

· 基础研究 ·

## A1类清道夫受体通过促进M2型巨噬细胞极化增加脂肪组织产热能力

张天天, 李金杰, 柏雪雅, 柏惠, 陈琪, 朱旭冬\*

江苏省心血管病靶向干预研究重点实验室, 南京医科大学基础医学院病理生理学系, 江苏 南京 211166

**[摘要]** **目的:**探讨A1类清道夫受体(macrophage scavenger receptor 1, MSR1)在低温刺激诱导白色脂肪产热进程中的作用及其机制。**方法:**正常饮食(common diet, CD)的野生型小鼠(MSR1<sup>+/+</sup>)和MSR1缺失表达小鼠(MSR1<sup>-/-</sup>)分别给予低温刺激1 d或者14 d后,通过qRT-PCR、Western blot和免疫组织化学染色检测皮下白色脂肪组织(subcutaneous white adipose tissue, scWAT)和棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)中脂肪产热能力标志物(UCP1、Cidea和Cox8b)的表达。qRT-PCR和流式细胞术检测正常饮食的MSR1<sup>+/+</sup>和MSR1<sup>-/-</sup>小鼠给予低温刺激14 d后,小鼠scWAT中巨噬细胞极化情况。建立高脂饮食(high fat diet, HFD)诱导的小鼠肥胖模型,监测CD和HFD 12周的MSR1<sup>+/+</sup>和MSR1<sup>-/-</sup>小鼠体重变化,并使用代谢笼监测小鼠耗氧量和产热量变化;qRT-PCR和免疫组织化学染色检测HFD 12周的小鼠给予低温刺激7 d后,小鼠scWAT和BAT中产热基因表达。体外实验应用巨噬细胞条件培养基刺激小鼠前脂肪细胞分化,待分化成熟后应用qRT-PCR检测产热基因表达。**结果:**慢性低温刺激下,与MSR1<sup>+/+</sup>小鼠相比,MSR1<sup>-/-</sup>小鼠脂肪组织产热基因表达明显降低。进一步,MSR1<sup>-/-</sup>小鼠scWAT中M2型巨噬细胞数量明显减少。HFD喂养12周后,MSR1<sup>-/-</sup>小鼠体重增加更为明显,并且耗氧量和产热量明显降低。低温刺激下,与MSR1<sup>+/+</sup> HFD小鼠相比,MSR1<sup>-/-</sup> HFD小鼠脂肪产热能力明显降低。体外细胞研究发现,与MSR1<sup>+/+</sup>小鼠腹腔巨噬细胞条件培养基诱导的成熟脂肪细胞相比,MSR1<sup>-/-</sup>小鼠腹腔巨噬细胞条件培养基诱导的成熟脂肪细胞产热基因表达明显降低。**结论:**低温刺激下,MSR1通过增加M2型巨噬细胞极化促进小鼠脂肪组织产热。

**[关键词]** A1类清道夫受体;低温刺激;脂肪产热;巨噬细胞M2型极化

**[中图分类号]** R329.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2023)10-1333-09

**doi:**10.7655/NYDXBNS20231001

## MSR1 increases the thermogenic capacity of adipose tissue by promoting the polarization of M2 macrophages

ZHANG Tiantian, LI Jingjie, BAI Xueya, BAI Hui, CHEN Qi, ZHU Xudong\*

Key Laboratory of Targeted Intervention of Cardiovascular Disease, Department of Pathophysiology, School of Basic Medicine, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

**[Abstract]** **Objective:** This study aims to investigate the role and mechanism of macrophage scavenger receptor 1 (MSR1) in the process of white adipose thermogenesis induced by cold exposure. **Methods:** The expression of MSR1 and markers of the thermogenic capacity of adipose (UCP1, Cidea, Cox8b) in subcutaneous white adipose tissue (scWAT) and brown adipose tissue (BAT) of wild type mice (MSR1<sup>+/+</sup>) and MSR1 knockout mice (MSR1<sup>-/-</sup>) fed with common diet (CD) were detected by qRT-PCR, Western blot and immunohistochemistry after 1 or 14 days of cold exposure. The polarization of macrophages in scWAT of MSR1<sup>+/+</sup> and MSR1<sup>-/-</sup> mice fed with CD after 30 days of cold exposure were detected by qRT-PCR and flow cytometry. Obese mouse model was established by high fat diet (HFD), the weight changes were monitored in MSR1<sup>+/+</sup> and MSR1<sup>-/-</sup> mice fed with CD or HFD for 12 weeks, and the metabolic cage method was used to monitor the changes of O<sub>2</sub> consumption and heat production. The expression of thermogenic genes in scWAT and BAT of mice fed with HFD for 12 weeks were detected by qRT-PCR and immunohistochemistry after 7 days of cold exposure. *In vitro*, macrophage conditioned medium was used to stimulate the differentiation of mouse preadipocytes, and the expression of thermogenic

**[基金项目]** 国家自然科学基金(82170444);江苏省高等学校自然科学研究重大项目(20KJA310007)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: zhuxudong@njmu.edu.cn

genes of mature adipocytes were detected by qRT-PCR. **Results:** Compared with MSR1<sup>+/+</sup> mice, the expression of thermogenic genes in adipose tissue of MSR1<sup>-/-</sup> mice was significantly decreased. Further, the number of M2 macrophages in scWAT of MSR1<sup>-/-</sup> mice decreased significantly. After fed with HFD for 12 weeks, MSR1<sup>-/-</sup> mice had significantly higher weight, lower O<sub>2</sub> consumption and heat production. The thermogenic capacity of adipose tissue in MSR1<sup>-/-</sup> HFD mice was significantly reduced compared with MSR1<sup>+/+</sup> HFD mice after cold exposure. *In vitro* cell studies, compared with the mature adipocytes induced by peritoneal macrophage conditioned medium in MSR1<sup>+/+</sup> mice, the expression of thermogenic genes in mature adipocytes induced by peritoneal macrophage conditioned medium in MSR1<sup>-/-</sup> mice was significantly reduced. **Conclusion:** After cold exposure, MSR1 increases the thermogenic capacity of adipose tissue by promoting the polarization of M2 macrophages.

