

肥胖小鼠脂肪组织外泌体中 脂质代谢相关蛋白的差异表达分析

嵇鑫喆¹, 王 凯², 时玉男¹, 王 响¹, 余 娇¹, 李嘉丽¹, 刘一丹³, 王秀云¹

(¹ 安徽医科大学基础医学院生物化学教研室, 合肥 230032;

² 安徽第二医学院医学技术学院生物化学与临床检验教研室, 合肥 230601;

³ 安徽医科大学生命科学学院生物化学与分子生物学系, 合肥 230032)

摘要 **目的** 通过蛋白质组学技术分析肥胖小鼠与野生型小鼠脂肪组织外泌体中脂质代谢相关蛋白表达水平的差异以探讨其调控肥胖相关代谢并发症的分子机制。**方法** 选取同周龄的野生型(WT)小鼠与肥胖模型(ob/ob)小鼠, 每组8只, 将两组小鼠脂肪组织剪碎后培养48 h, 收集培养上清液, 采用差速离心法分离外泌体。利用液相色谱-串联质谱技术(LC-MS/MS)进行蛋白质组学分析, 筛选差异表达蛋白(DEPs), 并进行基因本体论(GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。利用热图可视化DEPs表达模式, 通过Western blot验证DEPs的表达水平。**结果** 成功从WT组与ob/ob组小鼠脂肪组织培养上清液中提取外泌体。质谱分析共鉴定到25 629条肽段、3 376个蛋白质。与WT组相比, ob/ob组小鼠脂肪组织外泌体中高表达的蛋白质有699个, 低表达的蛋白质有632个。GO与KEGG分析均提示DEPs主要富集于代谢通路。热图分析可视化代谢相关DEPs的表达模式, 长链酰基辅酶A合成酶1(ACSL1)、载脂蛋白E(ApoE)和白蛋白(Alb)等脂质代谢相关蛋白的表达水平在肥胖状态下发生改变($P < 0.05$)。Western blot验证结果显示, ob/ob组小鼠脂肪组织外泌体中ApoE与Alb蛋白表达降低($P < 0.01$)。**结论** 肥胖状态下小鼠脂肪组织外泌体中脂质代谢相关蛋白的表达水平发生显著改变, 这些差异表达的脂质代谢相关蛋白或可作为治疗肥胖及其相关代谢并发症的潜在分子靶点。

关键词 肥胖; 脂肪组织; 外泌体; 蛋白质组学分析; 差异表达蛋白; 脂质代谢相关蛋白

中图分类号 Q 782

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)11-2069-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.11.011

近年来, 我国肥胖患病率持续上升, 肥胖已成为重大公共卫生问题^[1-2]。肥胖可诱发胰岛素抵抗、高血压、非酒精性脂肪性肝病、心血管疾病以及骨关节炎等多种代谢并发症^[3]。肥胖以内脏脂肪组织与皮下脂肪组织的异常堆积为特征, 且二者比例差异会对机体代谢产生不同的影响^[4]。脂肪组织通过多种途径调控机体代谢, 其中外泌体介导的细胞间通讯是其调控途径之一^[5]。外泌体是由脂肪组织在内的多数细胞分泌的、直径30~150 nm的脂质双层囊泡, 其内包裹miRNA、蛋白质等多种生物活性物质, 这些物质能够经体液循环靶向递送至远端器官, 实现跨器官的信号传递^[6]。然而, 当前研究主要集中于肥胖状态下脂肪组织外泌体的非编码

RNA组学^[7], 针对其蛋白质组学的研究仍相对有限^[8]。

脂质代谢相关蛋白通过调控脂肪酸合成、分解及转运来维持脂质代谢平衡。研究^[9]表明, 脂质代谢失衡是肥胖及其相关代谢并发症发生的重要诱因。该研究采用蛋白质组学技术, 分析比较WT小鼠与ob/ob小鼠脂肪组织外泌体中脂质代谢相关蛋白的表达差异, 探讨这些外泌体蛋白介导肥胖相关代谢并发症的发病机制, 为筛选潜在的治疗靶点提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 10只8周龄SPF级雄性C57BL/6J小鼠, 体质量21~25 g, 10只8周龄SPF级雄性ob/ob小鼠, 体质量38~42 g。均购自江苏集萃药康生物科技有限公司, 并于25℃、12 h/12 h光照/黑暗条件下饲养。所有动物实验均经安徽医科大学实验动物伦理委员会批准(编号:LLSC20230627)。

1.1.2 主要试剂 4%多聚甲醛通用型组织固定液

2025-08-13 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号:82300659); 安徽省自然科学基金(编号:2308085QH247); 安徽省高校自然科学基金项目(编号:ZR2024B006)

作者简介: 嵇鑫喆, 女, 硕士研究生;

