT 和 BAT 中脂肪细胞直径和脂滴大小小于 Model 组,单位面积内细胞数量增加,见图 5。

2.6 BCP 对肥胖小鼠脂肪组织 UCP1 表达的影响

IHC 结果显示,Model 组小鼠的 eWAT 和 BAT 中

UCP1 的表达与 Control 组相比均降低 ($P < 0.01$)。而 BCP 给药组小鼠的 eWAT 和 BAT 中 UCP1 表达与 Model 相比明显升高 ($F = 24.99, P < 0.01; F = 15.71, P < 0.05$),见图 6。

2.7 BCP 对肥胖小鼠 eWAT 中 PGC1 α 、PPAR γ 、

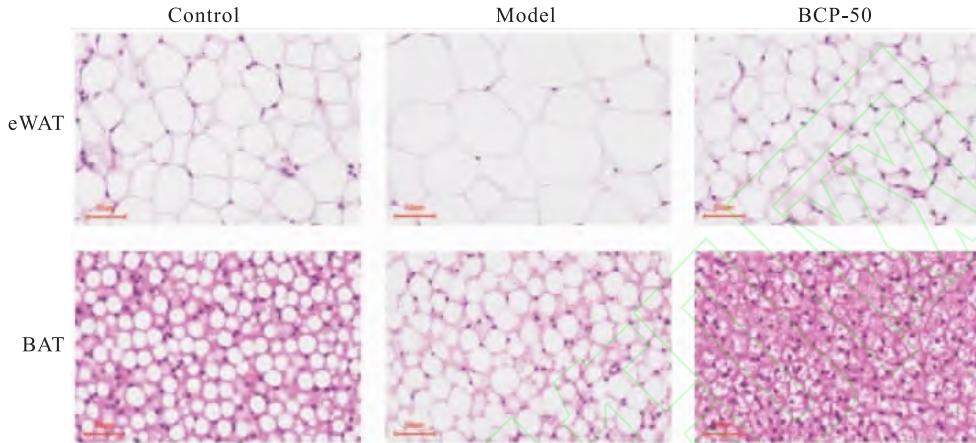


图 5 HE 染色小鼠脂肪组织形态图 $\times 200$

Fig.5 Morphology of HE-stained mouse adipose tissue $\times 200$

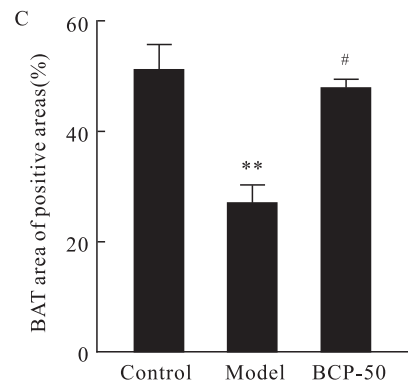
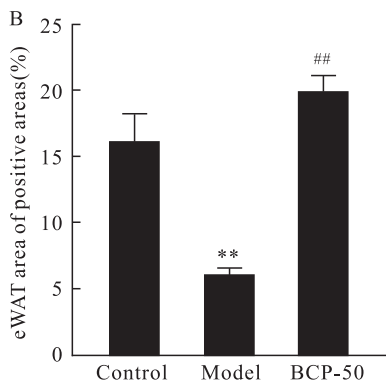
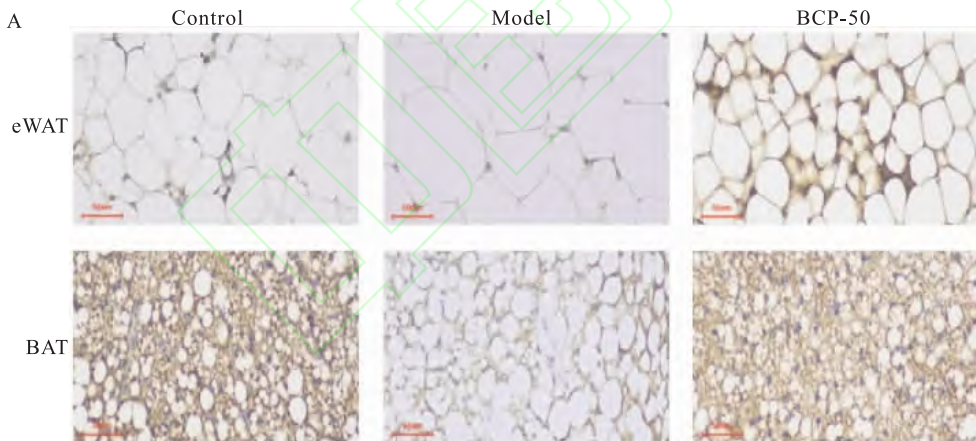