[Key words] macrophage scavenger receptor 1; cold exposure; adipose thermogenesis; macrophage M2 polarization

[J Nanjing Med Univ, 2023, 43(10): 1333-1341]

心血管疾病发病率和死亡率在世界范围内仍在逐年上升。肥胖、高血压和糖尿病等多种危险因素都与心血管疾病发生相关<sup>[1]</sup>。其中,肥胖可归因于能量摄入与消耗失衡,表现为过多脂质在脂肪组织的异常积聚,并伴随有大量免疫细胞浸润。肥胖可导致2型糖尿病、高血压、脑卒中和多种类型癌症(胃癌、肝癌、胆囊癌、卵巢癌等)的发生<sup>[2]</sup>。与主要负责能量存储的白色脂肪细胞不同,棕色脂肪细胞由于富含大量的线粒体,具备较强的产热能力<sup>[3]</sup>。近年的研究表明,白色脂肪细胞在特殊条件刺激下可以转化为具有产热能力的米色脂肪细胞<sup>[4]</sup>。米色脂肪细胞可能成为治疗糖尿病、慢性炎症和肥胖等代谢紊乱疾病的新型靶细胞<sup>[5]</sup>。

A1类清道夫受体(macrophage scavenger receptor 1, MSR1)是一类巨噬细胞表面的模式识别受体,可以介导巨噬细胞多种功能,包括脂质摄取、细胞凋亡、细胞趋化和极化分型等<sup>[6]</sup>。MSR1在动脉粥样硬化、心肌梗死和肥胖诱导的高血压等心血管疾病发生发展中发挥重要保护作用。已有研究表明,慢性低温刺激诱导下,皮下白色脂肪组织(subcutaneous white adipose tissue, scWAT)中的M2型巨噬细胞大量积聚,并促进脂肪细胞的活化和产热<sup>[7-8]</sup>。本课题组前期研究发现,MSR1可以促进肥胖小鼠附睾脂肪组织中巨噬细胞的M2型分化,发挥拮抗炎症的作用,提示MSR1也可能调控脂肪细胞的产热能力。因此,本研究拟探讨MSR1在低温刺激诱导脂肪产热进程中的作用及其机制,寻找新的肥胖相关性疾病干预靶点。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

C57BL/6背景的MSR1基因敲除小鼠(MSR1<sup>-/-</sup>)

购自美国Jackson动物研究中心。C57BL/6小鼠购自江苏省医药动物实验中心。

UCP1抗体(Abcam公司,英国);牛血清白蛋白、HEPES酸(Biosharp公司,美国);BCA Protein Assay Reagent Kit(Pierce公司,美国);Electrochemi Luminescence(ECL)(Amersham Biosciences公司,美国);免疫组化ABC染色试剂盒(Santa Cruz Biotechnology公司,美国);RNA提取试剂(TaKaRa公司,日本);实时荧光定量PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)试剂盒(Roche公司,美国);各种qRT-PCR引物序列由美国Invitrogen公司合成。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 实验动物模型及分组

选取8周龄正常饮食(common diet, CD)的雄性MSR1<sup>+/+</sup>小鼠作为野生型对照组,MSR1<sup>-/-</sup>小鼠作为敲除型实验组,分别将两种小鼠置于室温(25℃)或低温条件(6℃)下持续刺激1d或者14d,或给予两种小鼠连续12周的高脂饮食(high fat diet, HFD)后置于室温或低温条件下持续刺激7d(HFD喂养的肥胖小鼠因代谢紊乱,冷刺激14d后整体状态不佳,故采用冷刺激7d方案)。正常饮食实验模型分为4组:MSR1<sup>+/+</sup> 25℃组、MSR1<sup>-/-</sup> 25℃组、MSR1<sup>+/+</sup> 6℃组、MSR1<sup>-/-</sup> 6℃组;高脂饮食实验模型分为4组:MSR1<sup>+/+</sup> HFD 25℃组、MSR1<sup>-/-</sup> HFD 25℃组、MSR1<sup>+/+</sup> HFD 6℃组、MSR1<sup>-/-</sup> HFD 6℃组。所有实验操作均获得南京医科大学动物伦理委员会批准(IACUC-2009003)。

#### 1.2.2 MSR1<sup>-/-</sup>小鼠基因型鉴定

提取MSR1<sup>-/-</sup>小鼠鼠尾DNA,设定PCR反应体系扩增产物,配制3%琼脂糖凝胶,待胶凝固后上样,插上电极,DNA由负极向正极电泳,电压为200V。当条带电泳至胶2/3处时,观察DNA成像,

其中MSR1<sup>+/+</sup>为154 bp;MSR1<sup>-/-</sup>为202 bp。

### 1.2.3 小鼠巨噬细胞清除实验

给予野生型小鼠尾静脉注射氯膦酸盐脂质体(clodronate liposomes)或对照脂质体(PBS liposomes)(200 μL/只),用以清除巨噬细胞。

### 1.2.4 造模小鼠体重监测与代谢笼检测

每周检测对照组与实验组小鼠体重并做好记录。CD和HFD小鼠造模结束后,送至南京医科大学实验动物中心进行代谢笼检测,包括小鼠耗氧量、产热量。

### 1.2.5 小鼠造模标本收取与处理

造模结束后麻醉小鼠,进行眼球后静脉丛取血,并收取小鼠scWAT和棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT),经液氮速冻,置于-80℃保存,部分标本置于4%多聚甲醛溶液中进行固定。

### 1.2.6 冰冻组织免疫荧光染色

选取小鼠脂肪组织冰冻切片,室温放置30 min后,PBS清洗,10%牛血清封闭,加入巨噬细胞标志

物F4/80抗体(Abcam公司,英国)4℃孵育过夜。清洗,二抗室温避光孵育1~2 h,PBS清洗,封片,滴加1~2滴DAPI覆盖组织切片,盖上盖玻片,荧光显微镜下观察。

### 1.2.7 免疫组织化学染色

选取小鼠脂肪组织进行石蜡切片,将切片脱蜡至水,依次用3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>消除内源性过氧化物酶活性,10%牛血清封闭,加入UCP1抗体(Abcam公司,英国)4℃孵育过夜。清洗,生物素标记工作液室温避光孵育20 min,PBS清洗,碱性磷酸酶标记的工作液室温孵育20 min,PBS冲洗,显色剂显色15 min,充分清洗,复染,脱水,透明,封片,荧光显微镜下观察。

### 1.2.8 qRT-PCR实验

TRIzol法提取小鼠脂肪组织总RNA,测定RNA浓度,随后逆转录为cDNA。通过qRT-PCR扩增目的基因,指标18S作为内参,校正每个样本目的基因的Ct值,以2<sup>-ΔΔCt</sup>值表示基因的相对表达水平,引物序列见表1。

