



安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

## 《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目： 激活  $\alpha 7nAChR$  优化肥胖小鼠棕色脂肪组织产热  
作者： 田文成, 王苏童, 范和松, 李颜, 姜萍, 李晓  
收稿日期： 2026-03-16  
网络首发日期： 2026-05-08  
引用格式： 田文成, 王苏童, 范和松, 李颜, 姜萍, 李晓. 激活  $\alpha 7nAChR$  优化肥胖小鼠棕色脂肪组织产热[J/OL]. 安徽医科大学学报.  
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20260507.1629.008>



**网络首发：**在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认：**纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

## 激活 $\alpha 7nAChR$ 优化肥胖小鼠棕色脂肪组织产热

田文成<sup>1</sup>, 王苏童<sup>1</sup>, 范和松<sup>1</sup>, 李颜<sup>1</sup>, 姜萍<sup>2</sup>, 李晓<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> 山东中医药大学第一临床医学院, 济南 250014; 山东中医药大学附属医院 <sup>2</sup> 风湿免疫科、<sup>3</sup> 心血管病科, 济南 250014)

2026-03-16 接收

基金项目：国家自然科学基金项目(编号：81874449、82274481)；山东省自然科学基金项目(编号：ZR2022LZY004)

作者简介：田文成，女，硕士研究生；

姜萍，女，教授，博士生导师，通信作者，E-mail: lmdlmd6617@163.com;

李晓，男，教授，博士生导师，通信作者，E-mail: lixiao617@163.com;

**摘要** **目的** 探索激活  $\alpha 7$  烟碱型乙酰胆碱受体 ( $\alpha 7nAChR$ ) 优化肥胖小鼠棕色脂肪组织 (BAT) 产热作用机制。**方法** 采用高脂饮食诱导肥胖模型，50 只 8 周龄 C57BL/6J 小鼠随机分为低脂饮食组 (Control 组)，高脂饮食组 (HFD 组)，高脂饮食+ $\beta 3$  受体激动剂组 (HFD+ $\beta 3$  组)，高脂饮食+ $\beta 3$  受体激动剂+ $\alpha 7nAChR$  选择性激动剂组 (HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 组)，高脂饮食+ $\beta 3$  受体激动剂+ $\alpha 7nAChR$  选择性抑制剂组 (HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT 组)。苏木精-伊红 (HE) 染色观察 BAT 的形态结构，透射电子显微镜分析脂肪细胞内线粒体数量及脂滴形态变化；ELISA 检测 BAT 中肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-10 (IL-10)、转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ )、以及环磷酸腺苷 (cAMP)、去甲肾上腺素 (NE) 水平；RT-qPCR 检测 BAT 中血管内皮生长因子 (VEGF-A)、一氧化氮合酶 2 (NOS2)、精氨酸酶 1 (Arg1) mRNA 的表达水平、以及解偶联蛋白 1 (UCP1)、含 PR 结构域蛋白 16 (PRDM16)、过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  辅激活因子 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) 表达水平；免疫组织化学方法检测棕色脂肪中的 CD31、CD86 和 CD206 等巨噬细胞标志物的表达；Western blot 检测 UCP1、 $\alpha 7nAChR$ 、核因子  $\kappa B$  p65 (NF- $\kappa B$  p65)、磷酸化 Janus 激酶 2 (p-JAK2) 和磷酸化信号转导及转录激活因子 3 (p-STAT3) 水平。**结果** 与 Control 组比较，HFD 组脂肪细胞中脂滴面积增大、线粒体数量减少，促炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  上调，抑炎因子 IL-10、TGF- $\beta$  及 Arg1、VEGF-A 下调 (均  $P < 0.01$ )。与 HFD+ $\beta 3$  组相比，HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 组脂肪细胞中脂滴面积减小，线粒体数量增加，促炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、NOS2 及 NF- $\kappa B$  p65 表达下降，抑炎因子 IL-10、TGF- $\beta$  及 Arg1、p-STAT3、p-JAK2 磷酸化水平升高 (均  $P < 0.01$ )。**结论** 激活  $\alpha 7nAChR$  联合  $\beta 3$  受体激动剂可有效促进产热反应，改善脂肪组织局部缺氧，使局部炎症相关表型向 M2 样表型偏移，从而缓解 BAT 炎症状态，增强其产热能力。

**关键词** 肥胖；棕色脂肪组织； $\alpha 7nAChR$ ；产热；炎症反应；解偶联蛋白 1

中图分类号 R 589.2

## Activation of $\alpha 7$ nAChR optimises thermogenesis in brown adipose tissue of obese mice

Tian Wencheng<sup>1</sup>, Wang Sutong<sup>1</sup>, Fan Hesong<sup>1</sup>, Li Yan<sup>1</sup>, Jiang Ping<sup>2</sup>, Li Xiao<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>First Clinical Medical College, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014; <sup>2</sup>Department of Rheumatology and Immunology, <sup>3</sup>Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014)

**Abstract Objective** To investigate the mechanism by which activation of  $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors ( $\alpha 7$ nAChR) optimizes brown adipose tissue (BAT) thermogenesis in obese mice. **Methods** Obesity was induced in C57BL/6J mice via a high-fat diet. Fifty 8-week-old mice were randomly assigned to five groups: low-fat diet (Control), high-fat diet (HFD), high-fat diet plus a  $\beta 3$ -adrenergic receptor agonist (HFD+ $\beta 3$ ), high-fat diet plus a  $\beta 3$ -adrenergic receptor agonist and an  $\alpha 7$ nAChR selective agonist (HFD+ $\beta 3$ +GTS-21), and high-fat diet plus a  $\beta 3$ -adrenergic receptor agonist and an  $\alpha 7$ nAChR selective antagonist (HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT). Haematoxylin and eosin (HE) staining was used to evaluate BAT morphology. Transmission electron microscopy was performed to assess mitochondrial number and lipid droplet morphology in adipocytes. ELISA was used to measure levels of tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ), interleukin-10(IL-10), transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), cyclic adenosine monophosphate (cAMP), and norepinephrine (NE). RT-qPCR was conducted to determine mRNA expression levels of vascular endothelial growth factor A (*VEGF-A*), nitric oxide synthase 2 (*NOS2*), arginase 1 (*Arg1*), uncoupling protein 1 (*UCP1*), PR domain-containing protein 16 (*PRDM16*), and peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$  (*PGC-1 $\alpha$* ) in BAT. Immunohistochemistry was used to detect macrophage markers (CD31, CD86, and CD206). Protein expression levels of UCP1,  $\alpha 7$ nAChR, nuclear factor- $\kappa$ B p65(NF- $\kappa$ B p65), phosphorylated Janus kinase 2 (p-JAK2), and phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3 (p-STAT3) were analyzed by Western blot. **Results** Compared with the Control group, the HFD group showed enlarged lipid droplets and reduced mitochondrial numbers in adipocytes, accompanied by increased TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  and decreased IL-10, TGF- $\beta$ , Arg1, and *VEGF-A* (all  $P < 0.01$ ). Compared with the HFD+ $\beta 3$  group, the HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 group showed a smaller lipid droplet area and a higher mitochondrial number, along with reduced levels of pro-inflammatory factors, NOS2, and NF- $\kappa$ B p65, and increased levels of anti-inflammatory factors, Arg1, and phosphorylation of JAK2 and STAT3 (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion** Activation of  $\alpha 7$ nAChR in combination with a  $\beta 3$ -adrenergic receptor agonist effectively enhances thermogenesis, alleviates local adipose tissue hypoxia, and shifts the local inflammatory phenotype toward an M2-like state, thereby reducing inflammation in brown adipose tissue and improving its thermogenic capacity.

