

迷走神经复合体内的瘦素受体在电针“足三里”抑制肥胖小鼠摄食中的作用

李可^{1,2}, 王亚玲¹, 肖文辉¹, 陆丽青¹, 陆梦江¹, 徐天成¹, 徐斌¹, 鲍超², 余芝¹
(¹南京中医药大学针药结合教育部重点实验室, 南京 210023; ²南京中医药大学附属医院, 南京 210029)

【摘要】 目的:观察背侧迷走神经复合体(DVC)中的瘦素受体(LepR)在电针调控摄食中的作用,探讨电针改善代谢障碍的中枢机制。方法:(1)WT小鼠随机选取10只作为WT正常组,剩余小鼠采用高脂饲料喂养构建食源性肥胖模型,将造模成功的小鼠随机分为WT高脂组、WT电针组,每组10只。WT电针组取“足三里”进行电针干预,20 min/次,每日1次,每周6次,共治疗5周。检测小鼠体质量、摄食量、肝脏及腹股沟白色脂肪组织(iWAT)、附睾白色脂肪组织(eWAT)和棕色脂肪组织(BAT)质量,测定血清胰岛素、瘦素、空腹血糖,进行腹腔葡萄糖耐量实验(IPGTT),检测胃排空率;免疫荧光染色法检测孤束核(NTS)和迷走神经背核(DMV)中LepR阳性神经元与原癌基因c-Fos蛋白(c-Fos)共表达、磷酸化信号转导子和转录激活子3(p-STAT3)表达及DMV中胆碱乙酰转移酶(ChAT)与c-Fos共表达。(2)另设10只LepR敲除小鼠(LepR^{-/-}小鼠)随机分为LepR^{-/-}正常组和LepR^{-/-}电针组,每组5只。LepR^{-/-}电针组电针干预方法同前,检测胃排空率。结果:与WT正常组比较,WT高脂组体质量及肝脏、eWAT、iWAT、BAT湿重,血清胰岛素和瘦素,空腹血糖,IPGTT中60、90、120 min的血糖值,糖耐量曲线下面积(AUC)均升高($P < 0.01$);胃排空率、NTS和DMV中LepR与c-Fos共表达、DMV的p-STAT3表达及ChAT与c-Fos共表达均降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与WT高脂组比较,WT电针组摄食量,体质量和肝脏、eWAT、iWAT、BAT湿重,血清瘦素,空腹血糖,IPGTT中60、90、120 min的血糖值,糖耐量AUC均降低($P < 0.01$);胃排空率、NTS和DMV中LepR与c-Fos共表达、DMV的p-STAT3及ChAT与c-Fos共表达升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与WT正常组比较,LepR^{-/-}正常组胃排空率升高($P < 0.01$);与LepR^{-/-}正常组对比,LepR^{-/-}电针组胃排空率降低($P < 0.01$)。结论:电针“足三里”可能通过增加肥胖小鼠DVC的LepR,修复迷走中枢信号,促进胃排空以增强饱感,从而抑制摄食。

【关键词】 电针;肥胖;摄食;迷走神经复合体;瘦素受体

Role of leptin receptors in the dorsal vagal complex in the inhibition of food intake in obese mice by electroacupuncture at “Zusanli” (ST36)

LI Ke^{1,2}, WANG Ya-ling¹, XIAO Wen-hui¹, LU Li-qing¹, LU Meng-jiang¹, XU Tian-cheng¹, XU Bin¹, BAO Chao², YU Zhi¹
(¹Key Laboratory of Acupuncture and Medicine Research of Ministry of Education, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; ²Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029)

【ABSTRACT】 Objective To observe the role of leptin receptors (LepR) in the dorsal vagal complex (DVC) in electroacupuncture (EA)-mediated regulation of feeding behavior in obese mice, so as to elucidate its central mechanisms underlying improvement of metabolic disorders. **Methods** (1) Among wild-type (WT) mice, 10 were randomly selected as the normal group, and the remaining mice were fed with high-fat diet (HFD) to establish a obesity

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20250778

引用格式:李可,王亚玲,肖文辉,等.迷走神经复合体内的瘦素受体在电针“足三里”抑制肥胖小鼠摄食中的作用[J].针刺研究,2026,51(5):593-602.