表1 qRT-PCR引物序列

Table 1 Primer sequences used in qRT-PCR

基因	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
UCP1	AGGCTTCCAGTACCATTAGGT	CTGAGTGAGGCAAAGCTGATTT
Cidea	TGCTCTTCTGTATCGCCAGT	GCCGTGTTAAGGAATCTGCTG
Cox8b	GAACCATGAAGCCAACGACT	GCGAAGTTCACAGTGGTTCC
Cd68	CTTCCCACAGGCAGCACAG	AATGATGAGAGGCAGCAAGAGG
Tnfa	ACGGCATGGATCTCAAAGAC	AGATAGCAAATCGGCTGACG
IL6	GTTCTCTGGGAAATCGTGGA	GGAAATTGGGGTAGGAAGGA
Mgl1	TGAGAAAGGCTTTAAGAAGCTGGG	GACCACCTGTAGTGATGTGGG
18S	CATTCGAACGTCTGCCCTATC	CCTGCTGCCTTCCTTGGA

### 1.2.9 Western blot实验

提取小鼠脂肪组织总蛋白,通过BCA法测定蛋白浓度,每个样品孔按40 μg蛋白总量上样,随后进行电泳、转膜、封闭、一抗4℃孵育过夜、二抗室温孵育2 h,最后进行显色成像。

### 1.2.10 流式细胞术检测小鼠脂肪组织中血管基质成分

收取小鼠scWAT置于1% FBS中,滤纸吸干,充分剪碎组织,移至离心管中。使用II型胶原酶消化60 min。200目筛网过滤至EP管,离心。加入1 mL红细胞裂解液,离心,PBS洗3遍。加入200 μL PBS重悬,加入相应抗体,室温避光孵育60 min,离心,PBS洗3遍。加入250 μL PBS重悬并上机检测。

### 1.2.11 小鼠原代白色前脂肪细胞分离并诱导分化

小鼠处死后75%乙醇浸泡,收取小鼠scWAT置

于预冷的PBS中。消化、过滤、种板。细胞生长完全融合后进行诱导分化。

### 1.2.12 小鼠原代腹腔巨噬细胞分离与培养

小鼠处死后75%乙醇浸泡,用注射器将含有100 μg/mL肝素的PBS注入小鼠腹腔中进行冲洗,将冲洗液吸取入针管内,注入离心管中。离心后弃上清,加入培养液重悬,放置在37℃培养箱中培养。

### 1.3 统计学方法

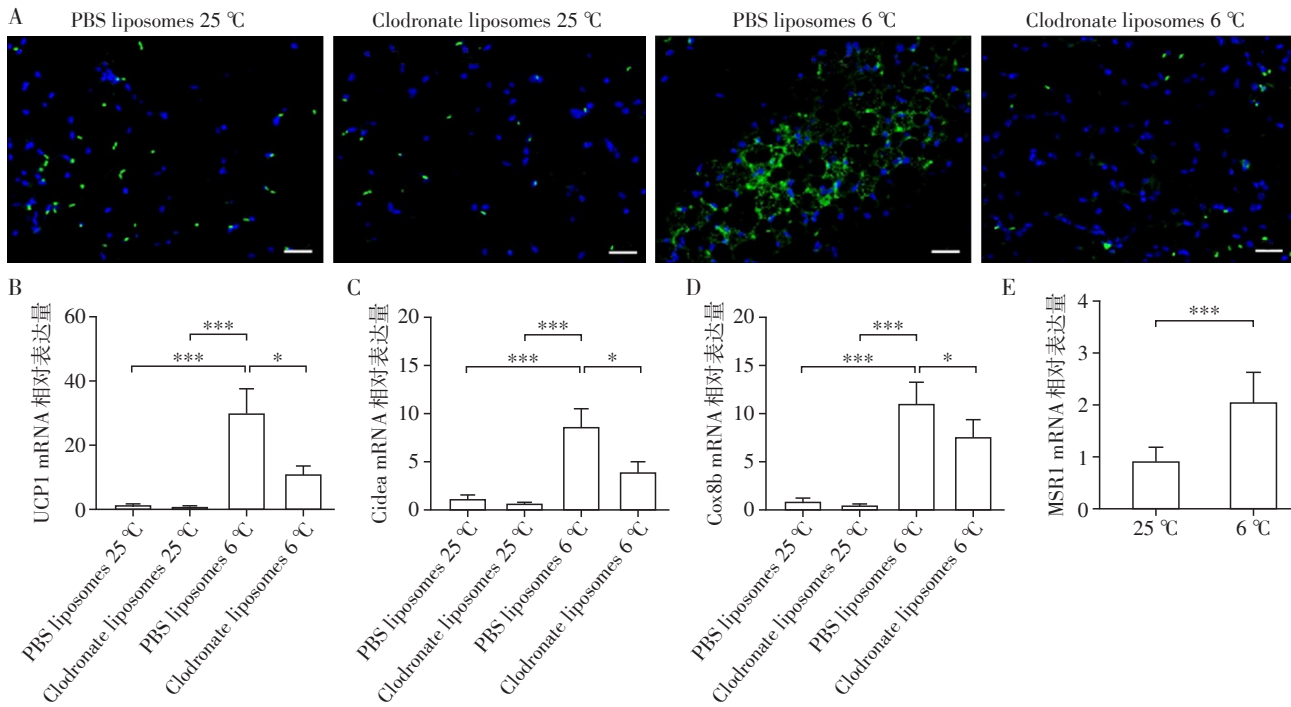
使用GraphPad Prism 8软件进行数据分析。数据均用均数±标准误( $\bar{x} \pm s_x$ )表示。在统计分析前对数据的分布进行假设检验后,对满足正态性和方差齐性的数据采用两样本独立t检验或单因素方差分析,对不满足正态性或方差齐性的数据采用Kruskal-Wallis H检验。P < 0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 清除巨噬细胞可以抑制低温刺激诱导的 scWAT 产热能力且低温刺激促进小鼠 scWAT 中 MSR1 的表达

为了研究巨噬细胞在低温刺激诱导的脂肪组织产热中的作用,给予8周龄雄性野生型小鼠氯膦酸盐脂质体处理,清除巨噬细胞。免疫荧光结果显示 F4/80<sup>+</sup>巨噬细胞清除成功(图 1A)。随后置于室温或寒冷条件下处理 14 d,期间正常饮食喂养。造

