

灯盏花乙素通过 PPAR $\gamma$ -PGC1 $\alpha$ -UCP1 通路改善小鼠肥胖作用及机制

张琦, 田冲冲, 张洋, 方晨曦, 卜薇, 李凤\*

江苏医药职业学院 药学院, 江苏 盐城 224005

**摘要:** 目的 探究灯盏花乙素对肥胖小鼠的干预作用及可能的分子机制, 为肥胖的治疗提供借鉴。方法 采用高脂膳食构建小鼠肥胖模型, 并采用灯盏花乙素 (400 mg·kg<sup>-1</sup>) 干预8周, 测定各组小鼠肥胖相关指标, 包括体质量变化、脂肪组织质量、血脂指标 [总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 及高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)] 等; 采用苏木精-伊红 (HE) 染色法分析脂肪组织形态的改变; 分别采用免疫荧光方法、实时荧光定量PCR (qRT-PCR) 及 Western blotting 法检测脂肪组织中脂质代谢相关基因 [过氧化酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ )、PPAR $\gamma$  共激活因子 1 $\alpha$  (PGC1 $\alpha$ ) 与解偶联蛋白 1 (UCP1)]、蛋白 (PPAR $\gamma$ 、PGC1 $\alpha$  及 UCP-1) 表达水平的变化。结果 结果显示, 灯盏花乙素干预可显著降低高脂喂养小鼠的体质量及脂肪组织质量 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); 另外, 灯盏花乙素可改善血脂指标——TC、TG、LDL-C 及 HDL-C; 组织病理学结果显示, 灯盏花乙素可以减轻脂肪组织中的脂质沉积。进一步 qRT-PCR 结果显示, 灯盏花乙素极显著提高肥胖小鼠脂肪组织中 PPAR $\gamma$  的 mRNA 表达水平 ( $P < 0.05$ ), 同时还能升高 PGC1 $\alpha$  与 UCP1 的 mRNA 表达水平, 差异具有极显著性 ( $P < 0.01$ )。Western blotting 结果则进一步验证了灯盏花乙素能显著提高高脂喂养小鼠脂肪组织 PPAR $\gamma$ 、PGC1 $\alpha$  以及 UCP1 的蛋白表达水平 ( $P < 0.05$ )。结论 灯盏花乙素可以改善高脂喂养小鼠肥胖, 该作用可能与激活 PPAR $\gamma$ -PGC1 $\alpha$ -UCP1 信号通路, 调节脂肪组织的能量代谢有关。

**关键词:** 灯盏花乙素; 肥胖; PPAR $\gamma$ -PGC1 $\alpha$ -UCP1 信号通路; 血脂; 脂质代谢

中图分类号: R739.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 08-1787-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.08.012

Scutellarin ameliorates obesity in high-fat fed mice by regulating PPAR $\gamma$  - PGC1 $\alpha$ -UCP1 signaling pathway

ZHANG Qi, TIAN Chongchong, ZHANG Yang, FANG Chenxi, BU Wei, LI Feng

Department of Pharmacy, Jiangsu Vocational College of Medicine, Yancheng 224005, China

**Abstract:** To explore the intervention effect of scutellarin (SCU) on obese mice fed with high-fat diet and its possible molecular mechanism, and provide reference for the treatment of obesity. Firstly, a mouse obesity model was constructed with a high-fat diet, and SCU was used to intervene for 8 weeks. Obesity-related indexes, such as weight change, adipose tissue weight and lipid indexes, were measured in each group. The changes of adipose tissue morphology were analyzed by HE staining. Immunofluorescence, quantitative real-time fluorescence polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blotting were used to detect the expression levels of lipid metabolism-related genes and proteins in adipose tissue. The results showed that the body weight and adipose tissue weight of high-fat fed mice could be significantly reduced after SCU intervention. In addition, SCU could improve total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) ( $P < 0.05$ ,  $0.01$ ). Histopathological results showed that SCU could reduce lipid deposition in adipose tissue. Further, qRT-PCR results showed that SCU significantly increased the mRNA expression level of peroxidase proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) in adipose tissue of high-fat fed mice ( $P < 0.01$ ), and significantly increased the mRNA expression level of PGC1 $\alpha$  and uncoupling protein-1 (UCP1) in high-fat fed mice ( $P < 0.01$ ). Western blotting results further demonstrated that SCU significantly increased the protein expression

收稿日期: 2024-03-29

基金项目: 江苏省盐城市卫生健康委员会 2023 年度医学科研立项项目 (YK2023032, YK2023097); 江苏高校哲学社会科学研究一般项目资助 (2022SJYB2075); 江苏省高职院校青年教师企业实践计划 (2023QYSJ047); 江苏医药职业学院自然科学基金研究重点项目 (20214107, 20214103); 江苏医药职业学院校本教育教学研究课题 (Q202303, Y202322)

第一作者: 张琦 (1988—), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为肿瘤和心血管分子药理学。E-mail: zhangqijysy@163.com

\*通信作者: 李凤 (1986—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为肿瘤和心血管分子药理学。E-mail: lifeng831006@163.com

levels of PPAR $\gamma$ , PGC1 $\alpha$  and UCP1 in adipose tissue of high-fat fed mice ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** SCU can effectively improve obesity in high-fat fed mice, and the improvement may be related to the PPAR $\gamma$ -PGC1 $\alpha$ -UCP1 signaling pathway.