项目来源:国家自然科学基金项目(No.82374577、82575237、82074532、82305375、82305376);国家自然科学基金配套项目(No.XPT82305375);江苏省中医学优势学科项目

共同通信作者:余芝,E-mail:yuzhi@njucm.edu.cn

鲍超,E-mail:drbaochao@163.com

model. The successfully modeled mice were randomly divided into the HFD group and EA group, with 10 mice in each group. The EA group received EA stimulation (2 mA, 2 Hz /15 Hz) at bilateral “Zusanli” (ST36) for 20 min, once daily, 6 times per week, for 5 weeks. The body weight, food intake, liver tissue wet weight, inguinal white adipose tissue (iWAT) weight, epididymal white adipose tissue (eWAT) weight, and brown adipose tissue (BAT) weight, and blood glucose levels were measured. The serum insulin and leptin contents were measured using ELISA. The gastric emptying rate was detected using phenol red meal method. Immunofluorescence staining was used to detect the co-expression of LepR-positive neurons and proto-oncogene c-Fos protein (c-Fos), the expression of phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3 (p-STAT3), and the co-expression of choline acetyltransferase (ChAT) and c-Fos in the nucleus tractus solitarius (NTS) and dorsal motor nucleus of the vagus nerve (DMV). (2) In addition, 10 leptin receptor knockout (LepR^{-/-}) mice were randomly divided into LepR^{-/-} normal group and LepR^{-/-} EA group, with 5 mice in each group. The LepR^{-/-} EA group received the same EA intervention as those described above. Gastric emptying rate was detected as that mentioned above. **Results** Compared with the WT normal group, the WT HFD group showed a significant increase in the body weight, liver and adipose (iWAT, eWAT and BAT) wet weight, serum insulin and leptin contents, fasting blood glucose level, and glucose tolerance area under the curve (AUC, all $P < 0.01$), and a considerable decrease in the gastric empty rate, the number of LepR and c-Fos co-expression neurons in the DMV and NTS, p-STAT3 positive and ChAT and c-Fos co-expression neuron expressions in the DMV ($P < 0.01$, $P < 0.05$). In comparison with the model group, the body weight, food intake, liver and adipose wet weight, serum leptin content, fasting blood glucose, and glucose tolerance AUC were significantly decreased in the EA group ($P < 0.01$), while the gastric empty rate, number of LepR and c-Fos co-expression neurons in the DMV and NTS, p-STAT3 positive and ChAT and c-Fos co-expression neuron expressions in the DMV were notably increased in the EA group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). No significant differences were observed in the random blood glucose content and p-STAT3 positive neuron expression in the NTS after modeling and after EA and in the serum level of insulin after EA. (2) Compared with the WT normal group, the LepR^{-/-} normal group showed an increase in gastric emptying rate ($P < 0.01$), while in comparison with the LepR^{-/-} normal group, the LepR^{-/-} EA group exhibited a decrease in gastric emptying rate ($P < 0.01$), suggesting an involvement of LepR in EA-induced enhancement of gastric emptying. There was a positive correlation between the gastric emptying rate and the number of LepR-positive neurons. **Conclusion** EA at ST36 can inhibit food intake and promote gastric empty to reduce body weight in obesity mice, which may be associated with its functions in increasing LepR expression in the DVC and restoring vagal central signaling.

【KEYWORDS】 Electroacupuncture; Obesity; Food intake; Dorsal vagal complex; Leptin receptor

肥胖及其相关代谢性疾病已成为全球重大健康负担^[1-2], 摄食异常导致能量摄入与消耗失衡是其核心病理环节^[3]。迷走-迷走反射是能量摄入信号的直接调节者, 通过感知胃肠内的化学信号(如瘦素)与机械信号(以胃排空为代表的胃运动)精细调节摄食行为^[4]。瘦素是经典的饱食信号, 机体瘦素含量增高可导致摄食终止^[5], 胃排空也是机体的饱感信号之一^[6]。有研究表明, 瘦素能够调节胃肠神经肌肉的反应性, 直接影响胃排空速率^[4], 即瘦素除了自己本身影响饱感外, 还可通过影响胃排空而影响饱感。背侧迷走神经复合体(DVC)作为该反射的中枢, 由孤束核(NTS)和迷走神经背核(DMV)组成, 是迷走-迷走反射的重要中枢环节, 是调控胃肠功能的关键。已有多项研究证实, DVC内的瘦素受体(LepR)可以明显抑制摄食行为^[7-8]。针刺作为传统中医疗法, 近年来在调控摄食和代谢方面取得了显著的研究进展^[9]。然而, DVC的LepR信号通路