**Key words** obesity; brown adipose tissue;  $\alpha 7$ nAChR; thermogenesis; inflammatory response; uncoupling protein

1

**Fund programs** National Natural Science Foundation of China (Nos. 81874449,82274481); Shandong Provincial Natural Science Foundation (No. ZR2022LZY004)

肥胖是一种由遗传、环境、心理及社会等多种因素共同作用导致的慢性代谢性疾病，是多种慢性疾病的重要危险因素<sup>[1]</sup>。在哺乳动物中，根据形态结构和功能差异，脂肪组织通常分为白色脂肪组织、棕色脂肪组织（brown adipose tissue, BAT）和米色脂肪组织 3 种类型<sup>[2]</sup>。其中，BAT 因细胞内富含线粒体并特异性表达解偶联蛋白 1（uncoupling protein-1,UCP1）而具备产热功能，在能量代谢平衡中发挥关键作用<sup>[3]</sup>。研究<sup>[4-5]</sup>显示，脂肪组织缺氧和慢性炎症是肥胖状态下棕色脂肪产热功能减弱的重要原因。虽然  $\beta_3$  肾上腺素受体激动剂类药物可以通过激活交感神经系统促进 BAT 产热，增加能量消耗，但促进脂肪组织产热过程中可能同时诱发炎症反应并扰乱脂质代谢稳态<sup>[6-7]</sup>。

$\alpha_7$  烟碱型乙酰胆碱受体( $\alpha_7$ nicotinic acetylcholine receptor,  $\alpha_7$ nAChR)作为迷走神经抗炎通路的重要组成部分，在调控促炎性细胞因子[如肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ ,TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(interleukin ,IL-1 $\beta$ )]的释放中起关键作用<sup>[8]</sup>。肥胖状态下  $\alpha_7$ nAChR 表达下调<sup>[9]</sup>。激活  $\alpha_7$ nAChR 可以促进动脉粥样硬化模型中 M2 型巨噬细胞极化并抑制 M1 型巨噬细胞活化<sup>[9]</sup>，同时还能增强血管内皮细胞的增殖能力，从而提高组织中毛细血管密度<sup>[10]</sup>。目前尚不清楚激活  $\alpha_7$ nAChR 是否通过调节 BAT 免疫炎症微环境、并与 M1 样/M2 样相关表型特征变化相关，从而影响 BAT 的产热作用机制。该研究旨在探讨在肾上腺素受体诱导产热的背景下，激活  $\alpha_7$ nAChR 对 BAT 局部免疫炎症表型及相关信号通路的调控作用，为提升产热效应的临床转化与肥胖干预提供潜在靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

本研究采用 50 只雄性 C57BL/6J 小鼠，8 周龄，初始体质量 18~22 g，由北京维通利华实验动物技术有限公司提供，许可证编号：SCXK(京)2016-0006。小鼠饲养于山东中医药大学 SPF 级屏障环境中，环境实行独立送风、温湿度可控及 12 h 明暗交替光照，所有小鼠均自由获取饲料及饮水。实验所用高脂饲料（脂肪占比 60%，总热量 5.24 kcal/g）及普通对照饲料均购于济南朋悦实验动物繁育有限公司。实验经山东中医药大学附属医院动物伦理委员会批准（批准号：2020-10）。

### 1.2 实验材料

$\beta_3$  肾上腺素受体激动剂 CL316,243 和  $\alpha_7$ nAChR 选择性激动剂 GTS-21(货号：HY-116771A 、HY-145 64A，美国 MedChemExpres 公司)； $\alpha_7$ nAChR 选择性拮抗剂  $\alpha$ -银环蛇毒素( $\alpha$ -bungarotoxin, $\alpha$ -BGT)（货号：B6950，美国 ApeXbio 公司)；UCP1(用于免疫组化)、CD31 和 CD206 抗体（货号：GB112174、GB11063-1 、GB115273，武汉赛维尔生物科技有限公司）；环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)、去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)、TNF- $\alpha$ 、转化生长因子  $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ ,TGF- $\beta$ )、IL-1 $\beta$ 、

IL-10 的 ELISA 试剂盒（货号：JL13362、JL13969、JL10484、JL12223、JL18442、JL20242，上海江莱生物科技有限公司）； $\beta$ -actin（货号：60008-1-Ig，武汉三鹰生物技术有限公司）； $\alpha$ 7nAChR、核因子  $\kappa$ B p65(nuclear factor- $\kappa$ B p65, NF- $\kappa$ B p65) 抗体（货号：A1588、A2547，武汉爱博泰克生物科技有限公司）；UCP1(用于 Western blot)、信号转导及转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT 3)、磷酸化 STAT3 (phosphorylated STAT3, p-STAT3)、Janus 激酶 2(Janus kinase 2, JAK2)、磷酸化 JAK2(phosphorylated JAK2, p-JAK2)、CD86 抗体（货号：ab234430、ab68153、ab267373、ab108596、ab32101、ab220188，英国 Abcam 公司）。

## 1.3 方法

### 1.3.1 动物造模及干预方式

50 只小鼠适应性饲养 1 周，随机分为低脂饮食组（Control 组）、高脂饮食组（HFD 组）、高脂饮食+ $\beta$ 3 受体激动剂组（HFD+ $\beta$ 3 组）、高脂饮食+ $\beta$ 3 受体激动剂+ $\alpha$ 7nAChR 选择性激动剂组（HFD+ $\beta$ 3+GTS-21 组）、高脂饮食+ $\beta$ 3 受体激动剂+ $\alpha$ 7nAChR 选择性抑制剂组（HFD+ $\beta$ 3+ $\alpha$ -BGT 组），每周记录 1 次小鼠体质量。持续喂养 12 周后，以高脂饲料组平均体质量超过低脂饮食组 20%作为肥胖模型建立成功的标准<sup>[11]</sup>。

在成功建立肥胖模型后，对 HFD+ $\beta$ 3 组、HFD+ $\beta$ 3+GTS-21 组和 HFD+ $\beta$ 3+ $\alpha$ -BGT 组小鼠均进行  $\beta$ 3 受体激动剂 CL316243 皮下注射（剂量 0.1 mg/kg,每日 1 次），持续 2 周<sup>[12]</sup>。期间，激动剂组给予  $\alpha$ 7nAChR 选择性激动剂 GTS-21 腹腔注射（剂量 4 mg/kg,每日 1 次）<sup>[13]</sup>，抑制剂组给予  $\alpha$ 7nAChR 选择性抑制剂  $\alpha$ -BGT 腹腔注射（剂量 1  $\mu$ g/kg，每日 1 次）<sup>[14]</sup>，干预 2 周后处死各组小鼠，采集样本分析。

### 1.3.2 动物处死及标本获取

小鼠末次给药结束后禁食 10 h，称量体质量。采用 4%戊巴比妥钠按 40 mg/kg 剂量腹腔注射麻醉小鼠。经眼眶内眦静脉丛采血约 0.8 mL，室温放置 30 min，4  $^{\circ}$ C、3 000 r/min 离心 15 min。分离血清并于-80  $^{\circ}$ C 冻存，用于后续检测。留取小鼠肩胛间区 BAT，用于后续实验检测。