**Key words:** scutellarin; obesity; PPAR $\gamma$ -PGC1 $\alpha$ -UCP1 signaling pathway; blood lipid; lipid metabolism

当前,肥胖被认定为一种全身的慢性低度炎症状态。研究显示,在肥胖个体脂肪组织中的白细胞介素1(IL-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )等促炎细胞因子表达增加<sup>[1-3]</sup>,而这种慢性炎症状态是胰岛素抵抗、高血压病、动脉粥样硬化、恶性肿瘤等多种疾病发生发展的核心危险因素<sup>[4-6]</sup>。因此,肥胖已经成为亟待解决的全球性健康负担。

目前减肥的方法主要包括饮食调控和生活方式的改变。在容易获得可口、廉价、高脂和高能量食品的致肥胖环境中,采用健康的饮食习惯非常困难,因此,单纯的节食行为并不能有效减肥。抗肥胖药物多用来辅助减肥,其中减肥药物减重的机制主要包括调控食欲以及减少消化道对脂质的吸收等,如奥利司他是胰脂肪酶抑制剂,在肠道防止脂肪吸收;西布曲明是神经递质(5-羟色胺和去甲肾上腺素)再摄取的选择性抑制剂,可降低食欲减少食物摄入<sup>[7]</sup>。而目前这些药物存在多种不良反应如胃肠道不良反应、腹泻、失眠、焦虑以及对中枢神经系统的其他影响,且由于严重不良反应多种药物已从市场撤回<sup>[8-9]</sup>。因此,寻找高疗效、低毒性的抗肥胖药物是当今研究的一大热点。

灯盏花乙素是从中国传统中药灯盏花 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. -Mazz. 中提取的一种黄酮苷,具有抗炎、抗氧化以及抗肿瘤等多种药理作用<sup>[10-15]</sup>,临床主要用于缺血性心脑血管疾病的治疗。此外,灯盏花还被开发用于食品如茶饮、药酒以及化妆品领域<sup>[16-20]</sup>。动物实验以及临床实践证实灯盏花素还具有调节血脂的作用,可用于糖尿病、高脂血症、非酒精性脂肪肝等脂质代谢紊乱性疾病的治疗,以及改善脂质代谢紊乱引起的肝、肾功能异常<sup>[21-24]</sup>。肥胖作为一种以脂肪沉积为特征的慢性代谢性疾病,其发生发展与脂质代谢紊乱密切相关<sup>[25-26]</sup>。目前有关灯盏花乙素对肥胖的干预作用主要集中于灯盏花乙素改善肥胖模型动物的肝脏和心脏损伤方面<sup>[27-29]</sup>,有关灯盏花乙素的抗肥胖作用则尚未见报道。因此,本研究拟通过高脂膳食诱导建立 C57BL/6J 小鼠肥胖模型,进一步采用灯盏花乙素进行干预处理,分析各组小鼠的肥胖指标,以此探究灯盏花乙素对肥胖可能的改善作用。本研究将为灯盏花乙素对肥胖的预防和改善提供科学依据,同时,也为灯

盏花的进一步开发利用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 动物

雄性 C57BL/6J 小鼠 24 只(体质量 16~20 g),由江苏华创信诺医药科技有限公司提供[动物生产许可证号:SCXK(苏)2020-0009],饲养于江苏医药职业学院 SPF 级动物房[实验动物使用许可证:SYXK(苏)2018-0008],饲养条件:温度(24 $\pm$ 1)  $^{\circ}$ C,相对湿度 40%~70%,昼夜交替进行光照,自由饮水和进食。所有操作均符合动物伦理学要求和实验动物管理条例,本实验已通过江苏医药职业学院动物伦理委员会批准(编号 2020011)。

### 1.2 药品与试剂

灯盏花乙素(WKQ-0000642,质量分数 $\geq$ 99%,四川维克奇生物科技有限公司);水合氯醛(302-17-0;默克公司);肝素钠注射液(上海上药第一生化药业有限公司);多聚甲醛(30525-89-4;天津科密欧化学试剂有限公司);三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测定试剂盒(A110-1-1、A111-1-1、A113-1-1、A112-1-1;南京建成生物工程研究所);苏木素-伊红(HE)染色液(G1126;Solarbio 公司);总 RNA 提取试剂 Trizol、RNA 逆转录合成 cDNA 试剂盒(15596018CN、K16225;ThermoFisher 公司);PCR 试剂盒(11578553001;Roche 公司);PCR 引物(博士德生物工程有限公司);BCA 试剂盒(P0012;上海碧云天生物技术有限公司); $\beta$ -actin、解偶联蛋白 1 (UCP1)、过氧化酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ )、PPAR $\gamma$  共激活因子 1 $\alpha$  (PGC1 $\alpha$ ) 抗体(4967S、72998T、2435T、2178S;CST 公司)。

### 1.3 仪器

XD-202 倒置显微镜(德国 ZEISS 公司);ELX808 酶标仪(美国 BIOTEK 公司);TS-1000 脱色摇床(其林贝尔仪器制造有限公司);YB5001B 电子天平(上海衡际科学仪器有限公司);DY89-II 电动玻璃匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司);实时定量 PCR 仪(美国 Illumina 公司)。

## 2 方法

### 2.1 动物分组与干预

参考 Shaul 等<sup>[30]</sup>的实验方法,建立小鼠肥胖模

型。24只小鼠适应性喂养1周后,随机分为4组,每组6只:即对照(10%脂肪供能)组、单给药组(0.5%灯盏花乙素 400 mg·kg<sup>-1</sup>, 10%脂肪供能)、模型(60%脂肪供能)组、灯盏花乙素(0.5%灯盏花乙素 400 mg·kg<sup>-1</sup>, 60%脂肪供能)组。其中灯盏花乙素的剂量设置依据来自于课题组前期预试验结果以及相关参考文献报道<sup>[31]</sup>。各组每天ig给药1次,连续给药8周,实验期间,小鼠自由摄取水和饲料。

## 2.2 小鼠称质量以及采集脂肪组织样本

实验期间每周记录小鼠体质量及进食量,连续喂养8周后,10%水合氯醛ip麻醉小鼠后进行固定,用1 mL注射器抽取腹腔静脉血,分别剥离腹腔皮下脂肪组织及附睾处脂肪组织,并称其质量,随后将脂肪组织投入到预先配好的4%多聚甲醛中进行固定或置于-80 °C冷冻保存。

## 2.3 脂肪组织病理染色

将固定的脂肪组织在分级乙醇溶液中脱水,二甲苯透明,浸入石蜡,包埋制成蜡块。将组织蜡块切成约5 μm厚的组织切片,用二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水,苏木素浸泡3 min,1%盐酸乙醇分化,0.6%氨水返蓝,纯水洗涤。滴加伊红染液约3 min,在95%乙醇中梯度脱水,二甲苯清洗10 min,中性树脂胶封片。置于光学显微镜下观察并采集图像。用Image-Pro Plus软件分析染色图片,统计各组脂肪组织中各个脂肪细胞的长径与短径,随后计算每个细胞的面积并进行统计分析。