图 6 BCP 对肥胖小鼠 eWAT 和 BAT 中产热蛋白 UCP1 表达的影响

Fig.6 Effect of BCP on thermogenic protein UCP1 expression in eWAT and BAT of obese mice

A: Graph of IHC staining results; B: Percentage of positive area area in eWAT; C: Percentage of positive area area in BAT ($\bar{X} \pm SEM, n = 3$);

** $P < 0.01$ vs Control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs Model group.

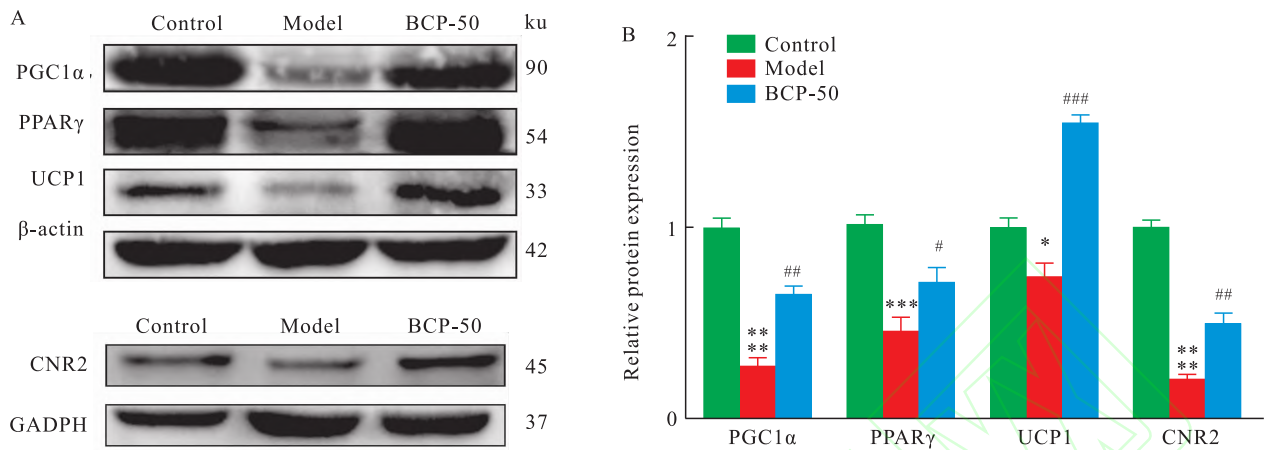


图7 BCP对高脂饮食肥胖小鼠eWAT中PGC1 α 、PPAR γ 、UCP1和CNR2蛋白表达的影响

Fig. 7 Effect of BCP on PGC1 α , PPAR γ , UCP1, and CNR2 expression in eWAT of obese mice on high-fat diets

A: Electropherograms of PGC1 α , PPAR γ , UCP1 and CNR2 in eWAT; B: Relative expression of PGC1 α , PPAR γ , UCP1 and CNR2 in eWAT (β -actin or GADPH was used as an internal reference, $\bar{X} \pm SEM$, $n = 3$); * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs Control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ vs Model group.