模结束后,提取小鼠 scWAT 总 RNA。qRT-PCR 结果显示,野生型小鼠清除巨噬细胞后 scWAT 产热能力标志物(UCP1、Cidea、Cox8b)基因的表达明显低于对照小鼠(图 1B~D)。为了进一步探究低温刺激对小鼠脂肪组织 MSR1 表达的影响。将 8 周龄雄性野生型小鼠置于室温或寒冷条件下处理 14 d,期间正常饮食喂养。造模结束后,提取小鼠 scWAT 总 RNA。qRT-PCR 结果显示,小鼠给予寒冷刺激后 scWAT 中 MSR1 表达量明显高于对照小鼠(图 1E)。



A: 免疫荧光染色检测清除野生型小鼠巨噬细胞并低温刺激 14 d 后小鼠 scWAT 中 F4/80<sup>+</sup>(绿色荧光)巨噬细胞,比例尺为 50 μm(n:3~5); B~D: qRT-PCR 检测清除 MSR1<sup>+/+</sup>小鼠巨噬细胞并低温刺激 14 d 后,小鼠 scWAT 中 UCP1(B)、Cidea(C)和 Cox8b(D)表达量。两组比较, \*P < 0.05, \*\*\*P < 0.001(n:6~8); E: qRT-PCR 检测低温刺激野生型小鼠 14 d 后,小鼠 scWAT 中 MSR1 表达量(n=6)。

图 1 清除野生型小鼠巨噬细胞并低温刺激 14 d 后小鼠 scWAT 的产热能力以及低温刺激 14 d 后小鼠 scWAT 中 MSR1 的表达  
Figure 1 The thermogenic capacity of scWAT of WT mice after macrophages clearance and 14 days of cold exposure, and MSR1 expression in adipose tissue of mice after 14 days of cold exposure

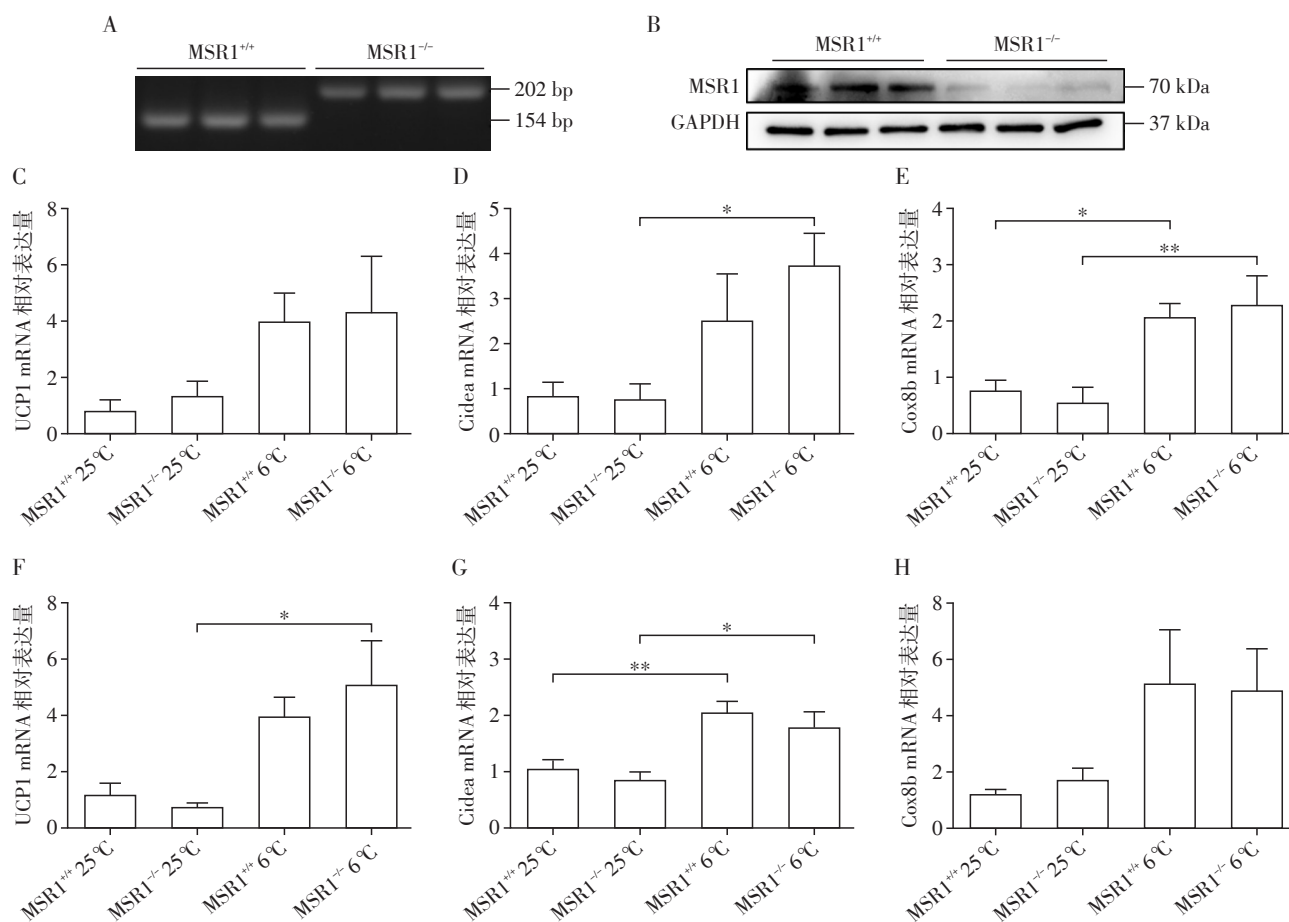
### 2.2 MSR1 不影响急性低温刺激情况下小鼠脂肪组织的产热能力

为了探究 MSR1 在小鼠脂肪产热过程中的作用,使用 MSR1<sup>-/-</sup>小鼠进行研究。首先对 MSR1<sup>-/-</sup>小鼠进行基因型鉴定(图 2A),并通过 Western blot 检测了小鼠脂肪组织中 MSR1 的表达情况(图 2B)。将 8 周龄雄性 MSR1<sup>+/+</sup>和 MSR1<sup>-/-</sup>小鼠置于室温或寒冷条件下处理 1 d(短期急性冷刺激),期间正常饮食喂养。造模结束后,提取 4 组小鼠 scWAT 和 BAT 总 RNA。qRT-PCR 结果显示,置于 6 °C 条件下小鼠 scWAT 和 BAT 中产热指标(UCP1、Cidea 和 Cox8b)表达量均高

于室温条件下小鼠(部分指标未达到统计学差异); MSR1 表达缺失小鼠与野生型对照小鼠相比差异无统计学意义(图 2C~H),说明在短期(1 d)寒冷刺激条件下 MSR1 不影响脂肪组织产热能力。