王秀云, 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail:

wangxiuyun@ahmu.edu.cn

货号:(BL539A)购自北京兰杰柯科技有限公司; Dulbecco's Modified Eagle's Medium 培养基(货号: 319-010-CL)、血清(货号:086-150)购自南京维森特生物科技有限公司;脱脂奶粉(货号:P0216-1500g)、RIPA 裂解液(货号:P0013D)、5 × SDS PAGE 蛋白上样缓冲液(货号:P005L)、PMSF(货号:ST2573-5g)购自上海碧云天生物技术有限公司;Tanon™ Femto-sig ECL Western Blotting Substrate(货号:180-501)购自上海天能科技有限公司;ApoE Rabbit pAb(货号:A163441)、Alb Rabbit mAb(货号:A24161)购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;TSG101 Recombinant Rabbit Monoclonal Antibody(货号:ET-1701-59)、HRP 标记的羊抗兔二抗(货号:HA1001)购自杭州华安生物技术有限公司。

1.1.3 主要仪器 智能型超速离心机(型号:OPTIMA XE-100)购自美国贝克曼库尔特有限公司;高速冷冻离心机(型号:Sorvall ST 16R)购自美国赛默飞世尔科技有限公司;电泳仪及 SDS-PAGE 凝胶电泳装置(型号:VE-186)购自上海天能科技有限公司;纳米颗粒跟踪分析仪(型号:NS300)购自英国马尔文仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 组织切片苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色 新鲜组织样本使用4%多聚甲醛固定48 h后,进行石蜡包埋并切片,将组织切片置于温水中浸泡,待组织充分伸展后转移至载玻片,烘干备用。切片在二甲苯中浸泡10 min后,依次放入100%、95%、85%、70%乙醇中各脱水5 min。使用磷酸盐缓冲(phosphate-buffered saline, PBS)清洗3次,每次5 min。随后放入苏木精染液中染色10 min,洗去多余染液。使用弱碱性促蓝液将细胞核染成蓝色,随后使用伊红染液染色3 min,待风干后使用中性感胶封片。

1.2.2 脂肪组织外泌体提取 取小鼠脂肪组织称重,将等质量组织使用预冷的PBS清洗3次,转移至基础培养基中备用。在细胞工作台使用无菌眼科剪将组织剪碎,随后将其培养于含有2%无外泌体血清及1%青链霉素双抗生素溶液的细胞培养基中,培养48 h。培养结束后收集细胞培养液,依次经差速离心(1 655 r/min、10 min、4 272 r/min、10 min、9 553 r/min、30 min)后收集上清液。将上清液以25 000 r/min离心70 min,使外泌体沉淀于管底。使用200 μL PBS将外泌体重悬后测定其蛋白浓度,用于后续分析。

1.2.3 外泌体粒径分析 收集的外泌体使用PBS进行梯度稀释后,用1 mL注射器推入NanoSight NS300纳米颗粒跟踪分析仪中,得到合适的稀释倍数后进行正式实验,得到粒径分析结果。

1.2.4 外泌体蛋白质组学分析 外泌体样本的液相色谱-串联质谱技术(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)分析使用杭州景杰生物科技股份有限公司的EASY-nLC 1200超高效液相系统与Orbitrap Exploris™ 480高分辨质谱仪进行。获得的质谱数据导入搜库软件,使用Proteome Discoverer(v2.4.1.15)进行检索,检索数据库为Mus_musculus_10090_SP_20210721.fasta(17 089条序列)。由杭州景杰生物科技股份有限公司利用软件对质谱原始数据进行标准化处理,基于蛋白质表达的差异倍数(fold change, FC),筛选差异表达蛋白(differentially expressed proteins, DEPs),筛选标准为 $|\log_2 FC| \geq 1.5$ 且校正后 $P < 0.05$ 。对筛选出的DEPs使用eggno-mapper(v2.0)软件进行基因本体论(gene ontology, GO)富集分析并使用diamond(v2.0.11.149)软件进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析,判定DEPs主要影响的生物学功能和通路。

1.2.5 Western blot 实验 使用差速离心法分离外泌体后,使用80 μL含有PMSF的RIPA裂解液(1:100)重悬外泌体沉淀,加入20 μL 5 × SDS PAGE 蛋白上样缓冲液,涡旋振荡混匀,置于金属浴加热孔中100℃变性10 min。取50 μL变性蛋白样品进行SDS-PAGE凝胶电泳,转膜,使用5%的脱脂奶粉室温封闭1 h,加入一抗4℃孵育过夜。次日室温孵育辣根过氧化物酶标记的二抗1 h,化学发光显影液显影,蛋白条带使用Image J软件进行灰度值分析。