在电针调控摄食中枢机制中的作用仍待系统阐明。因此, 本研究旨在探究电针“足三里”是否通过调控DVC内LepR信号影响胃排空, 进而调控摄食行为, 以期阐明电针改善肥胖的部分中枢机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验选用4周龄SPF级健康雄性C57BLKS/JGpt小鼠(简称WT小鼠)和BKS-LepR^{em2cd49}/Gpt小鼠(简称LepR^{-/-}小鼠), 体质量15~20 g, 均由江苏集萃药康生物科技股份有限公司提供, 生产许可证号: SCXK(苏)2023-0009。小鼠饲养于南京中医药大学实验动物中心, 光照/黑暗12 h/12 h交替, 室温(22±2)°C, 相对湿度40%~60%, 自由进食饮水。本研究通过南京中医药大学动物伦理委员会批准, 伦理号: 202304A027。实验中对于小鼠的处理遵循3R原则、《关于善待实验动物的指导性意见》等相关

伦理规定。实验分为两个部分,第1部分:在正常野生型小鼠(WT小鼠)基础上复制肥胖模型并观察电针对小鼠摄食、胃排空、DVC的LepR表达等指标的影响;第2部分:应用LepR敲除模式动物(LepR^{-/-}小鼠)加以验证。

1.2 主要仪器与试剂

一次性无菌针灸针(0.18 mm×13 mm,北京中研太和),韩氏电针仪(北京华卫),电子天平(北京赛多利斯),吸入式麻醉机(深圳瑞沃德),血糖检测仪、血糖试纸(瑞士罗氏),Synergy H1型酶标仪(美国BioTek),台式冷冻离心机(德国Eppendorf),冰冻切片机、THUNDER宽场高分辨率成像系统(德国徕卡),生物显微镜(日本OLYMPUS)。

异氟烷(深圳瑞沃德),乌来糖(上海源叶生物),苯酚红(天津化学试剂研究所),Sea BLOCK™阻断缓冲液(美国Thermo Fisher Scientific),Triton X-100(美国Sigma),磷酸化信号转导子和转录激活子3(p-STAT3)抗体(美国SAB),LepR抗体(美国Santa),c-Fos抗体(德国Synaptic Systems),胆碱乙酰转移酶(ChAT)抗体(美国Novus),荧光标记山羊抗兔IgG、山羊抗鼠IgG(美国Abcam),DAPI(上海Absin),葡萄糖、瘦素和胰岛素测定试剂盒(南京建成)。

1.3 模型制备和分组方法

所有实验动物适应性喂养1周后,开始造模。

第1部分:42只WT小鼠根据随机数字表法分为WT正常组(10只)和造模组(32只),WT正常组喂养SPF级全价饲料,造模组采用高脂饲料喂养14周^[10]复制食源性肥胖模型。高脂饲料^[11]由苏州双狮实验动物科技有限公司加工提供(全价SPF级鼠饲料60%、猪油12%、蔗糖5%、奶粉5%、花生5%、鸡蛋10%、麻油1%、食盐2%)。造模成功标准:造模组小鼠体质量高于WT正常组小鼠20%,最终获得20只造模成功小鼠,成功率为62.5%。随后将造模成功的WT小鼠随机分为WT高脂组(10只)和WT电针组(10只)。

第2部分:10只LepR^{-/-}小鼠被随机分为LepR^{-/-}正常组(5只)和LepR^{-/-}电针组(5只),均喂养普通饲料14周。

1.4 干预方法

WT电针组取双侧“足三里”,定位参照文献^[12],直刺双侧“足三里”3~5 mm。电针时所有动物均给予异氟烷吸入麻醉(诱导麻醉浓度3%,维持麻醉浓度0.5%~1%)。WT电针组小鼠麻醉后,采用

自制双极针(用医用胶带将两根一次性无菌针灸针的针柄靠近针身部分并列缠绕,针柄末端分别向相反方向弯成“V”形,保持两针之间绝缘,露出针柄末端与针身)分别连接电针仪正负极(2 mA,2 Hz/15 Hz,20 min),1次/d,干预6 d后休息1 d,连续治疗5周。WT正常组及WT高脂组仅麻醉,不针刺。干预期间,WT正常组小鼠予以普通饲料喂养,WT高脂组和WT电针组小鼠均继续予以高脂饲料喂养。