### 1.3.3 苏木精-伊红（hematoxylin-eosin, HE）染色

部分 BAT 经 4%多聚甲醛充分固定，常规石蜡包埋并制备切片（厚度 5  $\mu$ m）。切片经二甲苯脱蜡及系列浓度乙醇水化后，行 HE 染色，流水冲洗多余染液，再经梯度乙醇水化、二甲苯透明，最后以中性树脂封片，于光学显微镜下进行组织形态学观察并图像采集。

### 1.3.4 透射电镜

另取肩胛区 BAT，置于 2.5%戊二醛与 4%多聚甲醛（溶于 0.1 mol/L 卡可地酸盐缓冲液，pH 7.4）中 4 °C 固定过夜，再经 1%四氧化钬后固定，经常规脱水、树脂包埋、超薄切片及染色后，于电镜下观察线粒体与脂滴结构。

### 1.3.5 ELISA 实验

取适量 BAT 制备匀浆，按 ELISA 试剂盒说明书进行操作，使用酶标仪读取吸光度。

### 1.3.6 RT-qPCR 实验

提取脂肪总 RNA，反转录为 cDNA，通过  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法进行基因表达定量分析，相关引物信息见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列

Tab. 1 RT-qPCR primer sequences

Name	Primer sequence (5'-3')
<i>UCPI</i>	F: GAAACACCTGCCTCTCTCGGAAAC
	R: GCATTCTGACCTTCACGACCTCTC
<i>PGC-1<math>\alpha</math></i>	F: CGATGACCCTCCTCACACCAAAC
	R: TTGCGACTGCGGTTGTGTATGG
<i>PRDM16</i>	F: CAGCAACCTCCAGCGTCACATC
	R: GCGAAGGTCTTGCCACAGTCAG
<i>NOS2</i>	F: ATCTTGAGCGAGTTGTGGATTGTC
	R: TAGGTGAGGGCTTGGCTGAGTG
<i>Arg1</i>	F: AGACAGCAGAGGAGGTGAAGAGTAC
	R: AAGGTAGTCAGTCCCTGGCTTATGG

### 1.3.7 Western blot 实验

使用裂解液处理 BAT，4 °C、11 200 r/min 离心 15 min，收集上清液并测定总蛋白浓度。制备 SDS-PAGE 凝胶，蛋白电泳分离后转至 PVDF 膜，5%脱脂奶粉封闭后，依次孵育一抗和二抗。TBST 洗涤后使用 ECL 化学发光试剂显影并采集图像，通过 ImageJ 对条带进行定量。

### 1.3.8 免疫组化

石蜡切片经脱蜡水化后，置于 pH 6.0 抗原修复液中进行微波抗原修复，自然冷却后以 PBS 清洗。滴加 3% BSA 封闭液封闭后，一抗 4 °C 孵育过夜。PBS 清洗后加入 HRP 标记二抗，室温孵育 30 min，DAB 显色，苏木精复染，经脱水、透明后以中性树胶封片，显微镜下观察。

## 1.4 统计学处理

采用 SPSS 23.0 版统计软件进行数据处理。计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间两两比较采用独立样本  $t$  检验，多组间比较运用单因素 ANOVA，并采用 LSD 法进行事后检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组小鼠体质量变化比较

实验初始阶段，各组间小鼠体质量基线水平差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。12 周后，高脂饲料喂养的各组小鼠体质量超出 Control 组 20% 以上 ( $P < 0.01$ )，表示肥胖模型成功建立。在后续 2 周药物干预治疗期间，HFD+ $\beta 3$  组体质量与 HFD 组相比下降 ( $P < 0.01$ )；HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 组体质量较 HFD+ $\beta 3$  组降低 ( $P < 0.01$ )，且低于 HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT 组 ( $P < 0.01$ )。见图 1。

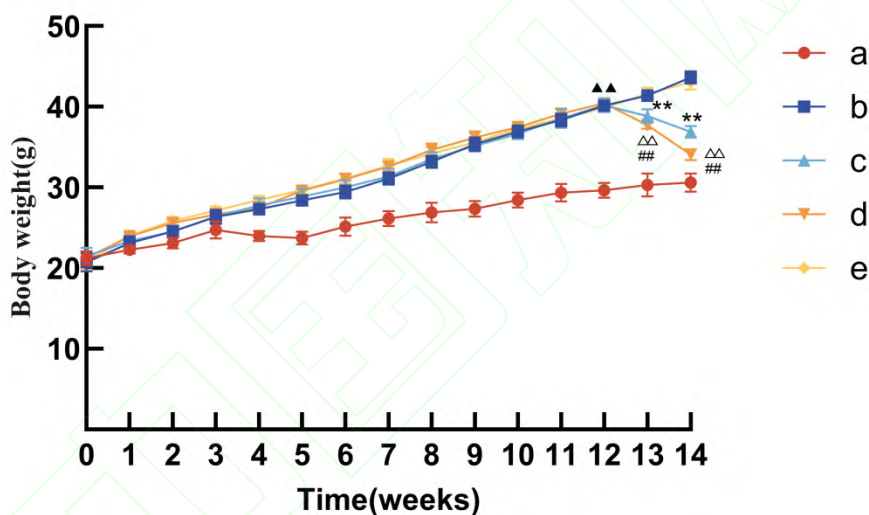


图 1 各组小鼠体质量变化

Fig. 1 Changes in body weight among groups of mice

注：a: Control group; b: HFD group; c: HFD+ $\beta 3$  group; d: HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 group; e: HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT group; ▲▲ $P < 0.01$  vs Control group; \*\* $P < 0.01$  vs HFD group; △△ $P < 0.01$  vs HFD+ $\beta 3$  group; ## $P < 0.01$  vs HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT group.

### 2.2 各组小鼠 BAT 变化比较

HE 染色结果显示，与 Control 组相比，HFD 组和 HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT 组 BAT 细胞数量减少，平均脂滴面积增加。与 HFD 组相比，HFD+ $\beta 3$  组脂滴面积有所减小。HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 组脂滴面积较 HFD+ $\beta 3$  组进一步减小。而 HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT 组脂滴面积则大于 HFD+ $\beta 3$  组和 HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 组。见图 2A。

透射电镜观察发现，HFD 组 BAT 细胞脂滴增大，线粒体数量减少，产热功能减弱。HFD+β3 组与 HFD 组相比较，脂滴减小，线粒体数量增加。HFD+β3+GTS-21 组较 HFD+β3 组线粒体数量进一步增多，脂滴体积减小，产热功能增强。而 HFD+β3+α-BGT 组则表现出脂滴显著增大和线粒体减少，显著削弱 β3 受体激动剂的效应。见图 2B。