1.3 统计学处理 所有数据的处理均使用GraphPad9.0软件进行统计学分析。进行方差齐性检验、正态性检验。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,数据统计学分析采用成组 t 检验,多组资料之间的比较采用单因素方差分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脂肪组织外泌体的提取 取8周龄的WT小鼠及ob/ob小鼠的肝脏组织及附睾脂肪组织制备石蜡切片,经HE染色后,光学显微镜下可清晰观察到

ob/ob 小鼠肝脏组织细胞内出现明显的空泡 (图 1A), 且 ob/ob 小鼠白色脂肪细胞体积较 WT 小鼠显著增大 (图 1B)。取相同质量的 WT 小鼠及 ob/ob 小鼠脂肪组织剪碎后置于培养箱中培养 48 h, 收集上清液并通过差速离心法分离外泌体 (图 1C)。经纳米颗粒跟踪分析, 外泌体颗粒直径介于 100 ~ 200 nm 区间, 属于正常外泌体的粒径范围 (图 1D)。

2.2 脂肪组织外泌体蛋白质组学质量分析 利用 LC-MS/MS 对 WT 小鼠及 ob/ob 小鼠脂肪组织外泌体进行蛋白质组学分析, 结果显示: 大部分鉴定蛋白的分子量分布于 10 ~ 60 ku, 属于正常范围 (图 2A)。多数蛋白对应 1 ~ 10 条或大于 20 条肽段 (图 2B)。将搜库分析结果需要做进一步的数据过滤。在谱

图、肽段、蛋白 3 个层面鉴定的假阳性率设定为 1%; 鉴定蛋白至少需要包含 1 个特异性肽段。经过数据过滤后的鉴定出 25 629 条肽段, 3 376 个蛋白质 (图 2C)。ob/ob 组小鼠脂肪组织外泌体中表达量上调的蛋白质有 699 个, 表达量下调的蛋白质有 632 个 (图 2D)。

2.3 脂肪组织外泌体 DEPs 富集分析 GO 富集分析结果显示, DEPs 在生物学过程 (Biological Process) 中显著富集于细胞过程、生物调节、代谢过程等条目; 在细胞组分 (Cellular Component) 中显著富集于细胞、细胞内结构等条目; 在分子功能 (Molecular Function) 中显著富集于结合条目 (图 3A)。进一步的 KEGG 通路富集分析结果表明, DEPs 显著