## 2.4 血脂相关指标测定

将采集的各组小鼠外周血采用全自动生化分析仪测定TC、TG、LDL-C及HDL-C的含量。

## 2.5 免疫荧光

参考邓广辉等<sup>[32]</sup>的实验方法,略作修改。脂肪组织石蜡切片经脱蜡、梯度酒精脱水后,用PBS冲洗5 min×3次后进行免疫荧光染色。脂肪组织切

片首先在室温下用3%BSA封闭30 min,随后在切片上滴加适当稀释的抗体UCP1(1:50),放置于湿盒中4 °C过夜。第2天回收一抗,然后再用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗5 min×3次,每张切片滴加二抗室温孵育1 h,移去二抗,用PBS冲洗5 min×3次;然后滴加DAPI进行孵育5 min,用PBS冲洗5 min×3次后晾干切片,使用防荧光淬灭剂进行封片,立即进行荧光显微镜观察。随后用Image-Pro Plus软件分析图片,计算各组免疫荧光的强度,并进行统计分析。

## 2.6 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测脂肪组织中相关因子mRNA表达

Trizol分离提取脂肪组织中总的RNA,将RNA逆转录为cDNA。扩增反应在20 μL体系中进行,反应体系:1 μL qPCR引物,1 μL cDNA产物,10 μL SYBR Green qPCR Master Mix(2×)。扩增条件:预变性95 °C、10 min,95 °C、15 s,60 °C、60 s,循环40次。熔解曲线60~95 °C,每15秒升温0.3 °C。以β-actin为内参基因,通过目的基因定量拷贝数=2<sup>-ΔΔCt</sup>方法分析数据。基因引物序列见表1。

## 2.7 Western blotting检测脂肪组织中相关蛋白水平的表达

将脂肪组织样本从-80 °C的冰箱取出后,于冰上转移到2 mL匀浆管中,加入2~3颗灭菌后的氧化锆研球,然后每管加入1 mL RIPA裂解液于匀浆仪中进行裂解,获取总蛋白。4 °C、12 000·min<sup>-1</sup>离心15 min,取上清,用BCA试剂盒检测蛋白浓度;各取30 μg总蛋白进行10% SDS-PAGE电泳,电转印法进行转膜,脱脂奶粉封闭,加入一抗,4 °C孵育过夜,TBST洗涤3次,每次10 min,加入二抗继续室温孵育1 h,ECL显色并拍照。用Image J分析条带灰度值,以目的条带灰度值与内参β-actin条带灰度值的比值反映目的蛋白的表达。

表1 引物序列及扩增长度

Table 1 Sequences of primers and amplification length

基因	引物序列	扩增长度/bp
PPAR $\gamma$	上游:5'-GGTGAACCACTGATATTCAGGAC-3'	175
	下游:5'-CAACTGTGGTAAAGGGCTTGATGTC-3'	
UCP-1	上游:5'-CCTGGCAGATATCATCACCTTC-3'	110
	下游:5'-TGGTCCCTAGGACACCTTTAT-3'	
PGC-1 $\alpha$	上游:5'-CCCTGCCATTGTTAAGACC-3'	161
	下游:5'-TGCTGCTGTTCCCTGTTTTTC-3'	
$\beta$ -actin	上游:5'-GTGACGTTGACATCCGTAAAGA-3'	245
	下游:5'-GCCGGACTCATCGTACTCC-3'	

## 2.8 数据处理

采用 GraphPad Prism 8 软件对数据进行统计学分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,检验水准  $\alpha = 0.05$ 。对符合正态性、方差齐性的检验数据,2组之间差异的比较采用两独立样本均数的  $t$  检验,3组及以上均数的比较采用单因素方差分析(ANOVA);对于不符合方差分析假定条件的资料,可采用数据变换或  $t$  检验或秩转换的非参数检验进行分析。

## 3 结果

### 3.1 灯盏花乙素对高脂喂养小鼠的能量摄入及体质量的影响

C57BL/J 小鼠经适应性喂养 1 周后进行随机分组。计算实验期间各组小鼠的平均每日的饲料摄入量,由图 1 可以看出,与对照组相比,模型组饲料摄入量明显增多 ( $P < 0.05, 0.01$ ),但灯盏花乙素干预对小鼠进食量未见明显影响。随着喂养时间的延长,各组小鼠的体质量逐渐增加,从第 4 周开始模型组小鼠与对照组小鼠体质量相比表现出明显的差异 ( $P < 0.01, 0.05$ ),并且该趋势一直维持至实验结束;从第 5 周开始直至实验结束,灯盏花乙素组与模型组相比体质量显著降低,且差异具有显著性 ( $P <$

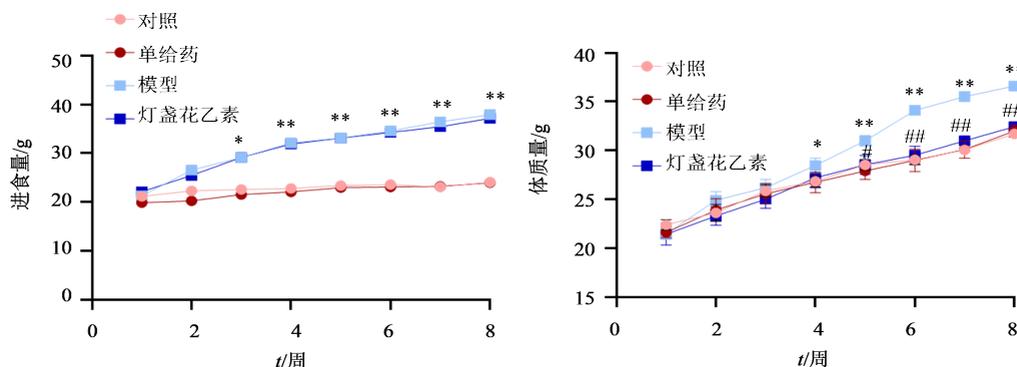
$0.05, 0.01$ ),结果如图 1 所示。上述结果表明灯盏花乙素能够降低高脂喂养小鼠的体质量,且其作用机制与抑制食欲无关。