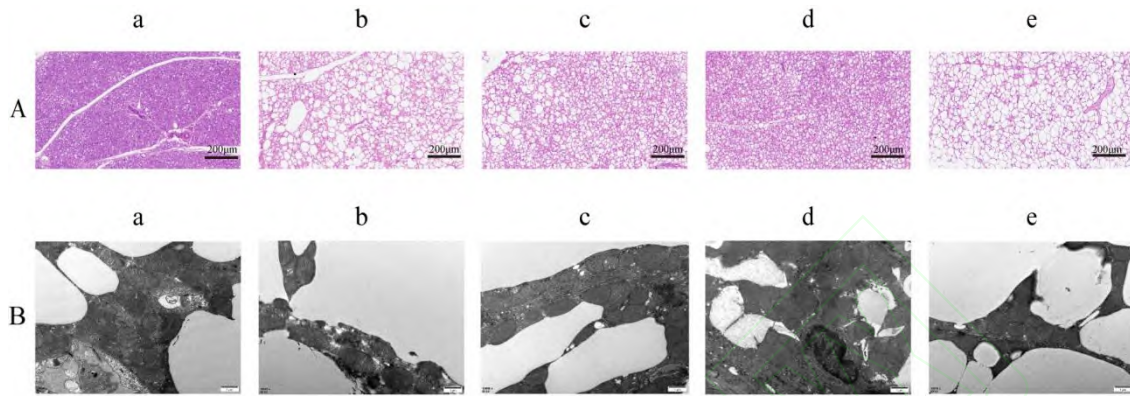


图 2 各组小鼠 BAT 的 HE 染色和透射电镜

Fig. 2 HE staining and transmission electron microscopy images of brown adipose tissue in each group of mice and

注：A: Brown adipose tissue HE staining  $\times 200$ ; B: Transmission electron microscopy images of brown adipose tissue  $\times 15\,000$ ; a: Control group; b: HFD group; c: HFD+β3 group; d: HFD+β3+GTS-21 group; e: HFD+β3+α-BGT group.

### 2.3 各组小鼠 BAT 产热能力比较

与 Control 组相比，HFD 组 BAT 中 cAMP、NE 含量及 *UCP1*、*PGC-1α*、*PRDM-16* 表达下调 ( $P < 0.01$ )。与 HFD 组相比，HFD+β3 组 BAT 中 cAMP、NE 含量及 *UCP1*、*PGC-1α*、*PRDM-16* 表达升高 ( $P < 0.01$ )。与 HFD+β3 组相比，HFD+β3+GTS-21 组 BAT 中 cAMP、NE 含量及 *UCP1*、*PGC-1α*、*PRDM-16* 表达升高 ( $P < 0.01$ )。而与 HFD+β3+GTS-21 组相比，HFD+β3+α-BGT 组 NE 含量及 *UCP1*、*PGC-1α*、*PRDM-16* 表达下降 ( $P < 0.01$ )，cAMP 略降低但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 3。

免疫组化分析显示，与 Control 组相比，HFD 组小鼠的 UCP1 蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ )。在 β3 激动剂干预下，UCP1 蛋白表达较 HFD 组上调 ( $P < 0.01$ )。GTS-21 处理组 UCP1 水平较 HFD+β3 组升高 ( $P < 0.05$ )。相反，HFD+β3+α-BGT 组 UCP1 蛋白表达则低于 HFD+β3+GTS-21 组 ( $P < 0.01$ )。见图 3F。

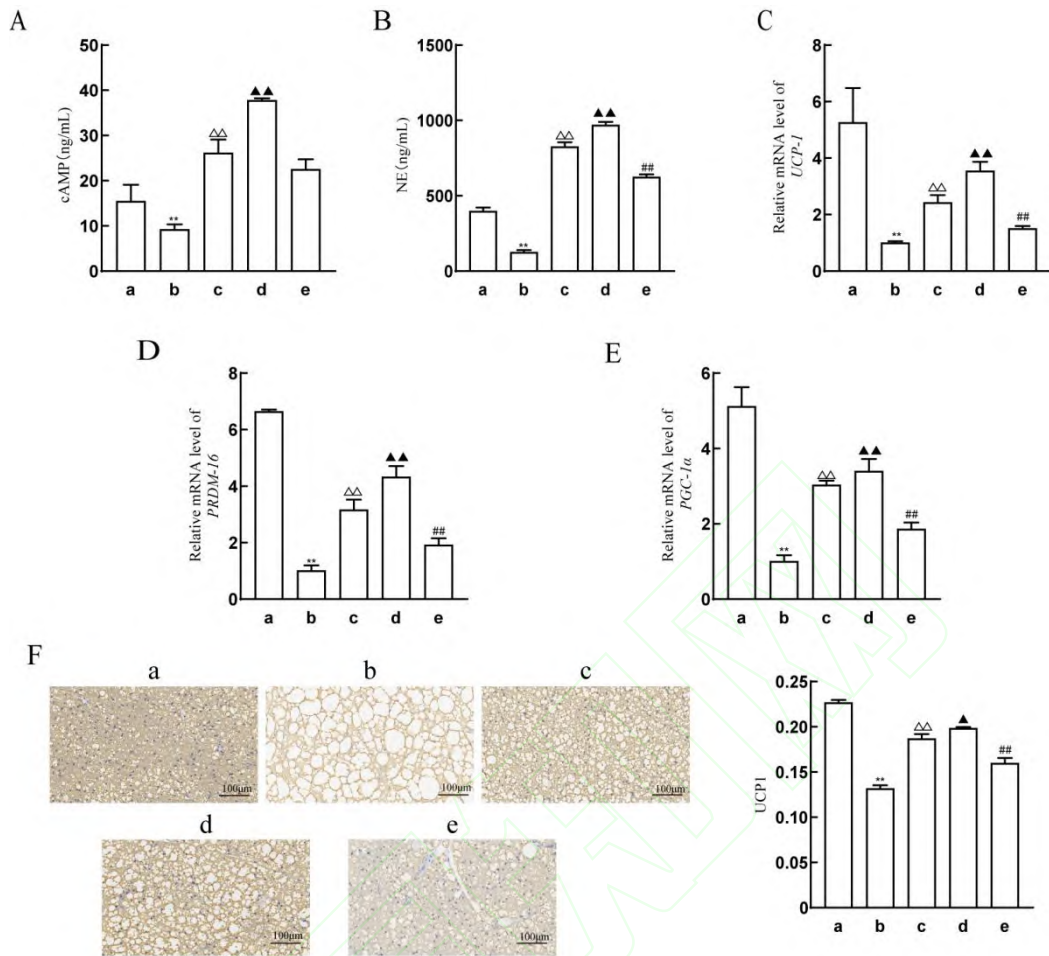


图3 各组小鼠血清中 cAMP、NE 和 BAT 中 *UCP1*、*PRDM-16* 和 *PGC-1α* 的 mRNA 表达水平以及 *UCP1* 蛋白表达水平

Fig. 3 Serum cAMP and NE levels, alongside mRNA expression levels of *UCP1*, *PRDM-16*, and *PGC-1α* in brown adipose tissue, and *UCP1* protein expression levels in each group of mice

注：A,B: Serum cAMP and NE expression levels; C-E: mRNA expression levels of *UCP1*, *PRDM16* and *PGC-1α* in brown adipose tissue; F: *UCP1* expression level in brown adipose tissue  $\times 200$ ; a: Control group; b: HFD group; c: HFD+ $\beta 3$  group; d: HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 group; e: HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT group; \*\* $P < 0.01$  vs Control group;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs HFD group;  $\blacktriangle P < 0.05$ ,  $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$  vs HFD+ $\beta 3$  group;  $\#\# P < 0.01$  vs HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 group.