UCP1和CNR2蛋白表达的影响 与Control相比, Model组小鼠eWAT中PGC1 α 、PPAR γ 、UCP1和CNR2蛋白的表达水平均降低($P < 0.0001$, $P < 0.001$, $P < 0.05$);而BCP给药组小鼠eWAT中PGC1 α 、PPAR γ 、UCP1和CNR2蛋白的表达水平与Model组相比均升高($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.001$),见图7。

3 讨论

肥胖及其相关代谢疾病已严重危害全球公众健康。但到目前为止,无论是在个人层面还是在人群层面,肥胖预防和治疗的策略,从长远来看都不是成功的,需要不断开发新的治疗策略和治疗药物来恢复能量平衡。内源性大麻素系统(endogenous cannabinoid system, ECS)可调控机体对食物摄入、代谢和能量储存,与肥胖、血脂异常、脂肪变性、糖尿病和饮食失调等多种代谢紊乱密切相关^[7]。大麻素2型受体(cannabinoid type 2 receptor, CB₂R)是ECS的重要组成部分,且无大麻素1型受体(cannabinoid type 1 receptor, CB₁R)介导的精神作用因而备受关注,成为了多种代谢疾病治疗的潜在药物靶点^[8]。BCP作为CB₂R的选择性激动剂,因而也具有治疗肥胖相关代谢性疾病的潜力。本研究显示BCP可减轻高脂饮食所致肥胖小鼠的体质量、血清中NEFA和LDL-C的水平,同时还能减轻肥胖小鼠的胰岛素抵抗,说明BCP具有改善肥胖的作用。

这与先前的研究^[4]结果一致。此外,本研究结果还显示BCP减少了高脂饮食肥胖小鼠的摄食量,提示BCP改善肥胖的作用可能与抑制肥胖小鼠的食欲有关。

近年来,促进白色脂肪棕色化已然成为肥胖治疗的新策略^[3, 7]。高脂饮食可增加WAT的沉积,促进肥胖。本研究结果发现高脂饮食(Model组)肥胖小鼠的脂肪系数升高,eWAT的比重增加,说明高脂饮食促进了eWAT的积累。而BCP能显著降低高脂饮食肥胖小鼠的脂肪系数和eWAT比重以及eWAT的脂肪细胞大小。此外,组织学结果表明,BCP治疗后,eWAT的脂肪细胞呈现出由大单房向小多房的形态学转变,说明出现了白色脂肪棕色化。UCP1是BAT的特异性标志物,它在脂肪酸和葡萄糖存在下可跨线粒体内膜转运H⁺离子,使细胞呼吸和ATP合成解偶联,从而释放热量^[9]。由于WAT中线粒体含量很少,几乎检测不到UCP1的表达。因此,WAT中UCP1表达标志着WAT棕色化的发生。有研究^[10]显示,表达UCP1蛋白的米色脂肪细胞可以响应某些环境、遗传或药理刺激下在WAT中发育。免疫组化结果显示,BCP干预后,高脂饮食肥胖小鼠eWAT中UCP1的表达显著升高,表明BCP诱导了eWAT的UCP1介导的产热,促进了白色脂肪棕色化。BCP干预后,高脂饮食肥胖小鼠BAT中UCP1的表达升高,说明BCP可能还激活了BAT的产热。PGC-1 α 调控BAT和WAT细胞中

线粒体的生物发生和 BAT 基因表达。在 BAT 中,当冷刺激或肾上腺能受体被激活后,BAT 通过 PGC-1 α -UCP-1 轴进行适应性产热。PPAR γ 参与棕色和白色脂肪细胞的分化。PPAR γ 调节 WAT 和 BAT 细胞的分化^[11]。据报道 PPAR γ 的激活可促进 WAT 向棕色脂肪样转变^[12]。多项研究证明在 WAT 中,PGC-1 α 作为共激活剂与关键转录因子 PPAR γ 合作刺激产热基因表达来促进 WAT 棕色化^[13-14]。此外,BCP 已被证明激活 CB₂R 后可与 PPAR γ 相互作用激活 PPAR γ 和 PGC-1 α 表达^[15]。以上这些研究为 BCP 激活 PPAR γ ,与 PGC-1 α 协同促进 WAT 褐变提供可能。本研究 Western blot 实验结果显示,BCP 给药后,高脂饮食肥胖小鼠的 eWAT 中 PGC1 α 、PPAR γ 、UCP1 和 CNR2 蛋白的表达水平升高,说明 BCP 激活了 eWAT 中 CB₂R,促进 PGC1 α 和 PPAR γ 的共同表达,诱导 eWAT 棕色化,刺激 UCP1 表达,促进产热,增加能量消耗。