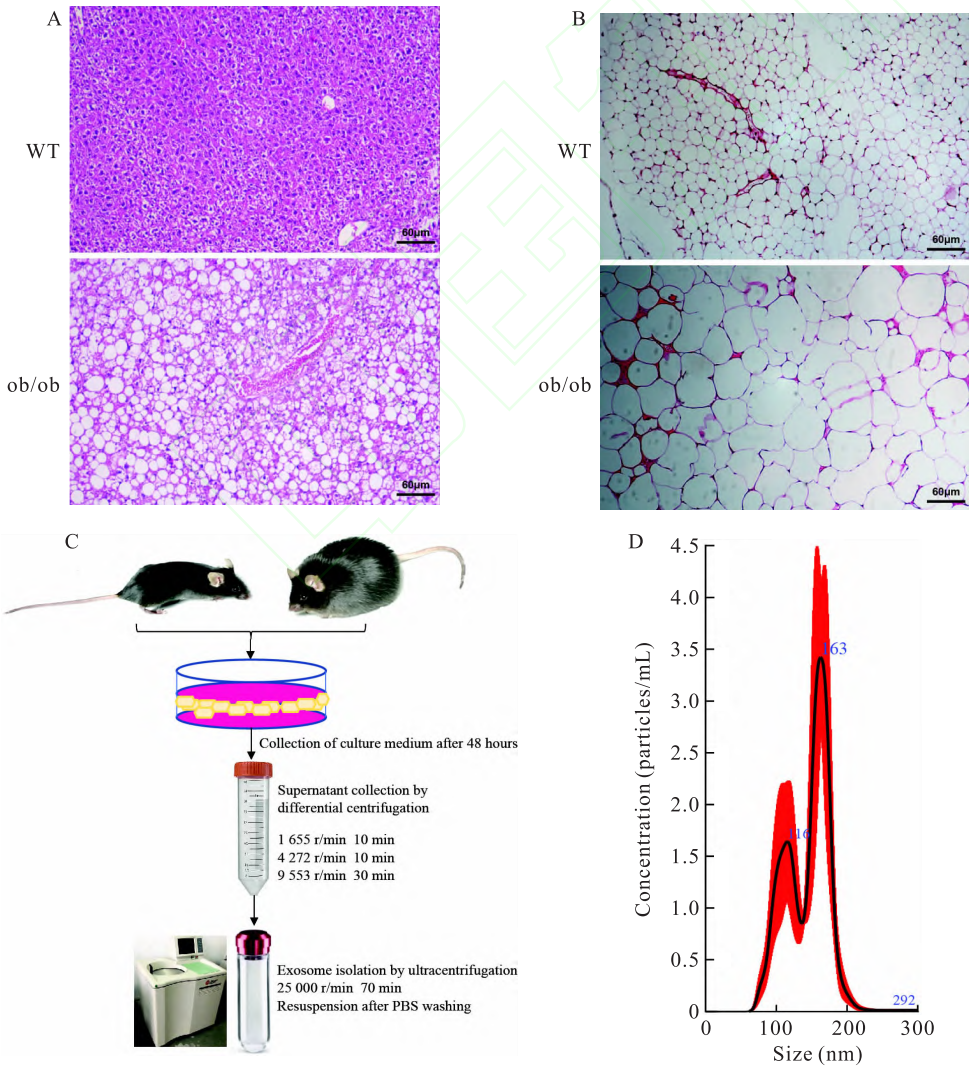


图 1 WT 小鼠和 ob/ob 小鼠脂肪组织外泌体分离

Fig. 1 Isolation of exosomes from adipose tissues of WT mice and ob/ob mice

A: HE staining of the liver tissues of WT mice and ob/ob mice ×100; B: HE staining of the adipose tissues of WT mice and ob/ob mice ×100; C: Schematic diagram of the isolation of exosomes from adipose tissue; D: Particle size analysis of exosomes from adipose tissues.

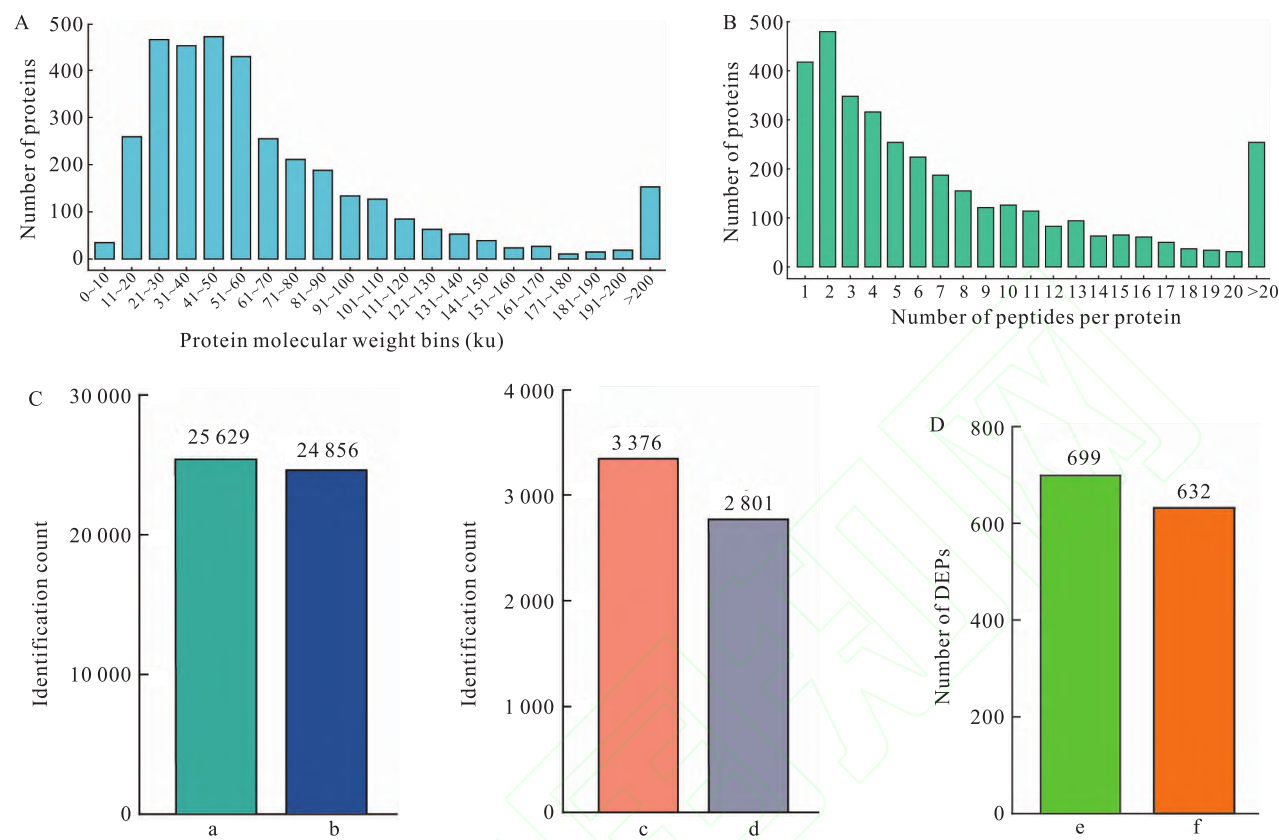


图2 脂肪组织外泌体蛋白质组学质量分析

Fig.2 Quality analysis of the proteomics of exosomes from adipose tissues

A: Molecular weight distribution of proteins in mass spectrometry data; B: The number of peptides matched to proteins in mass spectrometry data; C: The number of peptides and proteins identified by database searching; D: Differentially expressed proteins in adipose tissue exosomes of ob/ob group mice; a: Peptide; b: Unique peptide; c: Protein; d: Quantified protein; e: Up-regulated group; f: Down-regulated group.