## 2.4 各组小鼠 BAT 血管密度比较

免疫组化分析显示，HFD 组 CD31 表达低于 Control 组 ( $P < 0.01$ )。HFD+ $\beta 3$  组 CD31 较 HFD 组升高 ( $P < 0.01$ )。HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 组 CD31 较 HFD+ $\beta 3$  组升高 ( $P < 0.01$ )。HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT 组 CD31 表达低于 HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 组 ( $P < 0.01$ )。见图 4A、4B。

与 Control 组相比, HFD 组 BAT 中 *VEGF-A* mRNA 表达降低 ( $P<0.01$ )。HFD+ $\beta 3$  组与 HFD 组相比无明显差异改变 ( $P>0.05$ )。与 HFD+ $\beta 3$  组相比, HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 组 BAT 中 *VEGF-A* mRNA 升高 ( $P<0.01$ )。HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT 组 BAT 中 *VEGF-A* mRNA 低于 HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 组 ( $P<0.01$ )。见图 4C。

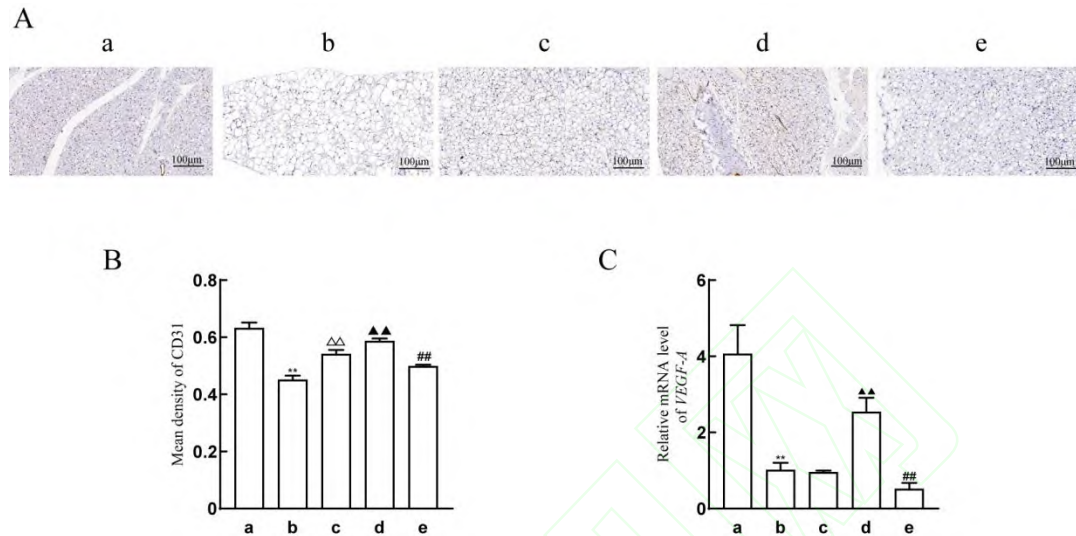


图 4 各组小鼠 BAT 中 *VEGF-A* mRNA 表达水平以及 CD31 表达水平

Fig. 4 Levels of *VEGF-A* mRNA expression and CD31 expression in brown adipose tissue in each group of mice

注: A: Immunohistochemical assessment of CD31 protein expression  $\times 200$ ; B,C: PCR analysis of *VEGF-A* and CD31 expression levels across groups; a: Control group; b: HFD group; c: HFD+ $\beta 3$  group; d: HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 group; e: HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT group; \*\* $P<0.01$  vs Control group;  $\Delta\Delta P<0.01$  vs HFD group;  $\blacktriangle\blacktriangle P<0.01$  vs HFD+ $\beta 3$  group; ## $P<0.01$  vs HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 group.

## 2.5 各组小鼠 BAT 炎症因子表达水平比较

与 Control 组相比, HFD 组小鼠 BAT 内 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  表达上调 (均  $P<0.01$ ), 而 TGF- $\beta$ 、IL-10 表达下调 (均  $P<0.01$ )。与 HFD 组相比, HFD+ $\beta 3$  组中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  进一步增高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), TGF- $\beta$ 、IL-10 表达则进一步降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。与 HFD+ $\beta 3$  组相比, HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 组 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平降低 ( $P<0.01$ ), TGF- $\beta$ 、IL-10 水平上升 ( $P<0.01$ )。而在 HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT 组中, 与 HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 组比较, TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  表达升高 ( $P<0.01$ ), TGF- $\beta$ 、IL-10 表达下降 ( $P<0.01$ )。见图 5。

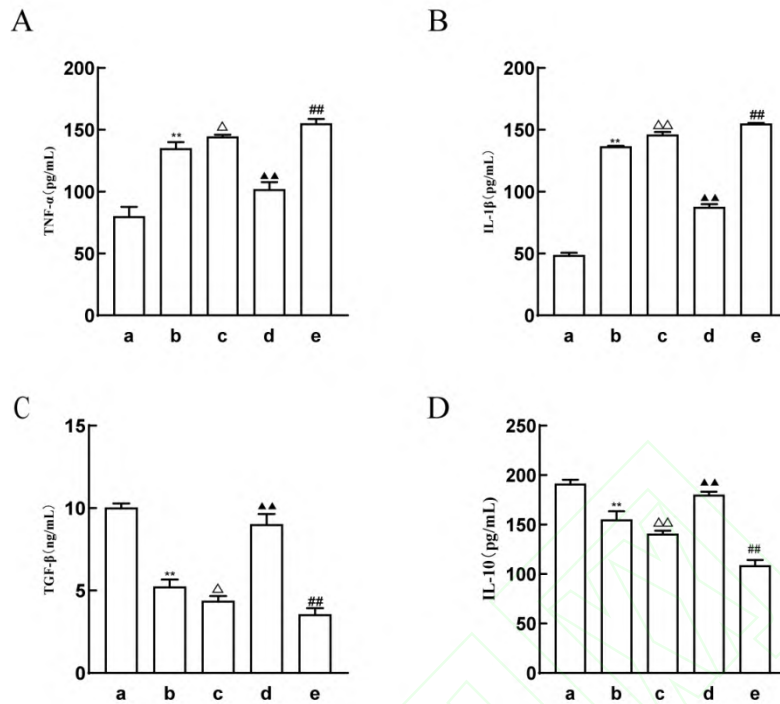


图 5 各组小鼠 BAT 中 TNF-α、IL-1β、TGF-β 和 IL-10 表达水平

Fig. 5 Expression levels of TNF-α, IL-1β, TGF-β and IL-10 in brown adipose tissue in each group of mice

注：A-D: Protein expression levels of TNF-α, IL-1β, TGF-β and IL-10 in groups; a: Control group; b: HFD group; c: HFD+β3 group; d: HFD+β3+GTS-21 group; e: HFD+β3+α-BGT group; \*\* $P < 0.01$  vs Control group; <sup>Δ</sup> $P < 0.05$ , <sup>ΔΔ</sup> $P < 0.01$  vs HFD group; <sup>▲▲</sup> $P < 0.01$  vs HFD+β3 group; <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs HFD+β3+α-BGT group.