### 2.3 低温刺激 14 d 后 MSR1<sup>-/-</sup>小鼠脂肪组织的产热能力显著降低

将 8 周龄雄性 MSR1<sup>+/+</sup>和 MSR1<sup>-/-</sup>小鼠置于室温或寒冷条件下处理 14 d(长期慢性冷刺激),期间正常饮食喂养。14 d 后,提取小鼠 scWAT 和 BAT 总 RNA 以及小鼠 scWAT 总蛋白。qRT-PCR 结果显示,置于低温条件下,小鼠脂肪组织中 UCP1、Cidea 和 Cox8b



A: MSR1<sup>+/+</sup>和MSR1<sup>-/-</sup>小鼠基因型鉴定(n=3);B: Western blot检测MSR1<sup>+/+</sup>和MSR1<sup>-/-</sup>小鼠scWAT中MSR1的表达(n=3);C-E: qRT-PCR检测小鼠给予低温刺激1 d后, scWAT中UCP1(C)、Cidea(D)和Cox8b(E)表达量;F-H: qRT-PCR检测小鼠给予低温刺激1 d后, BAT中UCP1(F)、Cidea(G)和Cox8b(H)表达量。两组比较,\*P < 0.05,\*\*P < 0.01(n:4-6)。

图2 低温刺激MSR1<sup>+/+</sup>和MSR1<sup>-/-</sup>小鼠1 d后小鼠脂肪组织的产热能力

Figure 2 The thermogenic capacity of adipose tissue of MSR1<sup>+/+</sup> and MSR1<sup>-/-</sup> mice after 1 day of cold exposure

表达量明显高于室温条件下小鼠;MSR1<sup>-/-</sup>小鼠给予6℃处理,scWAT和BAT中UCP1、Cidea和Cox8b表达量明显低于MSR<sup>+/+</sup>6℃小鼠(图3A~F)。Western blot结果同样显示,置于低温环境下MSR1<sup>+/+</sup>和MSR1<sup>-/-</sup>小鼠脂肪组织中UCP1表达水平显著高于室温条件下小鼠;与MSR<sup>+/+</sup>6℃小鼠相比,MSR1<sup>-/-</sup>6℃小鼠scWAT中UCP1表达水平明显降低(图3G、H),说明MSR1可以促进慢性冷刺激诱导的脂肪组织产热。

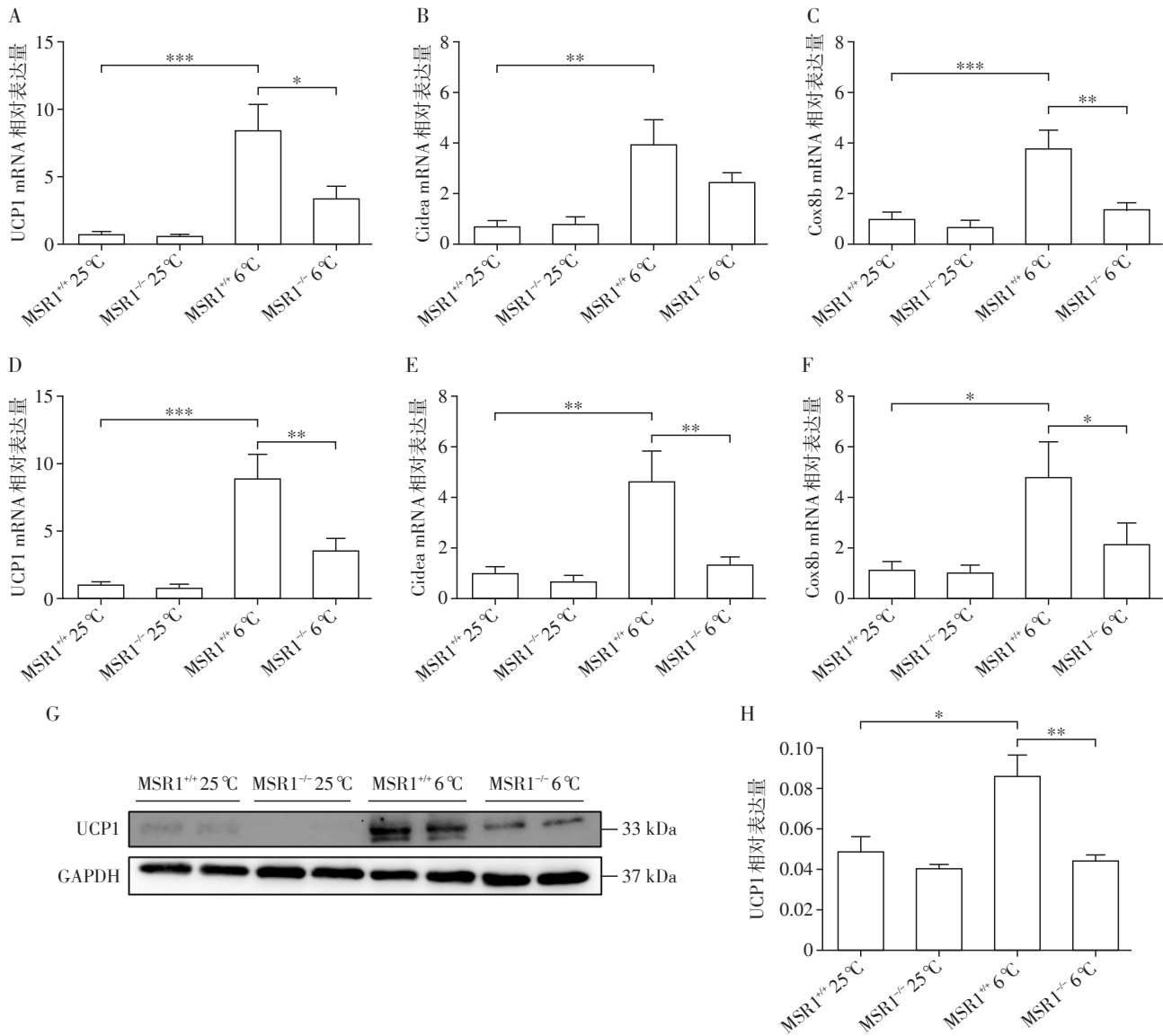
#### 2.4 低温刺激情况下,与对照组相比MSR1<sup>-/-</sup>小鼠scWAT中M2型巨噬细胞数量降低