### 3.2 灯盏花乙素对高脂喂养小鼠脂肪组织质量的影响

实验结束后,收集小鼠腹股沟脂肪组织及附睾脂肪组织,进一步评估灯盏花乙素对高脂喂养小鼠脂肪组织质量的影响。结果如图 2 所示,与对照组相比,模型组腹股沟脂肪组织质量增加 60.68%,差异具有极显著性 ( $P < 0.01$ );与模型组相比,灯盏花乙素组腹股沟脂肪组织质量减少 20.91%,差异具有显著性 ( $P < 0.05$ )。除此以外,如图 2 所示,与对照组相比,模型组附睾脂肪组织的质量增加 58.49%,差异具有极显著性 ( $P < 0.01$ );与模型组相比,灯盏花乙素组附睾脂肪组织质量减少 17.89%,差异具有显著性 ( $P < 0.05$ )。结果表明,灯盏花乙素能有效减少肥胖小鼠的白色脂肪沉积。

### 3.3 灯盏花乙素对高脂喂养小鼠血生化指标的影响

各组小鼠血清 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 的水平如图 3 所示。与对照组相比,模型组小鼠的血清 TC、TG 与 LDL-C 水平均显著升高 ( $P < 0.01$ ),而

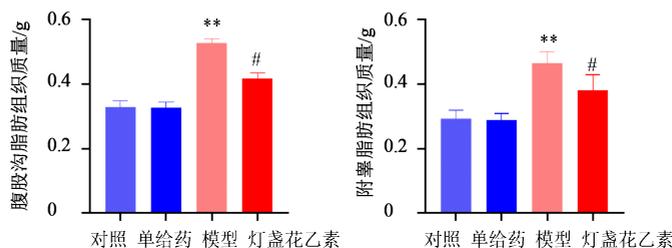


与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ 。

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group.

图 1 灯盏花乙素对高脂喂养小鼠的进食量及体质量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig. 1 Effects of scutellarin on energy intake and body weight in high-fat fed mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )



与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较: # $P < 0.05$ 。

\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  vs model group.

图 2 灯盏花乙素对高脂喂养小鼠脂肪组织质量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig. 2 Effect of scutellarin on adipose tissue weight in high-fat fed mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

HDL-C水平显著降低( $P < 0.01$ ),表明造模成功。其中,与模型组相比,灯盏花乙素组小鼠的血清TC与TG水平均显著降低( $P < 0.05$ ),分别降低了29.78%和36.62%;此外,灯盏花乙素组小鼠的血清LDL-C水平与模型组相比降低了25.22%,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。与模型组相比,灯盏花乙素组的HDL-C水平显著升高了75.98%,具有极显著性差异( $P < 0.01$ )。上述实验结果表明灯盏花乙素能有效调节肥胖小鼠的血脂水平。

### 3.4 灯盏花乙素对高脂喂养小鼠脂肪组织形态的影响

又对各组小鼠的腹股沟脂肪组织切片进行了HE染色,观察组织病理学改变。结果如图4所示,与对照组相比,模型组脂肪细胞体积明显增大(增加51.54%),差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )。经灯

盏花乙素干预后,与模型组相比,脂肪细胞呈现由单房细胞向多房细胞转变,细胞的数量明显减小,减少了51.56%,具有统计学差异( $P < 0.01$ )。以上结果表明灯盏花乙素具有改善脂肪代谢的作用。

### 3.5 灯盏花乙素对高脂喂养小鼠脂肪组织中UCP1蛋白表达的影响

为进一步分析灯盏花乙素抗肥胖的作用机制,通过免疫荧光检测各组小鼠腹股沟脂肪组织中的UCP1表达情况。结果如图5所示,与对照组相比,模型组脂肪组织中UCP-1的表达明显降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,灯盏花乙素组中的UCP1的表达较模型组显著升高( $P < 0.05$ )。上述实验结果表明灯盏花乙素能够促进高脂喂养小鼠脂肪组织中UCP1的表达。

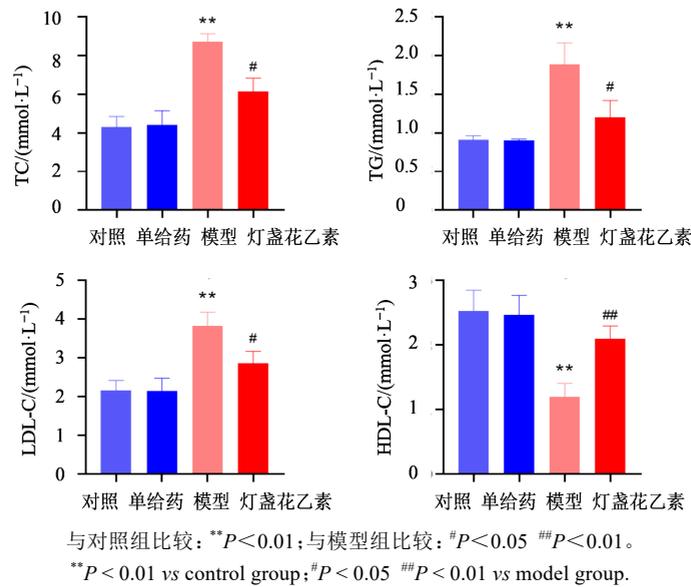


图3 灯盏花乙素对高脂喂养小鼠血生化指标的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig. 3 Effects of scutellarin on blood biochemical indexes of high-fat feeding mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