富集于代谢通路、过氧化物酶体通路、细胞黏附分子信号通路(图3B)。两种分析结果均显示,DEPs主要富集于代谢通路。基于FC值对代谢相关的DEPs进行排序,筛选排名前50位的DEPs,并运用热图对WT组与ob/ob组小鼠脂肪组织外泌体中这50个蛋白质进行可视化。热图(图3C)中,色块颜色从蓝色到红色表示蛋白表达的丰度由低到高,其中长链酰基辅酶A合成酶1(acyl-CoA synthetase long-chain family member 1,ACSL1)WT组色块为蓝色、ob/ob组色块为红色,载脂蛋白E(apolipoprotein E,ApoE)与白蛋白(albumin,Alb)WT组色块为红色、ob/ob组色块为蓝色,此三种脂质代谢相关蛋白表达水平在肥胖状态下均发生显著改变,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 Western blot 验证脂质代谢相关蛋白的差异表达 分别提取WT组与ob/ob组小鼠脂肪组织外泌体,通过Western blot检测外泌体中差异表达显著的ApoE、Alb蛋白表达水平,结果显示,与WT组相

比,ob/ob组小鼠脂肪组织外泌体中ApoE与Alb的蛋白表达均降低($t = 6.278、8.415$,均 $P < 0.01$;图4A、B),差异有统计学意义。

3 讨论

器官间通讯是机体内脏组织相互作用的重要方式。脂肪组织作为机体重要的内分泌器官,可通过分泌外泌体传递多种信号分子^[10]。脂肪组织分泌的外泌体可与肝细胞、神经细胞等靶细胞融合并递送内容物,实现对靶细胞功能的调控,这构成了脂肪组织与其他内脏组织相互作用的核心机制^[11-12]。既往研究^[13]证实,脂肪组织外泌体中的miRNA可调控肝脏脂质代谢、胰岛 β 细胞活性、肌肉功能、神经认知功能。除miRNA外,脂肪组织外泌体中还富含多种重要的功能调控蛋白,如炎症相关的脂肪因子(脂联素、瘦素)、细胞因子(白细胞介素-6)等^[14]。这些外泌体蛋白能够调控机体肌肉、皮肤、下丘脑和肾脏等组织的功能,表明外泌体蛋白在器