LepR^{-/-}正常组小鼠干预与WT正常组相同,LepR^{-/-}电针组干预与WT电针组相同。

1.5 观察指标及检测方法

小鼠体质量及24 h摄食量和随机血糖的检测:利用电子天平每周测量1次体质量。电针干预结束后,将各组小鼠禁食6 h,不禁水,记录24 h的自由摄食量和随机血糖。

空腹血糖和糖耐量实验检测:电针干预结束后,小鼠禁食18 h,使用血糖仪检测空腹血糖值。腹腔葡萄糖耐量实验(IPGTT)^[13]:按照2 g/kg剂量腹腔注射浓度为40%的葡萄糖溶液,分别在注射后0、30、60、90、120 min进行血糖检测,记录血糖数值,并计算糖耐量的曲线下面积(AUC)。

小鼠胃排空率检测:参照文献^[14]进行。干预结束后,每组取5只小鼠禁食不禁水15 h,每组随机取1只小鼠,用灌胃针将0.6 mL酚红餐(配制方法:25 mg苯酚红溶于50 mL蒸馏水,过滤后将滤液加热至70℃,随后加入0.75 g羟丙基甲基纤维素,搅拌均匀冷却至37℃)注入小鼠胃内。随即用颈椎脱臼法处死小鼠,开腹结扎贲门和幽门,取出整个胃,用0.9%氯化钠注射液漂洗,将所有胃内容物倒入30 mL 0.1 mol/L的NaOH溶液中,用玻璃棒搅拌均匀,4℃下静置1 h;取5 mL上清悬液加入0.5 mL 20%三氯乙酸混匀,4℃离心20 min;取1 mL上清液加入4 mL 0.5 mol/L的NaOH溶液并混合均匀,37℃孵育20 min,用酶标仪测量560 nm波长下的吸光度(OD)值为标准酚红OD值。剩余的每组4只小鼠在灌胃酚红餐后30 min处死,操作同上,检测的OD值为实测酚红OD值。胃排空率(%)=[1-(实测酚红OD值÷标准酚红OD值)]×100%。

取材方法:干预结束后,每组取5只WT小鼠腹腔注射20%乌拉坦(2 g/kg)麻醉,眼眶取血1 mL,用离心机4℃离心15 min分离血清,取上清-80℃保存备用。动物处死后,摘取并称量肝脏组织、腹腔沟白色脂肪组织(iWAT)、附睾白色脂肪组织(eWAT)和棕色脂肪组织(BAT)。

ELISA法测定小鼠血清瘦素和胰岛素含量:从-80℃冰箱中取出保存的血清,使用前先将试剂盒在室温下平衡30 min,随后向空白孔加显色剂A、B及终止液以调零,向标准品孔加入稀释后的标准品50 μL,生物素抗原工作液50 μL,样品孔加入样品50 μL,生物素抗原工作液50 μL,然后盖上封板膜,置于37℃培养箱中孵育60 min。弃去液体,洗板拍干重复3次。然后在每孔先加入显色剂A 50 μL,再加入显色剂B 50 μL,轻轻振荡混匀,37℃避光显色10 min。最后每孔加终止液50 μL,终止反应。以空白孔调零,450 nm波长依序测量各孔的OD值,根据标准品的含量和OD值做标准曲线,计算样本含量。

免疫荧光法检测小鼠脑组织LepR、c-Fos、p-STAT3、ChAT的表达:干预结束后,取每组3只WT小鼠,腹腔注射20%乌拉坦(2 g/kg)过量麻醉处死取脑,将脑组织浸泡在4%多聚甲醛通用型组织固定液中24 h。随后于30%蔗糖溶液中脱水处理,置于OCT包埋液中,冷冻后制成20 μm厚的切片。参照小鼠脑图谱,选取包含NTS和DMV的冠状面脑片进行贴片,且各组均选取相同解剖层面的脑片用于后续图像采集和定量分析。选好的切片37℃下复温1 h,随后进行免疫荧光染色。PBS清洗切片3次,每次10 min。用10%鱼血清封闭液在37℃下封闭1.5 h后,加入一抗LepR(1:200)、c-Fos(1:2 000)、p-STAT3(1:300)、ChAT(1:500)4℃孵育过夜。PBST清洗3次,每次10 min,加入二抗(1:300),37℃避光孵育1.5 h后,PBST清洗切片3次,每次10 min,用含DAPI的防荧光淬灭剂进行覆盖。使用THUNDER成像系统进行图像采集,并应用Image J软件进行定量分析。检测LepR和c-Fos共标用来标记激活态的LepR阳性神经元,通