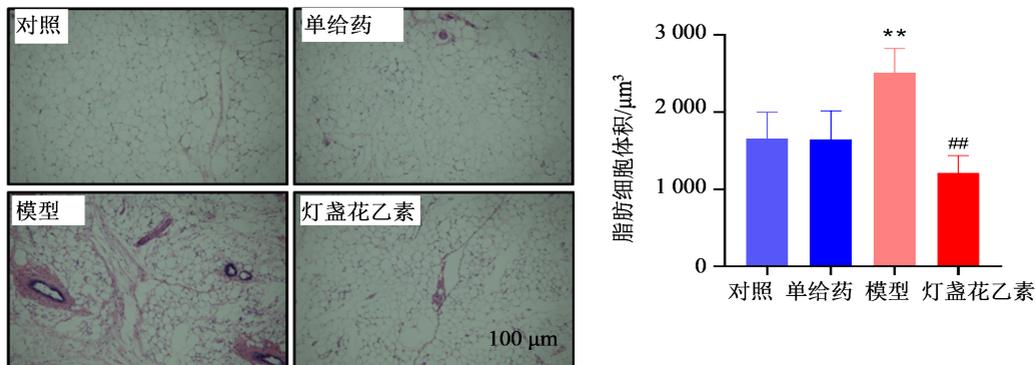
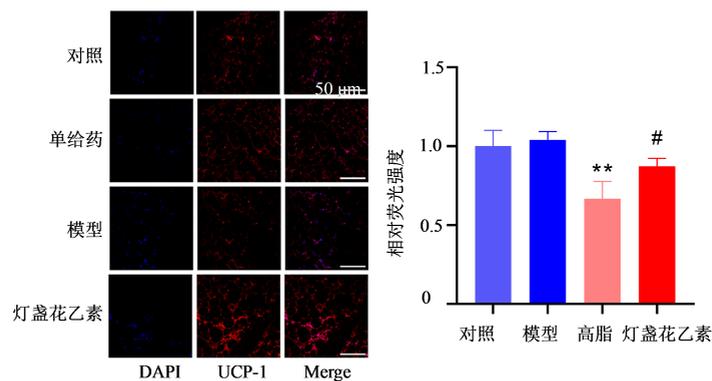


图4 灯盏花乙素对高脂喂养小鼠脂肪组织形态的影响( $\times 20$ )

Fig. 4 Effect of scutellarin on adipose tissue morphology in high-fat fed mice ( $\times 20$ )



与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$ 。

\*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  vs model group.

图5 灯盏花乙素对高脂喂养小鼠脂肪组织中UCP-1表达的影响( $\times 20$ )

Fig. 5 Effect of scutellarin on UCP-1 expression in adipose tissue of high-fat fed mice ( $\times 20$ )

### 3.6 灯盏花乙素对高脂喂养小鼠脂肪组织中脂质代谢相关基因表达的影响

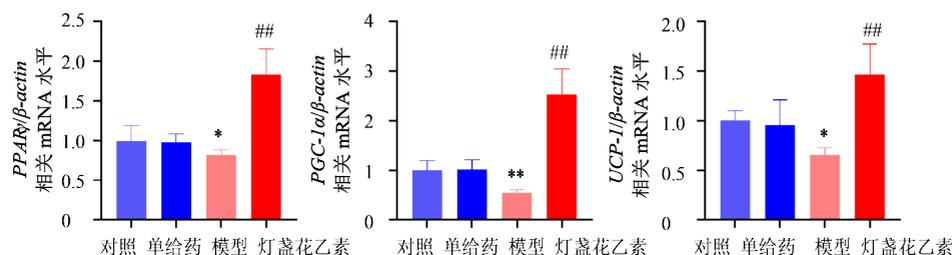
为了进一步探索灯盏花乙素抗肥胖的相关分子机制, qRT-PCR法分析了脂肪组织中脂质代谢基因的表达。结果如图6所示, 与对照组相比, 模型组脂肪组织中的PPAR $\gamma$  mRNA表达减少17.45%, 具有显著性差异( $P < 0.05$ ), 而PGC-1 $\alpha$ 与UCP-1的mRNA分别减少46%、34.33%, 具有极显著性差异( $P < 0.01$ )。此外, 与模型组相比, 灯盏花乙素组脂肪组织中PPAR $\gamma$ 、PGC-1 $\alpha$ 与UCP-1的mRNA表达分别增加了123.58%、269.14%和123.35%, 具有极显著性差异( $P < 0.01$ )。上述结果显示灯盏花乙素能够通过提高高脂喂养小鼠脂肪组织PPAR $\gamma$ 的表达, 促进肥胖小鼠脂肪组织PGC-1 $\alpha$ 与UCP-1的表达。

接下来又通过Western blotting技术在蛋白水平上考察灯盏花乙素对脂肪组织中脂质代谢相关蛋白表达的影响。结果如图7所示, 与对照组相比, 模型组脂肪组织中的PPAR $\gamma$ 蛋白的表达减少25.0%, 具有显著性差异( $P < 0.05$ ); PGC1 $\alpha$ 蛋白的表达减少10.67%, 具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 而

UCP1蛋白的表达也减少了18.24%, 具有显著性差异( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 灯盏花乙素组脂肪组织中PPAR $\gamma$ 蛋白表达较模型组增加了112.67%, 具有显著性差异( $P < 0.05$ ); PGC1 $\alpha$ 和UCP1的蛋白表达也提高了37.82%和16.92%, 具有显著性差异( $P < 0.05$ )。上述结果提示灯盏花乙素可能通过PPAR $\gamma$ -PGC1 $\alpha$ -UCP1信号通路调节高脂喂养小鼠的机体能量和脂质代谢。

### 4 讨论

肥胖是一种慢性代谢性疾病。随着人们生活水平的提高和饮食结构的改变, 全球肥胖的患病率以惊人的速度增长, 并呈现快速蔓延趋势, 且逐渐向年轻化发展。我国的肥胖形势也不容乐观。据2021年Lancet杂志发布的关于中国成年人肥胖数据显示, 我国肥胖人数高达8500万左右, 其中有4800万男性以及3700万女性<sup>[33]</sup>, 且有研究预测到2030年中国成人超重肥胖率将达到65.3%, 其中青少年和学龄前儿童是主力<sup>[34]</sup>。随着肥胖现象的普遍发生, 肥胖带来的一系列健康问题也不容忽视。肥胖是许多疾病的独立危险因素, 与2型糖尿病、脑卒中、冠心病、高血压等多种慢性非传染性疾病的



与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ 。

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group; ## $P < 0.01$  vs model group.