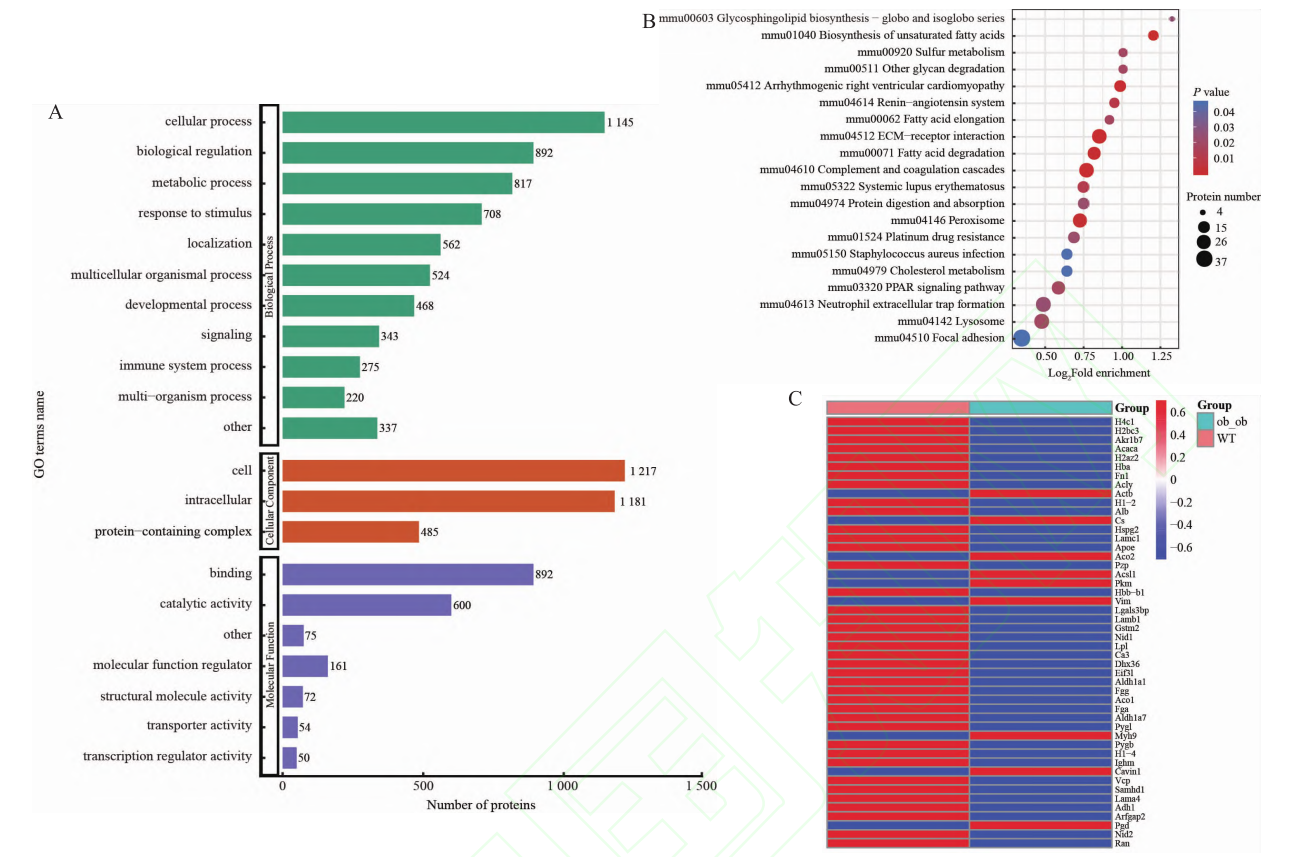


图3 脂肪组织外泌体 DEPs 富集分析

Fig.3 Enrichment analysis of DEPs in adipose tissue-derived exosomes

A: GO enrichment analysis of DEPs; B: KEGG pathway enrichment analysis of DEPs; C: Heatmap of DEPs in adipose tissue-derived exosomes from the WT group and ob/ob group mice.

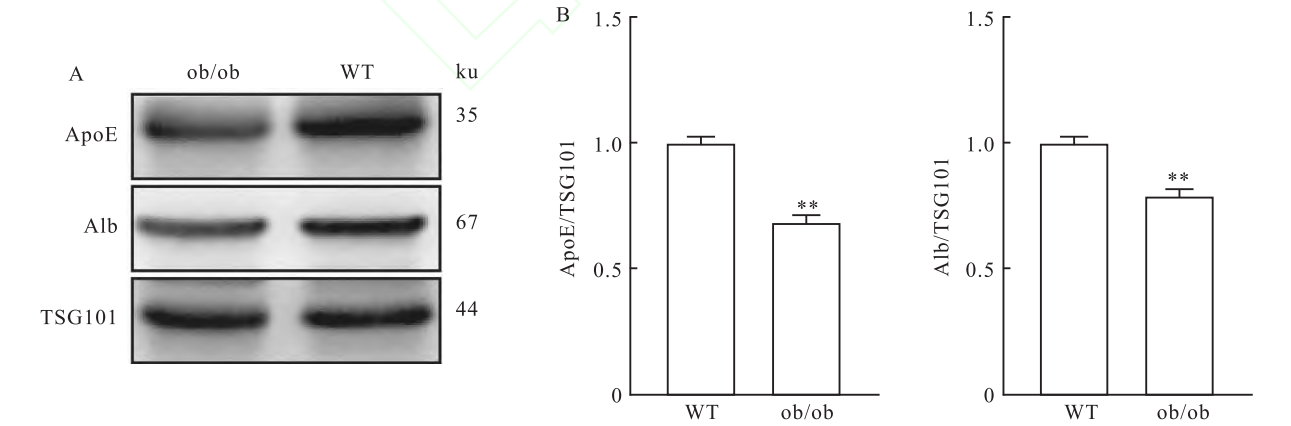


图4 Western blot 验证脂质代谢相关蛋白的差异表达

Fig.4 Validation of differential expression of lipid metabolism-associated proteins by Western blot

A: Protein expression levels of ApoE and Alb in exosomes from adipose tissue of the WT group and the ob/ob group mice; B: Relative quantitative analysis of ApoE and Alb expression in exosomes from adipose tissue between the WT group and the ob/ob group mice; ** $P < 0.01$ vs the WT group.