为了探究低温刺激下MSR1对小鼠脂肪组织巨噬细胞极化的影响,进一步检测了给予小鼠低温刺激14 d后,小鼠脂肪组织中M2型巨噬细胞的数量情况。14 d低温刺激后,提取小鼠scWAT总RNA和基质血管成分(stromal vascular fraction, SVF),qRT-

PCR结果显示,MSR1<sup>-/-</sup>6℃小鼠scWAT中Mrc2和Mgl1的表达量均明显低于MSR<sup>+/+</sup>6℃小鼠(图4A、B)。对scWAT中的SVF进行流式细胞术检测,结果同样显示,与MSR<sup>+/+</sup>6℃小鼠相比,MSR1<sup>-/-</sup>6℃小鼠F4/80<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup>M2型巨噬细胞比例明显降低,F4/80<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>M1型巨噬细胞比例增高(图4C、D)。以上结果表明,低温刺激下,MSR1促进小鼠脂肪组织产热是通过诱导脂肪组织M2型巨噬细胞的极化实现的。

#### 2.5 MSR1<sup>-/-</sup>肥胖小鼠脂肪组织产热能力显著降低

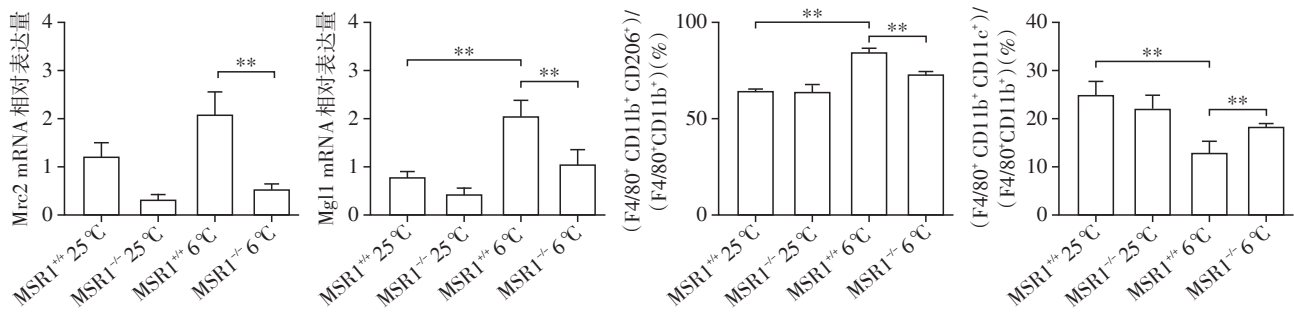
为了进一步探究MSR1对肥胖小鼠脂肪组织产热的影响。给予6周龄雄性MSR1<sup>+/+</sup>和MSR1<sup>-/-</sup>小鼠CD或HFD连续喂养12周,每周监测小鼠体重变化。12周后,使用代谢笼法监测小鼠耗氧量和产热量变化。将高脂造模MSR1<sup>+/+</sup>和MSR1<sup>-/-</sup>小鼠分别置于常温或低温环境刺激7 d后,提取小鼠scWAT和



A~C: qRT-PCR 检测小鼠给予低温刺激 14 d 后, scWAT 中 UCP1 (A)、Cidea (B) 和 Cox8b (C) 表达量; D~F: qRT-PCR 检测小鼠给予低温刺激 14 d 后, BAT 中 UCP1 (D)、Cidea (E) 和 Cox8b (F) 表达量。两组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  ( $n=6$ ); G、H: Western blot 检测小鼠给予低温刺激 14 d 后, scWAT 中 UCP1 表达水平 (G) 和统计图 (H)。两组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  ( $n=3$ )。

图3 低温刺激 MSR1<sup>+/+</sup> 和 MSR1<sup>-/-</sup> 小鼠 14 d 后小鼠脂肪组织的产热能力

Figure 3 The thermogenic capacity of adipose tissue of MSR1<sup>+/+</sup> and MSR1<sup>-/-</sup> mice after 14 days of cold exposure



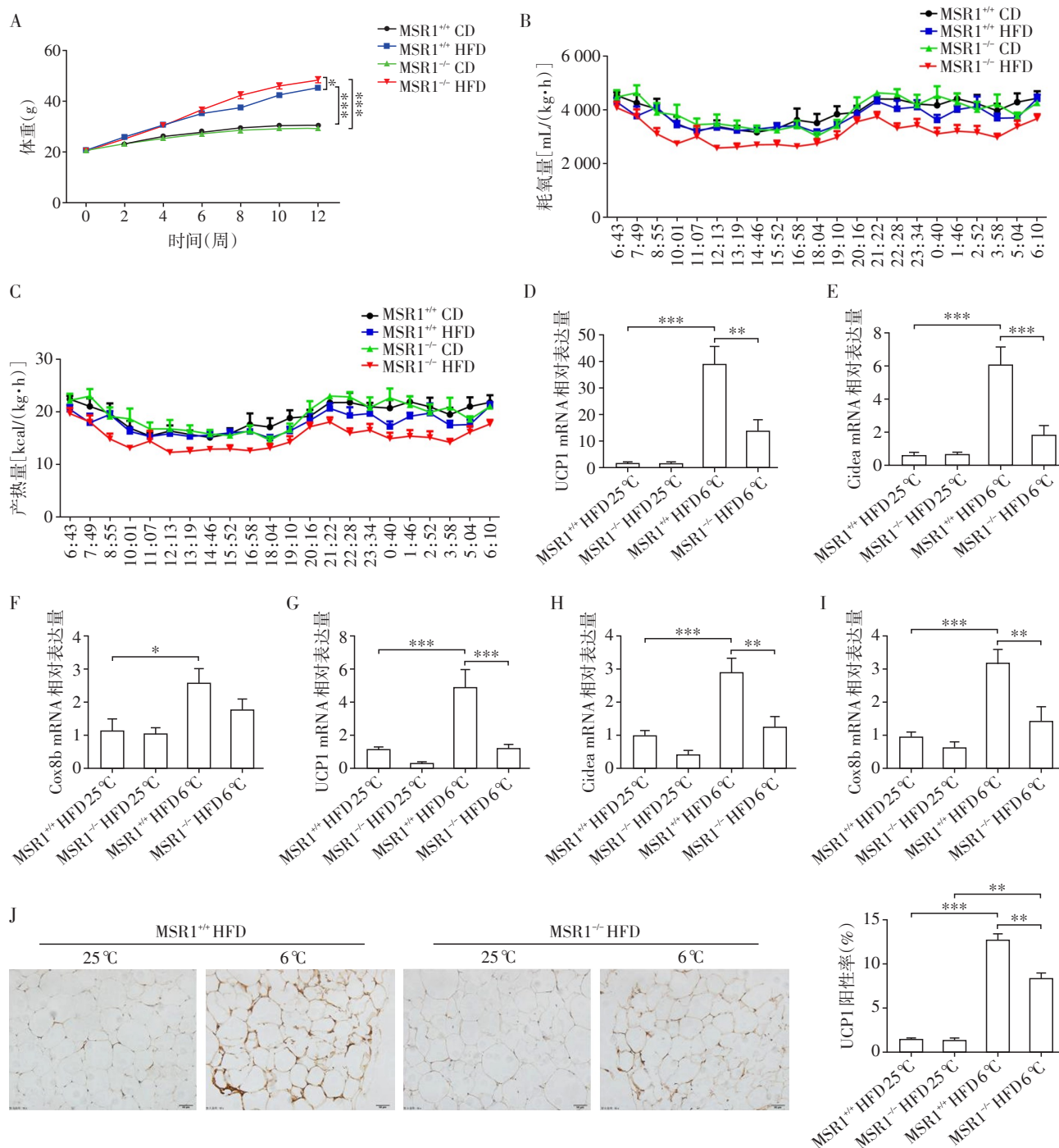
A、B: qRT-PCR 检测小鼠给予低温刺激 14 d 后, scWAT 中 Mrc2 (A) 和 Mgl1 (B) 表达量。两组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  ( $n=6$ ); C、D: 流式细胞术检测 F4/80<sup>+</sup> CD11b<sup>+</sup> CD206<sup>+</sup> M2 型巨噬细胞 (C) 和 F4/80<sup>+</sup> CD11b<sup>+</sup> CD11c<sup>+</sup> M1 型巨噬细胞 (D) 比例。两组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  ( $n=4$ )。