过计算单位面积激活态的LepR阳性神经元个数(阳性细胞计数÷面积)来反映瘦素敏感性神经元的活动变化;检测p-STAT3平均荧光强度以评估瘦素信号在此过程的参与程度;检测ChAT与c-Fos共标来标记激活态的ChAT阳性神经元,通过计算单位面积激活态的ChAT阳性神经元个数(阳性细胞计数÷面积),评估DMV的胆碱能节前神经元的活动情况。

对各组WT小鼠胃排空率与单位面积LepR阳性神经元激活数量进行相关性分析。

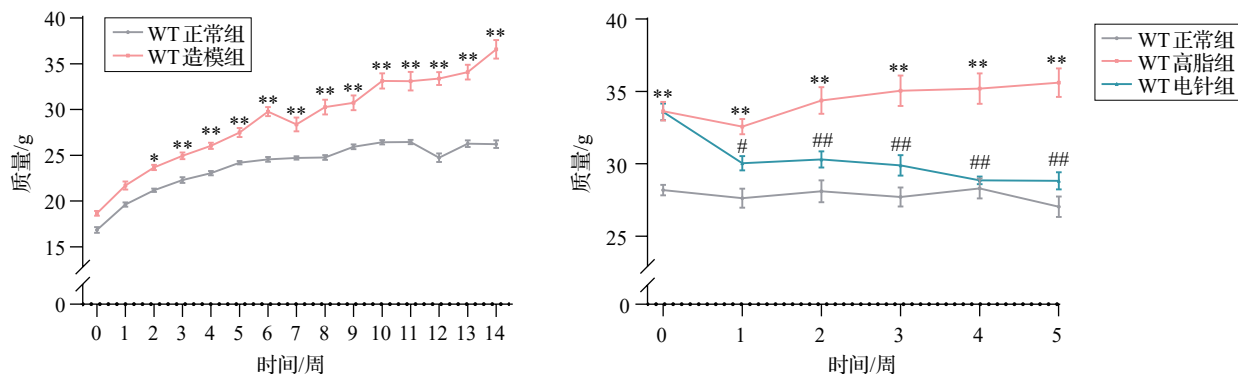
1.6 统计学处理

数据用GraphPad Prism进行统计分析及制图。符合正态分布的计量资料以均数±标准误($\bar{x} \pm s_x$)表示,两组间数据的比较采用独立样本t检验,多组间的比较采用单因素方差分析,方差齐时采用LSD-t检验进一步两两比较,若数据不符合正态分布或方差齐性,则采用非参数检验。采用Pearson相关系数进行相关性分析。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 各组WT小鼠造模期间和干预前后体质量的比较

造模时,自高脂喂养的第2周开始,WT造模组小鼠体质量高于WT正常组($P < 0.05$);此后第3~14周,WT造模组体质量持续高于WT正常组($P < 0.01$)。自干预开始到第5周,WT高脂组小鼠体质量均高于WT正常组($P < 0.01$);电针干预1周后,WT电针组小鼠体质量低于WT高脂组($P < 0.05$),此后第2~5周WT电针组体质量持续低于WT高脂组($P < 0.01$)。见图1。



注:WT造模组为20只小鼠,其余各组均为10只。与同时点WT正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与同时点WT高脂组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

图1 各组小鼠造模期间和干预前后体质量比较($\bar{x} \pm s_x$)