## 2.6 各组小鼠 BAT 的 M1、M2 巨噬细胞标志物及表达水平比较

与 Control 组相比, HFD 组小鼠 BAT 中 *NOS2* mRNA 表达上调 ( $P < 0.01$ ), *Arg1* mRNA 表达下调 ( $P < 0.01$ )。与 HFD 组相比, HFD+β3 组 *NOS2* mRNA 进一步升高 ( $P < 0.01$ ), *Arg1* mRNA 虽略有下降, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与 HFD+β3 组比较, HFD+β3+GTS-21 组 *NOS2* mRNA 表达下调 ( $P < 0.01$ ), *Arg1* mRNA 表达上调 ( $P < 0.01$ )。与 HFD+β3+GTS-21 组比较, HFD+β3+α-BGT 组 *NOS2* mRNA 表达升高 ( $P < 0.01$ ), *Arg1* mRNA 下调 ( $P < 0.01$ )。见图 6A、6B。

免疫组化分析显示, 与 Control 组比较, HFD 组 BAT 中 M1 型巨噬细胞标志物 CD86 蛋白表达上调 ( $P < 0.01$ ), 而 M2 型标志物 CD206 蛋白表达下调 ( $P < 0.01$ )。在 HFD+β3 组中, CD86 蛋白表达较 HFD 组进一步升高 ( $P < 0.01$ ), CD206 蛋白表达则无显著改变 ( $P > 0.05$ )。与 HFD+β3 组比较,

HFD+β3+GTS-21 组 CD86 蛋白表达下降 ( $P<0.01$ ), CD206 蛋白表达升高 ( $P<0.01$ )。HFD+β3+α-BGT 组 CD86 蛋白表达较 HFD+β3+GTS-21 组升高 ( $P<0.01$ ), CD206 则降低 ( $P<0.01$ )。见图 6C。

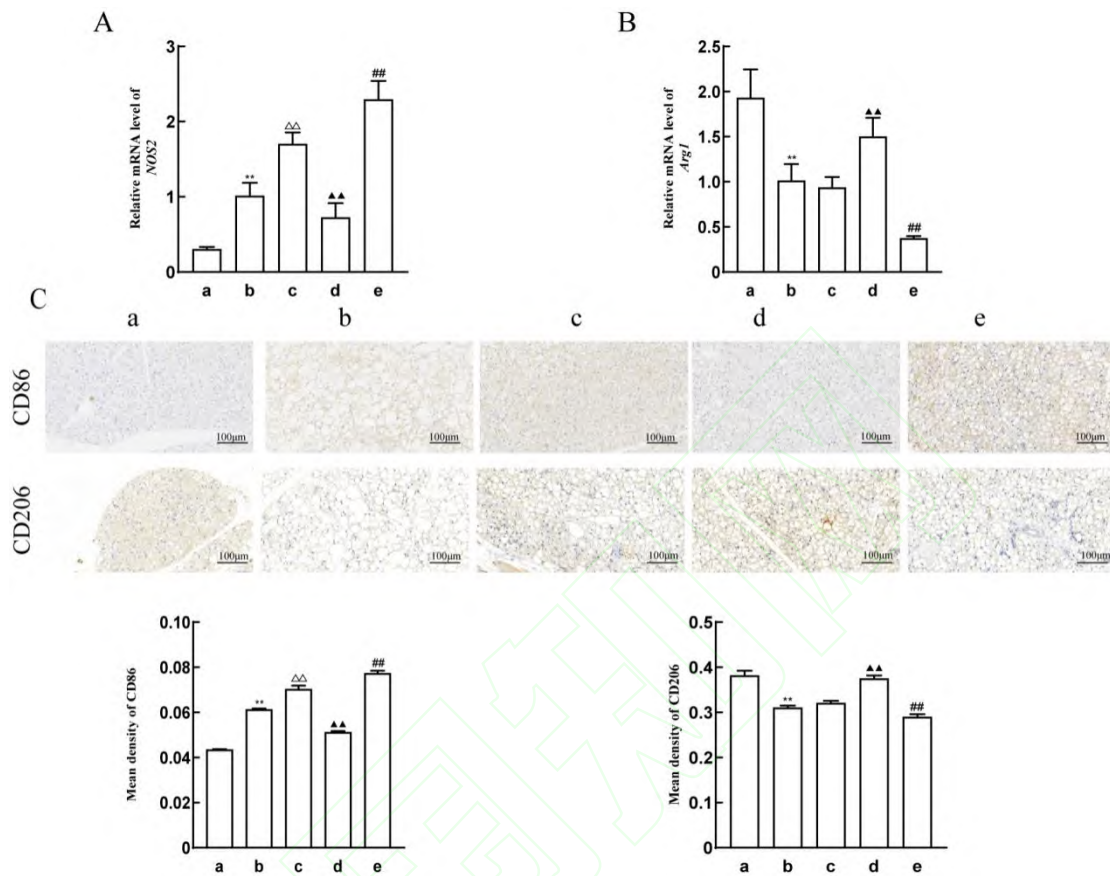


图 6 各组小鼠 BAT 中的 M1、M2 巨噬细胞标志物及 CD86、CD206 表达水平

Fig. 6 Expression levels of M1 and M2 macrophage markers and CD86, CD206 in brown adipose tissue in each group of mice

注: A,B: *NOS2* and *Arg1* mRNA expression levels; C: CD86 and CD206 expression levels  $\times 200$ ; a: Control group; b: HFD group; c: HFD+β3 group; d: HFD+β3+GTS-21 group; e: HFD+β3+α-BGT group; \*\* $P<0.01$  vs Control group; △△ $P<0.01$  vs HFD group; ▲▲ $P<0.01$  vs HFD+β3 group; ## $P<0.01$  vs HFD+β3+GTS-21 group.

## 2.7 各组小鼠 BAT 产热基因及其介导的抗炎通路表达水平比较

与 Control 组比较, HFD 组小鼠 BAT 中  $\alpha 7nAChR$  表达水平降低 ( $P<0.05$ ), NF-κB p65 表达水平上升 ( $P<0.05$ ), p-JAK2 和 p-STAT3 水平均降低 (均  $P<0.01$ ), UCP1 表达也减少 ( $P<0.01$ )。对比 HFD 组, HFD+β3 组  $\alpha 7nAChR$  表达进一步低 ( $P<0.05$ ), NF-κB p65 升高 ( $P<0.05$ ), p-JAK2 上升

( $P < 0.01$ ), p-STAT3 略有升高, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), UCP1 表达则增加 ( $P < 0.01$ )。对比 HFD+ $\beta 3$  组, HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 组  $\alpha 7nAChR$  表达上升 ( $P < 0.01$ ), NF- $\kappa B$  p65 降低 ( $P < 0.01$ ), p-JAK2 及 p-STAT3 均升高 (均  $P < 0.01$ ), UCP1 表达上升 ( $P < 0.05$ )。对比 HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 组, HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT 组  $\alpha 7nAChR$  表达下调 ( $P < 0.01$ ), NF- $\kappa B$  p65 升高 ( $P < 0.01$ ), p-STAT3 降低 ( $P < 0.05$ ), p-JAK2 略下降, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), UCP1 表达降低 ( $P < 0.01$ )。见图 7。