图4 低温刺激 14 d MSR1<sup>+/+</sup> 和 MSR1<sup>-/-</sup> 小鼠 scWAT 中 M2 型巨噬细胞数量

Figure 4 The numbers of M2 macrophage in scWAT of MSR1<sup>+/+</sup> and MSR1<sup>-/-</sup> mice after 14 days of cold exposure

BAT总RNA。结果显示,HFD 12周后,与野生型对照组相比,MSR1<sup>-/-</sup>小鼠体重增加更为显著(图5A),耗氧量和产热量降低(图5B、C)。qRT-PCR结果显示,低温刺激情况下,HFD喂养的MSR1<sup>-/-</sup>小鼠脂肪

组织中产热标记物(UCP1、Cidea和Cox8b)含量明显低于MSR1<sup>+/+</sup> HFD 6℃小鼠(图5D-I)。免疫组化结果显示,置于6℃条件下小鼠scWAT中UCP1表达量明显高于室温条件下小鼠;而MSR1<sup>-/-</sup> HFD 6℃



A: CD和HFD连续喂养MSR1<sup>+/+</sup>和MSR1<sup>-/-</sup>小鼠12周,每周监测小鼠体重变化;B:代谢笼法监测连续喂养12周小鼠耗氧量;C:代谢笼法监测连续喂养12周小鼠产热量(n=5);D-I:qRT-PCR检测高脂饮食12周的小鼠给予低温刺激7 d后,scWAT中UCP1(D)、Cidea(E)和Cox8b(F)表达量及BAT中UCP1(G)、Cidea(H)和Cox8b(I)表达量(n=6);J:组织免疫化学检测HFD 12周的小鼠给予低温刺激7 d后,scWAT中UCP1表达情况,比例尺为50 μm(n:3~5)。两组比较,\*P < 0.05,\*\*P < 0.01,\*\*\*P < 0.001。

图5 低温刺激HFD喂养的MSR1<sup>+/+</sup>和MSR1<sup>-/-</sup>小鼠7 d后小鼠脂肪组织的产热能力

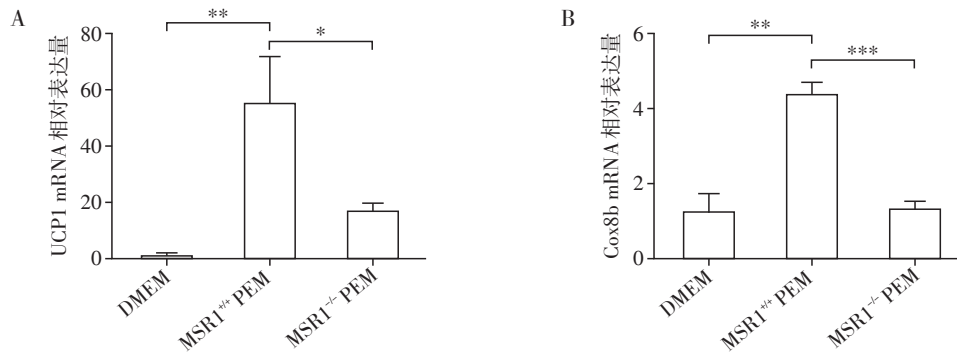
Figure 5 The thermogenic capacity of adipose tissue in MSR1<sup>+/+</sup> and MSR1<sup>-/-</sup> mice on HFD after 7 days of cold exposure

小鼠 scWAT 中 UCP1 表达量明显低于 MSR1<sup>+/+</sup> HFD 6 ℃ 小鼠(图 5J)。结果表明, MSR1 能促进肥胖小鼠脂肪组织的产热能力。

## 2.6 MSR1 表达缺失显著抑制巨噬细胞条件培养基诱导小鼠前脂肪细胞分化的脂肪细胞产热能力

为了进一步确认 MSR1 表达缺失巨噬细胞可以降低脂肪细胞产热能力, 使用了巨噬细胞条件培养基(PEM)进行了离体细胞实验。应用 PEM 分别培

养 3~4 周龄雄性 MSR1<sup>+/+</sup> 或 MSR1<sup>-/-</sup> 小鼠 scWAT 中的前脂肪细胞, 诱导分化为成熟脂肪细胞, 并提取脂肪细胞总 RNA。qRT-PCR 结果显示, PEM 诱导的 MSR1<sup>+/+</sup> 成熟脂肪细胞中 UCP1 和 Cox8b 表达量明显高于 DMEM 对照组; PEM 诱导的 MSR1<sup>-/-</sup> 成熟脂肪细胞中 UCP1 和 Cox8b 表达量明显低于 PEM 诱导的 MSR1<sup>+/+</sup> 成熟脂肪细胞, 说明巨噬细胞 MSR1 可以促进脂肪细胞产热能力(图 6A、B)。



qRT-PCR 检测 PEM 诱导的成熟脂肪细胞中 UCP1(A) 和 Cox8b(B) 表达量。两组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  ( $n=4$ )。