图6 灯盏花乙素对高脂喂养小鼠脂肪组织中脂质代谢相关基因表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig. 6 Effect of scutellarin on expression of lipid metabolism-related genes in adipose tissue of high-fat fed mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

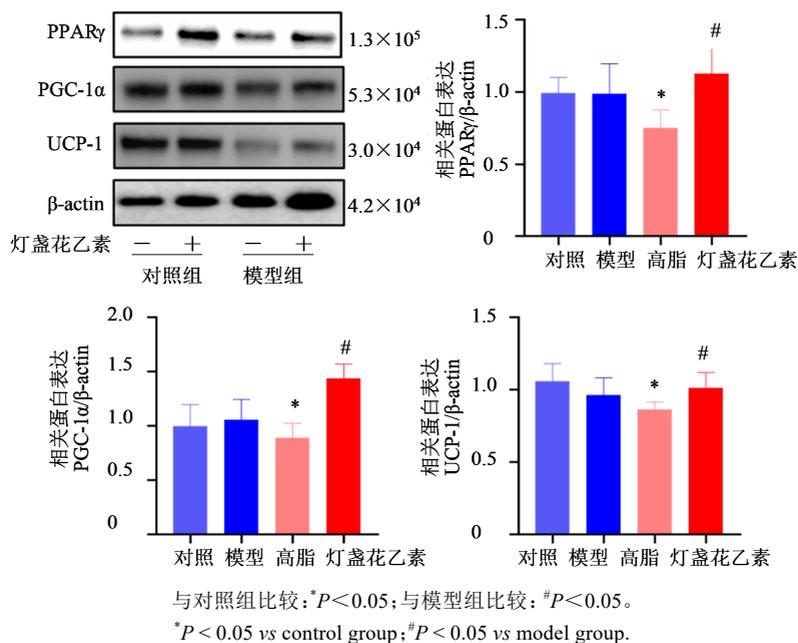


图7 灯盏花乙素对高脂喂养小鼠脂肪组织中脂质代谢相关蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Fig. 7 Effect of scutellarin on lipid metabolism-related protein expression in adipose tissue of high-fat fed mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

发生相关,甚至与多种肿瘤的发生相关<sup>[35]</sup>,严重危害着人类的健康。

作为一类天然的植物活性物质,灯盏花乙素对于人类健康的潜在益处近年来备受关注。大量文献证实灯盏花乙素具有抗炎、抗氧化以及抗肿瘤等多种药理作用,但对于肥胖的影响和作用机制目前鲜有报道。本研究通过建立小鼠肥胖模型,同时给予5%含量的灯盏花乙素进行干预,证实灯盏花乙素可以显著降低肥胖小鼠的体质量和脂肪组织质量。

脂肪组织堆积肥胖的典型特征。随着能量摄入过多和肥胖的发生,白色脂肪组织发生代偿性细胞数量增多,进而脂肪细胞肥大和脂肪组织扩张<sup>[36]</sup>。成年人的脂肪细胞数量大致稳定,所以脂肪细胞体积变化直接影响到肥胖。本研究显示,与对照组相比,模型组脂肪细胞体积明显增大,灯盏花乙素干预后,脂肪细胞呈现由单房细胞向多房细胞转变,细胞明显减小,这提示灯盏花乙素可以减小脂肪细胞体积,对肥胖有潜在的治疗作用。

脂代谢异常在肥胖患者中普遍存在,包括TC、TG、LDL-C的升高以及HDL-C水平的降低<sup>[37]</sup>。本研究显示,灯盏花乙素组小鼠的血清TC、LDL-C以及TG水平均较模型组显著降低,HDL-C水平则呈显著升高。这提示灯盏花乙素可以有效改善肥胖小鼠的血脂水平。

脂肪组织除了可以储存能量之外,也是机体能

量代谢的重要场所。促进脂肪组织蓄积的脂肪分解,减少脂肪堆积被认为是干预肥胖的重要策略之一。UCP1是一种线粒体内膜蛋白,可在线粒体内膜上形成质子通道,电子传递链泵出的 $H^+$ 可经此通道直接流回线粒体基质,使氧化磷酸化与ATP的生成解偶联,使质子浓度梯度储存的能量以热能形式释放<sup>[38]</sup>。UCP1的表达上调可以促进脂肪组织产热,增加能量消耗并预防小鼠肥胖。因此,提高脂肪组织的UCP1活动被认为是一种很有前途的对抗肥胖和代谢疾病的策略<sup>[39]</sup>。本研究通过免疫荧光检测各组小鼠腹股沟脂肪组织中的UCP1表达情况。结果显示,与对照组相比,模型组脂肪组织中UCP-1的表达明显降低;而灯盏花乙素处理可显著上调脂肪组织中的UCP1的表达水平。提示灯盏花乙素能够促进高脂喂养小鼠脂肪组织中UCP1的表达。

PPAR $\gamma$ 为配体激活核转录因子超家族成员,参与脂肪前体细胞的分化和脂肪氧化过程。临床研究发现肥胖人群中PPAR $\gamma$ 的表达下调<sup>[40]</sup>。PGC1 $\alpha$ 是PPAR $\gamma$ 的共激活物,主要存在于线粒体丰富的组织中。二者激活后能上调脂肪组织中的UCP1,从而促进脂肪组织能量代谢<sup>[41]</sup>。为了进一步阐明灯盏花乙素抗肥胖的分子机制,本研究分析了灯盏花乙素对肥胖小鼠脂肪组织中UCP1、PPAR $\gamma$ 及PGC1 $\alpha$ 表达水平的影响。结果显示灯盏花乙素有效促进了肥胖小鼠脂肪组织中PPAR $\gamma$ 的基因及蛋

白表达,增加肥胖小鼠脂肪组织中PGC1 $\alpha$ 、UCP1的基因及蛋白表达,从而表明灯盏花乙素对肥胖小鼠的改善作用可能与PPAR $\gamma$ -PGC1 $\alpha$ -UCP1信号通路有关。