官间通讯中同样发挥着重要作用。

在肥胖病理状态下,脂肪组织异常堆积可导致其功能重塑,进而改变其分泌的外泌体特性,影响靶

细胞的功能。因此,深入解析脂肪组织外泌体内容物成分是阐明肥胖状态下脂肪组织功能的关键。本研究采用差速离心法成功分离并提取 WT 小鼠和

ob/ob 小鼠脂肪组织分泌的外泌体,并对其内容物进行蛋白质组学分析,共鉴定到 3 376 个蛋白质。结果显示,与 WT 组相比,ob/ob 组小鼠脂肪组织外泌体蛋白表达谱发生广泛而显著的改变(699 个蛋白质表达上调,632 个蛋白质表达下调),这提示小鼠肥胖后脂肪组织分泌的外泌体在靶向调控功能上发生了重要改变。

本研究中对 DEPs 进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析,两种分析结果均一致显示,与 WT 组小鼠相比,ob/ob 组小鼠脂肪组织外泌体中的 DEPs 主要富集于代谢通路。鉴于肥胖及其相关代谢并发症的发生与脂质代谢紊乱密切相关,系统性分析肥胖对脂肪组织外泌体脂质代谢相关蛋白表达水平的影响至关重要。因此,本研究基于 FC 值对代谢相关的 DEPs 进行排序,筛选前 50 位 DEPs,重点关注 DEPs 中的脂质代谢相关蛋白,如 ACSL1、ApoE、Alb 等。其中,ACSL1 的高表达可抑制脂肪酸 β 氧化,促进三酯酰甘油累积^[15]。ApoE 通过高亲和力结合肝细胞表面低密度脂蛋白受体(LDLR)及低密度脂蛋白受体相关蛋白-1(LRP1),介导富含三酯酰甘油和胆固醇的脂蛋白从血浆循环中清除,从而维持脂质稳态^[16]。Alb 作为脂肪酸结合蛋白,拥有约 7 个脂肪酸结合位点,参与脂肪酸的转运过程^[17],并能够通过调控脂蛋白脂肪酶的稳定性影响富含三酯酰甘油的脂蛋白清除^[18]。在肥胖状态下,上述脂质代谢相关蛋白在脂肪组织外泌体中表达水平的显著改变,均可能通过外泌体介导的器官间通讯破坏全身脂质稳态,进而驱动肥胖及其相关代谢并发症的发生。然而,其具体作用机制仍有待深入研究。

综上所述,ob/ob 小鼠脂肪组织外泌体中 ACSL1、ApoE、Alb 等脂质代谢相关蛋白的表达水平发生显著改变。该研究为肥胖状态下外泌体蛋白介导的脂肪组织-靶器官互作机制奠定了实验基础,也为筛选肥胖相关代谢并发症的分子治疗靶点提供了新思路。

参考文献

- [1] GBD 2021 Adult BMI Collaborators. Global, regional, and national prevalence of adult overweight and obesity, 1990–2021, with forecasts to 2050; a forecasting study for the Global Burden of Disease Study 2021 [J]. *Lancet*, 2025, 405 (10481): 813–38. doi:10.1016/S0140-6736(25)00355-1.
- [2] 郝明茹,刘乐伟,夏磊,等. 青少年抑郁障碍患者肥胖与炎症细胞因子的关联性研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2025, 60 (4): 670–4. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.04.012.
- [3] Hao M R, Liu L W, Xia L, et al. Study on the association of obesity and inflammatory cytokines in adolescent patients with major depressive disorder[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2025, 60 (4): 670–4. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.04.012.
- [4] Rohm T V, Meier D T, Olefsky J M, et al. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders[J]. *Immunity*, 2022, 55 (1): 31–55. doi:10.1016/j.immuni.2021.12.013.
- [5] Ramirez M F, Pan A S, Parekh J K, et al. Sex differences in protein biomarkers and measures of fat distribution[J]. *J Am Heart Assoc*, 2024, 13 (22): e000223. doi:10.1161/JAHA.124.000223.
- [6] He R, Chen Y. The role of adipose tissue-derived exosomes in chronic metabolic disorders[J]. *Curr Med Sci*, 2024, 44 (3): 463–74. doi:10.1007/s11596-024-2902-2.
- [7] Krylova S V, Feng D. The machinery of exosomes: biogenesis, release, and uptake[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (2): 1337. doi:10.3390/ijms24021337.
- [8] Mori M A, Ludwig R G, Garcia-Martin R, et al. Extracellular miRNAs: from biomarkers to mediators of physiology and disease [J]. *Cell Metab*, 2019, 30 (4): 656–73. doi:10.1016/j.cmet.2019.07.011.
- [9] Camino T, Lago-Baameiro N, Martis-Suciro A, et al. Deciphering adipose tissue extracellular vesicles protein cargo and its role in obesity[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (24): 9366. doi:10.3390/ijms21249366.
- [10] Yang Z, Wei Z, Wu X, et al. Screening of exosomal miRNAs derived from subcutaneous and visceral adipose tissues: determination of targets for the treatment of obesity and associated metabolic disorders[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18 (3): 3314–24. doi:10.3892/mmr.2018.9312.
- [11] Lai J J, Chau Z L, Chen S Y, et al. Exosome processing and characterization approaches for research and technology development[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9 (15): e2103222. doi:10.1002/advs.202103222.
- [12] Son T, Jeong I, Park J, et al. Adipose tissue-derived exosomes contribute to obesity-associated liver diseases in long-term high-fat diet-fed mice, but not in short-term[J]. *Front Nutr*, 2023, 10: 1162992. doi:10.3389/fnut.2023.1162992.
- [13] Wang J, Li L, Zhang Z, et al. Extracellular vesicles mediate the communication of adipose tissue with brain and promote cognitive impairment associated with insulin resistance [J]. *Cell Metab*, 2022, 34 (9): 1264–79. e8. doi:10.1016/j.cmet.2022.08.004.
- [14] Le Lay S, Scherer P E. Exploring adipose tissue-derived extracellular vesicles in inter-organ crosstalk: implications for metabolic regulation and adipose tissue function[J]. *Cell Rep*, 2025, 44 (6): 115732. doi:10.1016/j.celrep.2025.115732.
- [15] Wang Y, Li Q, Zhou S, et al. Contents of exosomes derived from adipose tissue and their regulation on inflammation, tumors, and diabetes[J]. *Front Endocrinol*, 2024, 15: 1374715. doi:10.3389/fendo.2024.1374715.