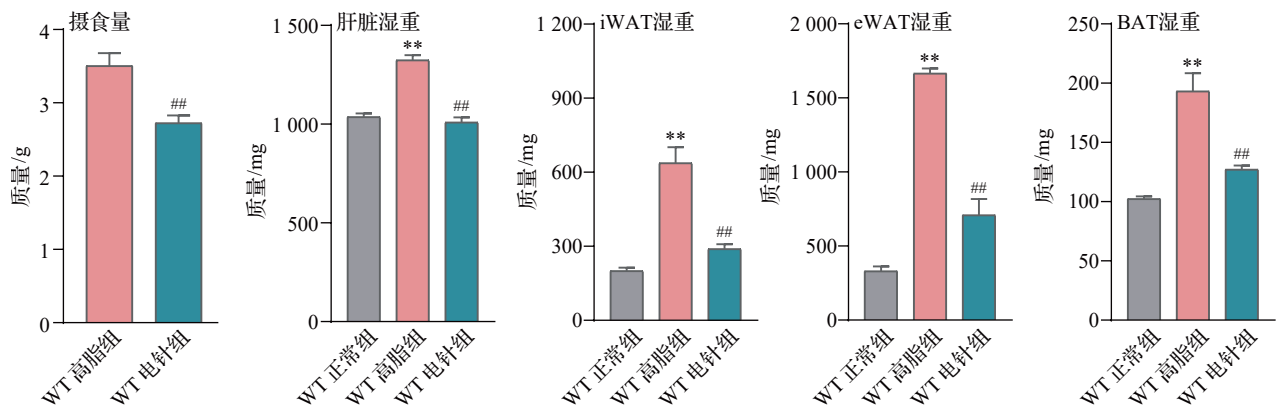
Fig. 1 Comparison of body weight during the modeling period and before and after intervention in mice of the 3 groups ($\bar{x} \pm s_x$)

2.2 各组 WT 小鼠摄食量和脂肪组织湿重的比较

与 WT 高脂组小鼠比较, WT 电针组小鼠的 24 h 总摄食量低于 WT 高脂组 ($P < 0.01$), 因所用饲料不同, 并未进行 WT 正常组与 WT 高脂组的摄食量比较。与 WT 正常组比较, WT 高脂组小鼠肝脏、eWAT、iWAT、BAT 湿重均增加 ($P < 0.01$); 与 WT 高脂组比较, WT 电针组肝脏、eWAT、iWAT、BAT 湿重降低 ($P < 0.01$)。见图 2。

2.3 各组 WT 小鼠血清胰岛素、瘦素、IPGTT 血糖值、糖耐量曲线下面积及空腹血糖、随机血糖比较

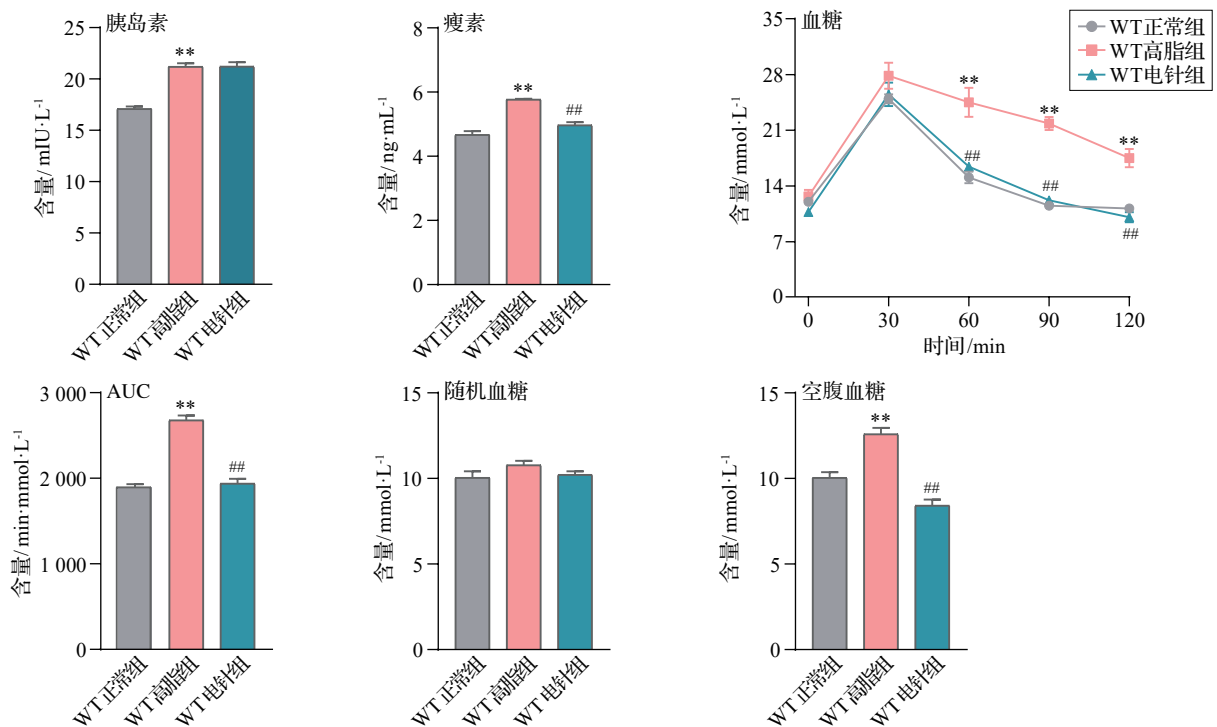
与 WT 正常组比较, WT 高脂组血清胰岛素、瘦素, IPGTT 中 60、90、120 min 的血糖值, 糖耐量 AUC 及空腹血糖均增高 ($P < 0.01$), 随机血糖差异无统计学意义。与 WT 高脂组比较, WT 电针组血清瘦素, IPGTT 中 60、90、120 min 的血糖值, 糖耐量 AUC 及空腹血糖均降低 ($P < 0.01$), 血清胰岛素和随机血糖的差异无统计学意义。见图 3。