综上所述,本研究表明灯盏花乙素在肥胖的预防和治疗中具有潜在的价值,能够为灯盏花的开发利用以及推广提供必要的理论依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Hasan A S. Influence of IL-10, IL-6 and TNF- $\alpha$  gene polymorphism on obesity [J]. Cell Mol Biol, 2023, 69(15): 277-282.
- [2] Samy K, Porwal Y C, Yadav A. Evaluation of interleukin 6(IL-6), tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and paraoxonase 1(pon 1) in obese and non-obese metabolic syndrome [J]. J Assoc Physicians India, 2022, 70(4): 11-12.
- [3] Kandhaya-Pillai R, Yang X M, Tchkonja T, et al. TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  synergy amplifies senescence-associated inflammation and SARS-CoV-2 receptor expression via hyper-activated JAK/STAT1 [J]. Aging Cell, 2022, 21(6): e13646.
- [4] Litwin M, Kułaga Z. Obesity, metabolic syndrome, and primary hypertension [J]. Pediatr Nephrol, 2021, 36(4): 825-837.
- [5] Li J, Lin S, Vanhoutte PM, et al. Akkermansia Muciniphila protects against atherosclerosis by preventing metabolic endotoxemia-induced inflammation in Apoe<sup>-/-</sup> mice [J]. Circulation, 2016, 133(24):2434-46.
- [6] Cena H, Chiovato L, Nappi R E. Obesity, polycystic ovary syndrome, and infertility: A new avenue for GLP-1 receptor agonists [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2020, 105(8): e2695-e2709.
- [7] Bray G A, Ryan D H. Drug treatment of the overweight patient [J]. Gastroenterology, 2007, 132(6): 2239-2252.
- [8] Vetter M L, Faulconbridge L F, Webb V L, et al. Behavioral and pharmacologic therapies for obesity [J]. Nat Rev Endocrinol, 2010, 6(10): 578-588.
- [9] Ioannides-Demos L L, Piccenna L, McNeil J J. Pharmacotherapies for obesity: Past, current, and future therapies [J]. J Obes, 2011, 2011: 179674.
- [10] Dai J, Li C Y, Zhao L, et al. Scutellarin protects the kidney from ischemia/reperfusion injury by targeting Nrf2 [J]. Nephrology, 2022, 27(8): 690-700.
- [11] Peng L, Wen L, Shi Q F, et al. Scutellarin ameliorates pulmonary fibrosis through inhibiting NF- $\kappa$ B/NLRP3-mediated epithelial-mesenchymal transition and inflammation [J]. Cell Death Dis, 2020, 11(11): 978.
- [12] Zeng S, Chen L, Sun Q, et al. Scutellarin ameliorates colitis-associated colorectal cancer by suppressing Wnt/ $\beta$ -catenin signaling cascade [J]. Eur J Pharmacol, 2021, 906: 174253.
- [13] Zhang G Y, Chen W Y, Li X B, et al. Scutellarin-induced A549 cell apoptosis depends on activation of the transforming growth factor- $\beta$ 1/smad2/ROS/caspase-3 pathway [J]. Open Life Sci, 2021, 16(1): 961-968.
- [14] 田冲冲, 张琦, 包小波, 等. 灯盏花乙素对黑色素瘤B16体内外的作用及机制研究 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(17): 406-412.  
Tian C C, Zhang Q, Bao X B, et al. Effect of scutellarin on melanoma B16 *in vitro* and *in vivo* and its mechanism [J]. Sci Technol Food Ind, 2023, 44(17): 406-412.
- [15] 张琦, 包小波, 田冲冲. 灯盏花乙素增强4T1乳腺癌细胞对顺铂敏感性的体内外研究 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(5): 331-340.  
Zhang Q, Bao X B, Tian C C. Effect of scutellarin on promoting the sensitivity of breast cancer 4T1 cells to cisplatin *in vitro* and *in vivo* [J]. Sci Technol Food Ind, 2024, 45(5): 331-340.
- [16] 刘涛. 一种游戏茶饮及其制备方法: 中国, CN107006648A [P]. 2017-08-04.  
Liu T. A kind of tea drink and its preparation method: China, CN107006648A [P]. 2017-08-04.
- [17] 苟秀芹. 一种即食剁椒豆干: 中国, CN201510999706.8 [P]. 2016-04-13.  
Gou X Q. A kind of instant dried tofu with chopped chili: China, CN201510999706.8 [P]. 2016-04-13.
- [18] 彭波. 一种含有灯盏花的药酒: 中国, CN106798838A [P]. 2017-06-06.  
Peng B. A kind of medicinal wine containing breviscapus: China, CN106798838A [P]. 2017-06-06.
- [19] 门爱东. 一种修复面部痘印、痘坑的中药粉剂及其制备方法: 中国, CN109731056A [P]. 2019-05-10.  
Men A D. A traditional Chinese medicine powder for repairing facial acne marks and pits and its preparation method: China, CN109731056A [P]. 2019-05-10.
- [20] 钱卫萍. 一种抑菌牙膏: 中国, CN201711204455.5 [P]. 2018-02-09.  
Qian W P. A kind of bacteriostatic toothpaste: China, CN201711204455.5 [P]. 2018-02-09.
- [21] 郭瑞, 刘青云, 杜欣焯, 等. 灯盏花胶囊对高糖高脂饮食诱发糖尿病肾病模型的影响 [J/OL]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2023: 1-9. (2023-04-19). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1192.N.20230418.1817.002.html>.  
Guo R, Liu Q Y, Du X Y, et al. The effect of *Erigeron breviscapus* capsule on a model of diabetic nephropathy