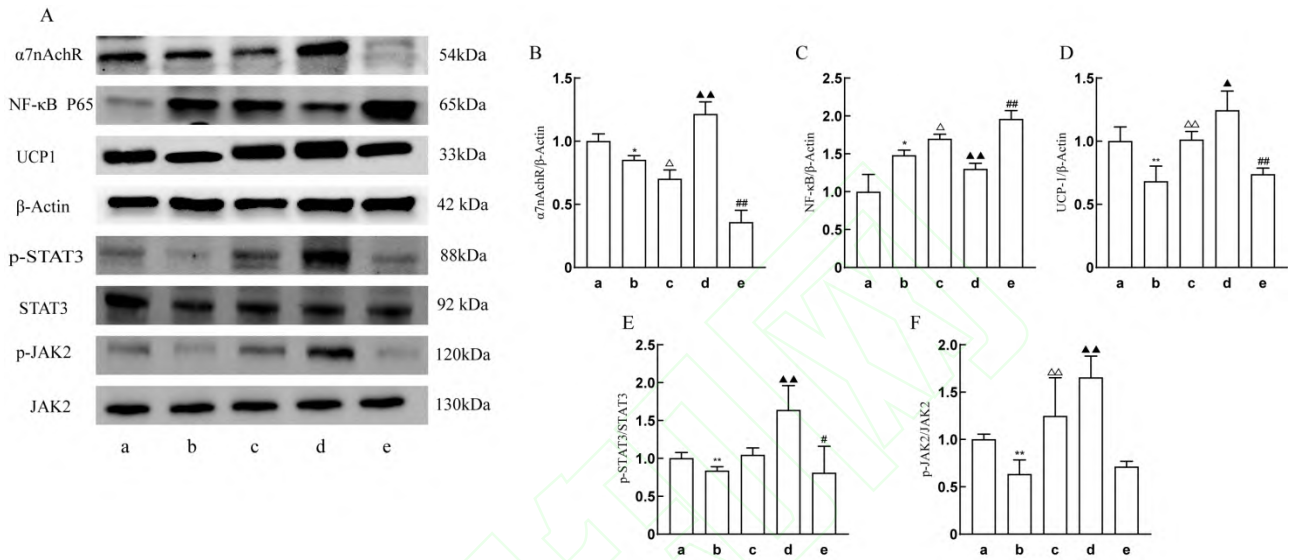


图 7 各组小鼠 BAT 中的  $\alpha 7nAChR$ 、NF- $\kappa B$ p65、UCP1、p-STAT3 和 p-JAK2 表达水平

Fig. 7 Expression levels of  $\alpha 7nAChR$ , NF- $\kappa B$ p65, UCP1, p-STAT3 and p-JAK2 in brown adipose tissue in each group of mice

注: A: Western blot analysis of  $\alpha 7nAChR$ , NF- $\kappa B$ p65, UCP1, p-STAT3 and p-JAK2 expression levels in each group; B-F: Quantitative analysis of  $\alpha 7nAChR$ , NF- $\kappa B$ p65, UCP1, p-STAT3 and p-JAK2; a: Control group; b: HFD group; c: HFD+ $\beta 3$  group; d: HFD+ $\beta 3$ +GTS-21 group; e: HFD+ $\beta 3$ + $\alpha$ -BGT group; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs Control group;  $^{\Delta}P < 0.05$ ,  $^{\Delta\Delta}P < 0.01$  vs HFD group;  $^{\blacktriangle}P < 0.05$ ,  $^{\blacktriangle\blacktriangle}P < 0.01$  vs HFD+ $\beta 3$  group;  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{\#\#}P < 0.01$  vs HFD+ $\beta 3$  +GTS-21 group.

### 3 讨论

BAT 细胞在机体能量代谢中发挥重要作用, 能够高效氧化葡萄糖、脂质及支链氨基酸, 有助于调节体质量并降低心脏代谢疾病风险。肥胖状态下 BAT 产热效能显著下降, 表现为线粒体数量减少、UCP1 表达下降及氧化能力降低等“白色化”特征<sup>[15-16]</sup>。既往研究<sup>[17]</sup>表明, 在高脂饮食诱导的肥胖小鼠模型中, BAT 的 VEGF-A 表达水平下降、毛细血管支配密度降低, 进而导致局部缺氧微环境的形成<sup>[18]</sup>, 从而推动 BAT 细胞向白色脂肪样表型转变并降低产热能力。同时, 缺氧与脂质过载可诱导巨噬细胞大量浸润并向

M1 型极化<sup>[19]</sup>，加剧局部炎症反应，进一步抑制 BAT 代谢与产热功能<sup>[20]</sup>。因此，在肥胖相关的血管化不足与相对缺氧、以及炎症与免疫细胞浸润共同作用的背景下<sup>[21-22]</sup>，刺激交感神经虽然可以上调产热相关基因表达，但其产热效能可能受缺氧与炎症状态的限制。 $\alpha 7nAChR$  作为胆碱能抗炎通路的重要受体，相关研究表明其参与巨噬细胞炎症反应调控<sup>[23]</sup>，据此推测， $\alpha 7nAChR$  可能通过调控 BAT 局部免疫炎症表型，从而影响交感神经刺激条件下产热效能的发挥。

本研究在肥胖小鼠模型上应用  $\beta 3$  受体激动剂诱导 BAT 产热，结果显示 *PRDM16*、*PGC-1 $\alpha$*  和 *UCP1* 等产热相关基因表达上调，提示  $\beta 3$  受体激活能够启动产热相关转录程序。但同时 M1 型巨噬细胞标志基因 *NOS2* mRNA 及其促炎因子水平亦升高，这表明在肥胖状态下  $\beta 3$  受体介导的产热激活伴随炎症表型增强。该现象与课题组前期研究<sup>[24]</sup>结论一致，且前期研究已证实肥胖状态下仅增强产热相关信号可出现促炎表型上升，从而限制产热效应。在此基础上，本研究进一步比较了  $\beta 3$  受体激活条件下调控  $\alpha 7nAChR$  对 BAT 表型的影响。与高脂+ $\beta 3$  受体激动剂组相比，联合  $\alpha 7nAChR$  激动剂后体质量进一步下降，电镜下脂滴体积缩小、线粒体数量增加；*NOS2* 及促炎因子下降、*Arg1* 及相关指标上升，提示 BAT 局部炎症状态得到缓解，并伴随免疫炎症表型由“促炎”向“抗炎”表型转变；p-JAK2、p-STAT3 表达升高、NF- $\kappa$ B p65 降低，结合 *NOS2* 表达下降与 *Arg1* 表达上升，提示在  $\beta 3$  受体诱导 BAT 产热的背景下，激活  $\alpha 7nAChR$  通过增强 JAK2-STAT3 信号并抑制 NF- $\kappa$ B p65 相关炎症反应，抑制炎症通路激活，进一步减轻炎症程度。同时 *VEGF-A* mRNA 及 CD31 表达的增加反映血管相关表型改善，从而优化 BAT 局部微环境并提高产热效能。而加入  $\alpha 7nAChR$  抑制剂后，电镜下脂滴增大、线粒体减少，*NOS2* 及促炎因子升高而 *Arg1* 相关指标降低，上述变化进一步支持  $\alpha 7nAChR$  在  $\beta 3$  诱导产热条件下参与 BAT 炎症表型调控及血管化相关改变。综上， $\alpha 7nAChR$  激活与炎症信号调控及血管化改善相关，并通过共同影响 BAT 局部微环境而有助于产热效能提升。

与既往主要聚焦  $\alpha 7nAChR$  系统性抗炎作用不同，本研究在肥胖状态下、以  $\beta 3$  受体激活刺激产热为背景，进一步提示  $\alpha 7nAChR$  可通过调控 BAT 局部炎症表型并伴随血管相关表型改善，从而提升实际产热效能。然而，本研究仍存在一定局限性。首先， $\alpha 7nAChR$  激动剂/抑制剂虽为常用药理工具，但在体内可能存在一定非特异性作用，后续研究可结合更具特异性的干预模型。其次，本研究未纳入 F4/80 或 CD68 等巨噬细胞谱系标记及与 CD86/CD206 的双标共定位验证，后续研究中将采用免疫荧光双染等策略进一步验证。