图 6 MSR1 表达缺失巨噬细胞条件培养基诱导小鼠前脂肪细胞分化, 检测脂肪细胞的产热能力

Figure 6 MSR1 expression deficient macrophage conditioned medium induced differentiation of mouse preadipocytes and measured the thermogenic capacity of adipocytes

## 3 讨论

巨噬细胞是免疫系统的重要组成部分, 具有许多重要功能。它可以通过吞噬作用清除病原体, 还可以通过抗原摄取和处理来调节各种病原体的适应性免疫反应<sup>[9-11]</sup>。已有研究指出, 巨噬细胞的这些功能与其极化状态密切相关<sup>[12]</sup>。巨噬细胞 M1 极化的特征是产生促炎细胞因子(IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  等)参与调节机体炎症反应, 而巨噬细胞的 M2 极化则与免疫抑制、肿瘤发生、伤口修复和清除寄生虫有关。M1/M2 巨噬细胞平衡极化决定了器官在炎症或损伤中的命运<sup>[13-14]</sup>。因此, 巨噬细胞极化分型的动态平衡对治疗相关疾病具有重要意义。

巨噬细胞在脂肪组织产热过程中起到关键作用。已有研究表明, 钠-葡萄糖共转运体(SGLT2)抑制剂通过提高脂肪利用率和促进脂肪棕色化来抑制体重增加, 并通过在 scWAT 和肝脏中极化 M2 型巨噬细胞来减弱肥胖引起的炎症和胰岛素抵抗<sup>[15]</sup>。因此, 调节巨噬细胞的 M1/M2 极化分型是代谢相关疾病治疗的重要靶点。

在单核细胞分化为巨噬细胞进程中, 大量清道夫受体得以表达。其中, MSR1 是一种主要在巨噬

细胞中表达的模式识别受体, 参与调控巨噬细胞的多种生物学功能, 如参与巨噬细胞趋化募集和与其他先天受体的相互作用, 以及抗原摄取、处理和呈现, 调节 T 细胞和 B 细胞激活<sup>[16]</sup>。本课题组前期研究表明, MSR1 缺失加剧了 HFD 诱导的肥胖小鼠机体的胰岛素抵抗, 伴随有小鼠附睾脂肪组织中 F4/80<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup> 的 M1 型巨噬细胞比例明显增加, F4/80<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup> 的 M2 型巨噬细胞比例明显降低, 机体炎症反应加重。于是, 本研究推测 MSR1 可能参与脂肪组织产热功能, 并且这一作用与调控巨噬细胞极化状态相关。

本研究应用 MSR1 全身性敲除小鼠, 通过给予小鼠急性和慢性的低温刺激, 观察脂肪组织产热情况。结果显示在慢性低温刺激下 MSR1<sup>-/-</sup> 小鼠脂肪组织产热能力明显低于 MSR1<sup>+/+</sup> 小鼠, 而在急性低温刺激下, 两组无明显差异。进一步在肥胖小鼠模型中观察到类似结果。同时, 本研究检测小鼠脂肪组织中不同类型巨噬细胞的极化情况。结果显示, MSR1 对脂肪组织产热能力的作用可能与其促进小鼠白色脂肪组织 M2 型巨噬细胞的极化有关。

综上所述, MSR1 在低温刺激下可能通过调控巨噬细胞的 M2 型极化进而增强脂肪组织产热。



[参考文献]

- [1] MASCHA K, MICHAEL A H, PAUL C, et al. Obesity, adipose tissue and vascular dysfunction [J]. *Circ Res*, 2021, 128(7):951-968
- [2] ARNOLD C T, VICTORIA D, BARRY A B, et al. Diabesity: the combined burden of obesity and diabetes on heart disease and the role of imaging [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(4):291-304
- [3] ZHANG Z Y, YANG D, XIANG J W, et al. Non-shivering thermogenesis signalling regulation and potential therapeutic applications of brown adipose tissue [J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(11):2853-2870
- [4] MONTANARI T, POSCIC N, COLITTI M. Factors involved in white-to-brown adipose tissue conversion and in thermogenesis: a review [J]. *Obes Rev*, 2017, 18(5):495-513
- [5] WANG Q, LI H X, KAZUKI T, et al. Post-translational control of beige fat biogenesis by PRDM16 stabilization [J]. *Nature*, 2022, 609(7925):151-158
- [6] JACK G, JOSE L M, MATTHIAS T. The role of macrophage scavenger receptor 1 (MSR1) in inflammatory disorders and cancer [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:1012002
- [7] CHEN X, JIANG J B, LIU H L, et al. MSR1 characterized by chromatin accessibility mediates M2 macrophage polarization to promote gastric cancer progression [J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 112:109217
- [8] XU Z Y, YOU W J, ZHOU Y B, et al. Cold-induced lipid dynamics and transcriptional programs in white adipose tissue [J]. *BMC Biol*, 2019, 17(1):74
- [9] FRANCISCO V, MYRIAM A. Macrophage heterogeneity and energy metabolism [J]. *Exp Cell Res*, 2017, 360(1):35-40
- [10] GRACE R P, JOSIE F G, JOBY C, et al. The role of macrophages in staphylococcus aureus infection [J]. *Front Immunol*, 2021, 11:620339
- [11] WU K Y, LIN K J, LI X Y, et al. Redefining tumor-associated macrophage subpopulations and functions in the tumor microenvironment [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:1731
- [12] ABBAS S M, SAEED M, HOSSEIN V, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(9):6425-6440
- [13] KOBINA E, LI Y T, HUO J Z, et al. MiRNA-mediated macrophage polarization and its potential role in the regulation of inflammatory response [J]. *Shock*, 2016, 46(2):122-131
- [14] WANG N, LIANG H, ZEN K. Molecular mechanisms that influence the macrophage m1 - m2 polarization balance [J]. *Front Immunol*, 2014, 5:614
- [15] LIANG X, NAOTO N, MAYUMI N, et al. SGLT2 inhibition by empagliflozin promotes fat utilization and browning and attenuates inflammation and insulin resistance by polarizing M2 macrophages in diet-induced obese mice [J]. *EBioMedicine*, 2017, 20:137-149
- [16] SHENG W, JI G, ZHANG L. Role of macrophage scavenger receptor MSR1 in the progression of non-alcoholic steatohepatitis [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:1050984

[收稿日期] 2023-04-26

(责任编辑:蒋莉)