- induced by high-sugar and high-fat diet [J/OL]. J Yunnan Minzu Univ Nat Sci Ed, 2023: 1-9. (2023-04-19). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1192.N.20230418.1817.002.html>.
- [22] 张明昊, 郭申, 杜婧雯, 等. 灯盏花素通过调控 LKB1/AMPK 和 Notch1/Jagged1 通路改善高脂血症大鼠血脂水平及肝肾功能的作用机制研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2022, 24(6): 2340-2352.  
Zhang M H, Guo S, Du J W, et al. Restoring the blood lipid levels and liver and renal functions of breviscapine on hyperlipidemia rats by regulating LKB1/AMPK and Notch1/Jagged1 signal pathway [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2022, 24(6): 2340-2352
- [23] 刘思莹, 任蓁, 凌爽, 等. 灯盏花乙素治疗高脂血症的潜在分子生物学机制分析 [J]. 山东医药, 2020, 60(32): 13-17.  
Liu S Y, Ren Z, Ling S, et al. Analysis of potential molecular biological mechanism of scutellarin in treatment of hyperlipidemia [J]. Shandong Med J, 2020, 60(32): 13-17.
- [24] 陈柳欢, 陈施, 郭翠莉. 灯盏生脉胶囊联合瑞舒伐他汀钙治疗冠心病合并高脂血症临床研究 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2023, 33(24): 13-16.  
Chen L H, Chen S, Guo C L. Clinical research of Dengzhan Shengmai capsule combined with rosuvastatin calcium in the treatment of coronary heart disease complicated with hyperlipidemia [J]. Shenzhen J Integr Tradit Chin West Med, 2023, 33(24): 13-16.
- [25] 蒋起宏, 姚诗炜, 卢红伶, 等. 香榧油对肥胖小鼠脂质代谢紊乱的作用机制研究 [J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(8): 176-181.  
Jiang Q H, Yao S W, Lu H L, et al. Mechanism of *Torreya* seed oil on disturbance of lipid metabolism in obese mice [J]. Food Ferment Ind, 2024, 50(8): 176-181.
- [26] 赵田. 二陈汤对肥胖大鼠脂质代谢和肠道菌群紊乱影响的研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.  
ZHAO T. The effects of erchen decoction on lipid metabolism and intestinal flora disorders in obese rats [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2021.
- [27] 王丽媛, 杨振廷, 李青玲, 等. 灯盏乙素对长期高脂高糖饮食诱导的肥胖大鼠慢性肝损伤中肝脏组织 MMP2、MMP9 及 TIMP-1 蛋白表达的影响 [J]. 昆明医科大学学报, 2023, 44(4): 9-15.  
Wang L Y, Yang Z T, Li Q L, et al. Effects of scutellarin on MMP2, MMP9 and TIMP-1 protein in liver of obese rats with chronic liver injury by high glucose and fat diet [J]. J Kunming Med Univ, 2023, 44(4): 9-15.
- [28] 王烁. 灯盏乙素调控 NLRP3/IL-1 $\beta$ /TGF- $\beta$ 1 信号通路改善肥胖导致的大鼠肝纤维化的实验研究 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2022.  
WANG S, Experimental study of scutellarin regulating NLRP3/L1B/TGF- $\beta$ 1 signal pathway to improve liver fibrosis induced by obesity in rats [D]. Kunming: Kunming Medical University, 2022.
- [29] 史婧. 灯盏乙素抑制肥胖引起的心肌损伤的机制研究 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2022.  
Shi J. Research on the mechanism of scutellarin inhibiting obesity-induced myocardial injury [D]. Kunming: Kunming Medical University, 2022.
- [30] Shaul M E, Bennett G, Strissel K J, et al. Dynamic, M2-like remodeling phenotypes of CD11c<sup>+</sup> adipose tissue macrophages during high-fat diet: Induced obesity in mice [J]. Diabetes, 2010, 59(5): 1171-1181.
- [31] Zhang X, Ji R, Sun H, et al. Scutellarin ameliorates nonalcoholic fatty liver disease through the PPAR $\gamma$ /PGC-1 $\alpha$ -Nrf2 pathway [J]. Free Radic Res. 2018 Feb; 52(2): 198-211.
- [32] 邓广辉, 贾慧, 李允家, 等. 二陈汤通过调控脾脏铁转运能力改善非酒精性脂肪性肝病小鼠的铁代谢 [J]. 南方医科大学学报, 2023, 43(8): 1287-1296.  
Deng G H, Jia H, Li Y J, et al. Erchen Decoction improves iron homeostasis in mice with non-alcoholic fatty liver disease by regulating iron transport capacity in the spleen [J]. J South Med Univ, 2023, 43(8): 1287-1296.
- [33] Pan X F, Wang L M, Pan A. Epidemiology and determinants of obesity in China [J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2021, 9(6): 373-392.
- [34] Wang Y F, Zhao L, Gao L W, et al. Health policy and public health implications of obesity in China [J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2021, 9(7): 446-461.
- [35] National Health Commission of the People's Republic of China. 成人肥胖食养指南 [J]. 中国实用乡村医生杂志, 2024, 31(3): 1-3, 7.  
National Health Commission of the People's Republic of China. Guideline for the obesity dietary in adults [J]. Chin Pract J Rural Dr, 2024, 31(3): 1-3, 7.
- [36] Blüher M. Adipose tissue dysfunction contributes to obesity related metabolic diseases [J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2013, 27(2): 163-177.
- [37] Klop B, Elte J W F, Cabezas M C. Dyslipidemia in obesity: Mechanisms and potential targets [J]. Nutrients, 2013, 5(4): 1218-1240.
- [38] Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: Function and physiological significance [J]. Physiol Rev, 2004, 84(1): 277-359.
- [39] 冯倩倩, 贺润铖, 张磊, 等. 基于脂肪可塑性研究大黄素

- 对肥胖小鼠的改善作用和机制 [J]. 中草药, 2024, 55(4): 1228-1236.
- Feng Q Q, He R C, Zhang L, et al. Effect and mechanism of emodin on obese mice based on fat plasticity [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(4): 1228-1236.
- [40] McIver B, Grebe S K, Eberhardt N L. The PAX8/PPAR gamma fusion oncogene as a potential therapeutic target in follicular thyroid carcinoma. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord.* 2004 Sep; 4(3): 221-34.
- [41] van Dam A D, Boon M R, Berbée J F P, et al. Targeting white, brown and perivascular adipose tissue in atherosclerosis development [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 816: 82-92.

[责任编辑 齐静雯]