综上所述，在  $\beta 3$  受体诱导产热的背景下，激活  $\alpha 7nAChR$  与 BAT 产热表型改善相一致，并提示其可通过调控与炎症反应相关的信号通路，使局部炎症相关表型向抗炎方向偏移，同时伴随血管化相关表型改善，从而改善肥胖状态下棕色脂肪的产热效能与干预潜力。

## 参考文献

- [1] Busebee B, Ghush W, Cifuentes L, et al. Obesity: a review of pathophysiology and classification[J]. *Mayo Clin Proc*, 2023, 98(12): 1842-57. doi:10.1016/j.mayocp.2023.05.026.
- [2] Harms M, Seale P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential[J]. *Nat Med*, 2013, 19(10): 1252-63. doi:10.1038/nm.3361.
- [3] Cheng L, Wang J, Dai H, et al. Brown and beige adipose tissue: a novel therapeutic strategy for obesity and type 2 diabetes mellitus[J]. *Adipocyte*, 2021, 10(1): 48-65. doi:10.1080/21623945.2020.1870060.
- [4] Caca J, Bartelt A, Egea V. Hypoxia regulates brown adipocyte differentiation and stimulates miR-210 by HIF-1 $\alpha$  [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 26(1): 117. doi:10.3390/ijms26010117.
- [5] Pellegrinelli V, Figueroa-Juárez E, Samuelson I, et al. Defective extracellular matrix remodeling in brown adipose tissue is associated with fibro-inflammation and reduced diet-induced thermogenesis[J]. *Cell Rep*, 2023, 42(6): 112640. doi:10.1016/j.celrep.2023.112640.
- [6] Li L, Ma L, Zhao Z, et al. IL-25-induced shifts in macrophage polarization promote development of beige fat and improve metabolic homeostasis in mice[J]. *PLoS Biol*, 2021, 19(8): e3001348. doi:10.1371/journal.pbio.3001348.
- [7] 马度芳, 姜萍, 王永成, 等. 肾上腺素能系统介导的棕色/米色脂肪产热在治疗肥胖中的应用局限性[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2017, 33(7): 625-8. doi:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2017.07.018.
- [7] Ma D F, Jiang P, Wang Y C, et al. Application limitations of sympathetic nerve-mediated thermogenesis of brown/beige adipose tissue in the treatment of obesity[J]. *Chin J Endocrinol Metab*, 2017, 33(7): 625-8. doi:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2017.07.018.
- [8] Zouali M. Pharmacological and electroceutical targeting of the cholinergic anti-inflammatory pathway in autoimmune diseases[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, 16(8): 1089. doi:10.3390/ph16081089.

- [9] Roa-Vidal N, Rodríguez-Aponte A S, Lasalde-Dominicci J A, et al. Cholinergic polarization of human macrophages[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(21): 15732. doi:10.3390/ijms242115732.
- [10] Youssef M E, El-Mas M M, Abdelrazek H M, et al.  $\alpha$  7-nAChRs-mediated therapeutic angiogenesis accounts for the advantageous effect of low nicotine doses against myocardial infarction in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 898: 173996. doi:10.1016/j.ejphar.2021.173996.
- [11] Buettner R, Scholmerich J, Bollheimer L C. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents[J]. *Obes Res*, 2007, 15(4): 798-808.
- [12] Shin W, Okamatsu-Ogura Y, Machida K, et al. Impaired adrenergic agonist-dependent beige adipocyte induction in aged mice[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2017, 25(2): 417-23. doi:10.1002/oby.21727.
- [13] Al-Sharea A, Lee M K S, Whillas A, et al. Nicotinic acetylcholine receptor alpha 7 stimulation dampens splenic myelopoiesis and inhibits atherogenesis in *Apoe<sup>-/-</sup>* mice[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 265: 47-53. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2017.08.010.
- [14] Liu Z, Wang Y, Wang Y, et al. Dexmedetomidine attenuates inflammatory reaction in the lung tissues of septic mice by activating cholinergic anti-inflammatory pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 35: 210-6. doi:10.1016/j.intimp.2016.04.003.
- [15] Becher T, Palanisamy S, Kramer D J, et al. Brown adipose tissue is associated with cardiometabolic health[J]. *Nat Med*, 2021, 27(1): 58-65. doi:10.1038/s41591-020-1126-7.
- [16] Della Guardia L, Shin A C. Obesity-induced tissue alterations resist weight loss: a mechanistic review[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2024, 26(8): 3045-57. doi:10.1111/dom.15637.
- [17] Zhou Q, Lu Z, Wang B, et al. Endothelial SIRT3 deficiency predisposes brown adipose tissue to whitening in diet-induced obesity[J]. *Int J Biol Sci*, 2025, 21(8): 3444-60. doi:10.7150/ijbs.110741.
- [18] AlZaim I, de Rooij L P M H, Sheikh B N, et al. The evolving functions of the vasculature in regulating adipose tissue biology in health and obesity[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2023, 19(12): 691-707. doi:10.1038/s41574-023-00893-6.
- [19] Chavakis T, Alexaki V I, Ferrante A W Jr. Macrophage function in adipose tissue homeostasis and metabolic inflammation[J]. *Nat Immunol*, 2023, 24(5): 757-66. doi:10.1038/s41590-023-01479-0.

- [20] Pan D, Li G, Jiang C, et al. Regulatory mechanisms of macrophage polarization in adipose tissue[J/OL]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1149366. doi:10.3389/fimmu.2023.1149366.
- [21] Huynh P M, Wang F, An Y A. Hypoxia signaling in the adipose tissue[J]. *J Mol Cell Biol*, 2025, 16(8): mjae039. doi:10.1093/jmcb/mjae039.
- [22] 蒋皓冉, 唐晓飞, 吴界霖, 等.  $\beta$ -石竹烯通过上调 PPAR  $\gamma$  /PGC-1  $\alpha$  /UCP1 通路促进肥胖小鼠白色脂肪棕色化作用 [J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(9): 1591-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.09.014
- [22] Jiang H R, Tang X F, Wu J L, et al.  $\beta$ -caryophyllene promotes white fat browning in obese mice through up-regulation of the PPAR  $\gamma$  /PGC-1  $\alpha$  /UCP1 pathway[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2024, 59(9): 1591-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.09.014
- [23] Keever K R, Cui K, Casteel J L, et al. Cholinergic signaling *via* the  $\alpha$  7 nicotinic acetylcholine receptor regulates the migration of monocyte-derived macrophages during acute inflammation[J]. *J Neuroinflammation*, 2024, 21(1): 3. doi:10.1186/s12974-023-03001-7.
- [24] 吕穆杰, 田子芳, 王苏童, 等. 黄芪桂枝五物汤对肥胖小鼠棕色脂肪组织产热的优化作用[J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(6): 2838-42.
- [24] Lü M J, Tian Z F, Wang S T, et al. Optimization of Huangqi Guizhi Wuwu Decoction on thermogenesis of brown adipose tissue in obese mice[J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2023, 38(6): 2838-42.