综上所述,BCP 可诱导 eWAT 的棕色化/BAT 的活化,促进高脂饮食肥胖小鼠的适应性产热,增加能量消耗,从而改善肥胖,其机制可能与激活了 PPAR γ /PGC-1 α /UCP1 通路有关。本研究证实了 BCP 具有促进白色脂肪棕色化的作用,为其应用于肥胖及相关代谢性疾病的防治提供了实验证据。

参考文献

- [1] Maisto M, Marzocchi A, Keivani N, et al. Natural chalcones for the management of obesity disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (21):15929. doi:10.3390/ijms242115929.
- [2] Dong H J, Qin M, Wang P, et al. Regulatory effects and mechanisms of exercise on activation of brown adipose tissue (BAT) and browning of white adipose tissue (WAT) [J]. *Adipocyte*, 2023, 12(1):2266147. doi:10.1080/21623945.2023.2266147.
- [3] Schirinzi V, Poli C, Berteotti C, et al. Browning of adipocytes: a potential therapeutic approach to obesity [J]. *Nutrients*, 2023, 15 (9): 2229. doi:10.3390/nu15092229.
- [4] Chen J Y, Wang J L, Huang C Y, et al. Mechanisms of weight-loss effect in obese mice by the endogenous cannabinoid receptor 2 agonist beta-caryophyllene [J]. *Obes Res Clin Pract*, 2023, 17 (6):499-510. doi: 10.1016/j.orcp.2023.10.004.
- [5] Pathak M P, Patowary P, Goyary D, et al. β -caryophyllene ameliorated obesity-associated airway hyperresponsiveness through some non-conventional targets [J]. *Phytomedicine*, 2021, 89: 153610. doi:10.1016/j.phymed.2021.153610.
- [6] 陈嘉瑶,李 婷,李 欣,等.一种颠倒进食节律的新的肥胖小鼠模型建立方法 [J]. *中国病理生理杂志*, 2023, 39(5):951-60. doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2023.05.022.
- [6] Chen J Y, Li T, Li X, et al. A novel mouse model of obesity with inverted feeding rhythm [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2023, 39(5): 951-60. doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2023.05.022.
- [7] Kurylowicz A, Puzianowska-Kuznicka M. Induction of adipose tissue browning as a strategy to combat obesity [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(17):6241. doi: 10.3390/ijms21176241.
- [8] Maccarrone M, di Marzo V, Gertsch J, et al. Goods and bads of the endocannabinoid system as a therapeutic target: Lessons learned after 30 years [J]. *Pharmacol Rev*, 2023, 75(5): 885-958. doi:10.1124/pharmrev.122.000600.
- [9] McNeill B T, Suchacki K J, Stimson R H. Mechanisms in endocrinology: Human brown adipose tissue as a therapeutic target: warming up or cooling down? [J]. *Eur J Endocrinol*, 2021, 184 (6):R243-59. doi:10.1530/EJE-20-1439.
- [10] Acharya A, Berry D C, Zhang H, et al. MiR-26 suppresses adipocyte progenitor differentiation and fat production by targeting Fbxl19 [J]. *Genes Dev*, 2019, 33(19-20): 1367-80. doi:10.1101/gad.328955.119.
- [11] Wu H, Li X, Shen C. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma in white and brown adipocyte regulation and differentiation [J]. *Physiol Res*, 2020, 69(5):759-73. doi: 10.33549/physiolres.934411.
- [12] Park S S, Lee Y J, Kang H, et al. *Lactobacillus amylovorus* KU4 ameliorates diet-induced obesity in mice by promoting adipose browning through PPAR γ signaling [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 20152. doi:10.1038/s41598-019-56817-w.
- [13] Zu Y X, Lu H Y, Liu W W, et al. Jiang Gui Fang activated interscapular brown adipose tissue and induced epididymal white adipose tissue browning through the PPAR γ /SIRT1-PGC1 α pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 248: 112271. doi:10.1016/j.jep.2019.112271.
- [14] Xiao M, Zhang Y, Xu X Y. Calorie restriction combined with high-intensity interval training promotes browning of white adipose tissue by activating the PPAR γ /PGC-1 α /UCP1 pathway [J]. *Altern Ther Health Med*, 2023, 29(3): 134-9.
- [15] Scandiffio R, Bonzano S, Cottone E, et al. Beta-caryophyllene modifies intracellular lipid composition in a cell model of hepatic steatosis by acting through CB2 and PPAR receptors [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6060. doi:10.3390/ijms24076060.