- [15] Li T, Li X, Meng H, et al. ACSL1 affects triglyceride levels through the PPAR γ pathway[J]. Int J Med Sci, 2020, 17(6): 720–7. doi:10.7150/ijms.42248.
- [16] Alagarsamy J, Jaeschke A, Hui D Y. Apolipoprotein E in cardio-metabolic and neurological health and diseases[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(17): 9892. doi:10.3390/ijms23179892.
- [17] Aher A P, Mittendorfer B. Fatty acids and albumin bond to control metabolic function[J]. J Appl Physiol (1985), 2024, 136(6): 1496–8. doi:10.1152/jappphysiol.00262.2024.
- [18] Risti R, Gunn K H, Hiis-Hommuk K, et al. Combined action of albumin and heparin regulates lipoprotein lipase oligomerization, stability, and ligand interactions[J]. PLoS One, 2023, 18(4): e0283358. doi:10.1371/journal.pone.0283358.

Analysis of differential expression of lipid metabolism-related proteins in adipose tissue exosomes from obese mice

Zhuo Xinzhe¹, Wang Kai², Shi Yunan¹, Wang Xiang¹, Yu Jiao¹, Li Jiali¹, Liu Yidan³, Wang Xiuyun¹

(¹Dept of Biochemistry, School of Basic Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032;

²Dept of Biochemistry and Clinical Laboratory, School of Medical Technology,

Anhui Second Medical College, Hefei 230601; ³Dept of Biochemistry and

Molecular Biology, School of Life Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To analyze differences in the expression levels of lipid metabolism-related proteins in adipose tissue exosomes between obese mice and wild-type mice using proteomic techniques. **Methods** Wild-type (WT) and obese (ob/ob) model mice of the same age were selected, with 8 mice per group. Adipose tissue from both groups was minced and cultured for 48 hours. Conditioned media was collected, and exosomes were isolated using differential centrifugation. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was utilized for proteomic analysis to screen differentially expressed proteins (DEPs). Gene ontology (GO) enrichment analysis and kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed on the DEPs. Heatmaps were generated to visualize DEPs expression patterns, and Western blot was employed to validate DEPs expression levels. **Results** Exosomes were successfully extracted from the culture supernatant of adipose tissues from mice in the WT group and the ob/ob group. Mass spectrometry analysis identified a total of 25 629 peptides and 3 376 proteins. Compared with the WT group, there were 699 proteins with high expression and 632 proteins with low expression in the exosomes derived from adipose tissues of ob/ob mice. Both GO and KEGG analyses showed that DEPs were mainly enriched in metabolic pathways. Heatmap analysis visualized the expression patterns of metabolism-related DEPs, and the expression levels of lipid metabolism-related proteins such as acyl-CoA synthetase long-chain family member 1 (ACSL1), apolipoprotein E (ApoE), and albumin (Alb) changed significantly in the obese state ($P < 0.05$). Western blot verification results showed that the expression of ApoE and Alb proteins in the adipose tissue-derived exosomes of ob/ob mice decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** The expression levels of lipid metabolism-related proteins, including ACSL1, ApoE, and Alb, are significantly altered in adipose tissue-derived exosomes from ob/ob mice. These proteins may disrupt lipid homeostasis via exosome-mediated inter-cellular communication, thereby driving the development of obesity-associated metabolic complications, suggesting their potential as molecular therapeutic targets.

Key words obesity; adipose tissue; exosome; proteomic analysis; differentially expressed proteins; lipid metabolism-related proteins

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 82300659); Natural Science Foundation of Anhui Province (No. 2308085QH247); Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. ZR2024B006)

Corresponding author Wang Xiuyun, E-mail: wangxiuyun@ahmu.edu.cn