β -caryophyllene promotes white fat browning in obese mice through up-regulation of the PPAR γ /PGC-1 α /UCP1 pathway

Jiang Haoran¹, Tang Xiaofei¹, Wu Jieli¹, Wang Jiaoling¹, Huang Chengyu¹, Zhu Shuguang², Zang Linqun¹
(¹Pharmacology Laboratory, School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006;

²Dept of Cardiothoracic Surgery, The First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510080)

Abstracts Objective To investigate the effects of β -caryophyllene (BCP) on the browning of white adipose tissue in obese mice and the related mechanisms. **Methods** An obese mouse model was established *via* intraperitoneal injection of a high-fat diet supplemented with propylthiouracil saline solution [14.4 mg/(kg · d)] in male Kunming mice. Obesity model mice were randomly divided into a model group (Model group) and a BCP administration group (BCP-50 group); normal diet mice were set up as a control group (Control group), with 8 mice in each group. BCP administration was given by gavage at a dose of 50 mg/kg once in the morning and once in the evening in the BCP-administered group, while the rest of the group was administered by gavage with aqueous solution of Tween 80 for 4 weeks. The oral glucose tolerance test was performed at the end of 4-week administration, and mice were executed after overnight fasting at the end of the experiment, and blood samples and adipose tissues were rapidly collected for subsequent experimental tests. The kit was used to detect serological-related indexes; hematoxylin-eosin staining was conducted to observe the morphology of adipose tissue; immunohistochemical staining was carried out to observe the expression of uncoupling protein 1 (UCP1) in adipose tissue; Western blot was employed to detect expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator1- α (PGC1 α), peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ), UCP1 and cannabinoid receptor 2 (CNR2) proteins in epididymal white adipose (eWAT). **Results** Compared with the model group, the body mass of obese mice in the BCP-50 group was significantly reduced ($P < 0.05$), food intake was decreased ($P < 0.01$), insulin resistance was improved ($P < 0.0001$), and the serum content of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and nonesterified fatty acid (NEFA) in the obese mice was significantly reduced ($P < 0.0001$ and $P < 0.01$). Total cholesterol (TC), triglyceride (TG), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) contents did not change significantly. In addition, the adiposity coefficient and eWAT specific gravity of obese mice in the BCP-50 group were significantly decreased ($P < 0.05$); the adipocytes in eWAT and BAT were reduced; and the expression of the UCP1 protein was significantly elevated ($P < 0.01$ and $P < 0.05$). In addition to UCP1, the expression levels of PGC1 α , PPAR γ , and CNR2 proteins in the eWAT of obese mice in the BCP-50 group were also significantly elevated ($P < 0.01$, $P < 0.05$, and $P < 0.001$). **Conclusion** β -caryophyllene promotes white adipose tissue browning through up-regulating PPAR γ /PGC-1 α /UCP1 pathway expression, thus improving obesity.

Key words β -caryophyllene; white adipose browning; white adipose tissue; epididymis white adipose tissue; peroxisome proliferator-activated receptor γ ; peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1- α ; uncoupling protein 1

Fund program Natural Science Foundation of Guangdong Province (No. 2017A030313856)

Corresponding authors Zang Linqun, E-mail: zanglq@gdpu.edu.cn; Zhu Shuguang, E-mail: zhushg65@126.com