注: iWAT 为腹股沟白色脂肪组织, eWAT 为附睾白色脂肪组织, BAT 为棕色脂肪组织。与 WT 正常组比较, ** $P < 0.01$; 与 WT 高脂组比较, ## $P < 0.01$ 。

图 2 各组小鼠摄食量及肝脏、eWAT、iWAT、BAT 湿重比较 ($\bar{x} \pm s_x$, 5 只鼠/组)

Fig. 2 Comparison of food intake and liver, eWAT, iWAT, BAT wet weights of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s_x$, 5 mice / group)



注: IPGTT 为腹腔葡萄糖耐量实验, AUC 为曲线下面积。与 WT 正常组比较, ** $P < 0.01$; 与 WT 高脂组比较, ## $P < 0.01$ 。

图 3 各组小鼠血清胰岛素、血清瘦素、IPGTT 血糖值、糖耐量曲线下面积及空腹血糖的比较 ($\bar{x} \pm s_x$, 5 只鼠/组)

Fig. 3 Comparison of serum insulin and leptin contents, blood glucose of IPGTT, area under the glucose tolerance curve and fasting blood glucose of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s_x$, 5 mice / group)

2.4 各组 WT 及 LepR^{-/-}小鼠胃排空率的比较

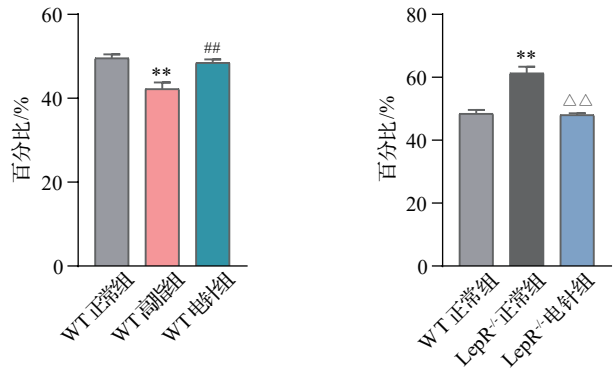
在 WT 小鼠中,与 WT 正常组比较,WT 高脂组小鼠胃排空率降低($P < 0.01$);与 WT 高脂组比较,WT 电针组小鼠胃排空率增高($P < 0.01$)。与 WT 正常组比较,LepR^{-/-}正常组小鼠胃排空率增高($P < 0.01$);与 LepR^{-/-}正常组比较,LepR^{-/-}电针组小鼠胃排空率下降($P < 0.01$)。见图 4。

2.5 各组 WT 小鼠 NTS、DMV 中 LepR 和 c-Fos 共表达水平的比较

与 WT 正常组比较,WT 高脂组 NTS、DMV 中的 LepR 和 c-Fos 共表达水平下调($P < 0.05$);与 WT 高脂组比较,WT 电针组 NTS、DMV 中 LepR 和 c-Fos 共表达水平上调($P < 0.05$)。见图 5。

2.6 各组 WT 小鼠 NTS、DMV 中 p-STAT3 表达的比较

与 WT 正常组比较,WT 高脂组 DMV 中的 p-STAT3 的表达下调($P < 0.01$);与 WT 高脂组比较,电针组 DMV 中的 p-STAT3 的表达上调($P < 0.01$)。各组小鼠 NTS 中的 p-STAT3 表达水平差异均无统计学意义。见图 6。

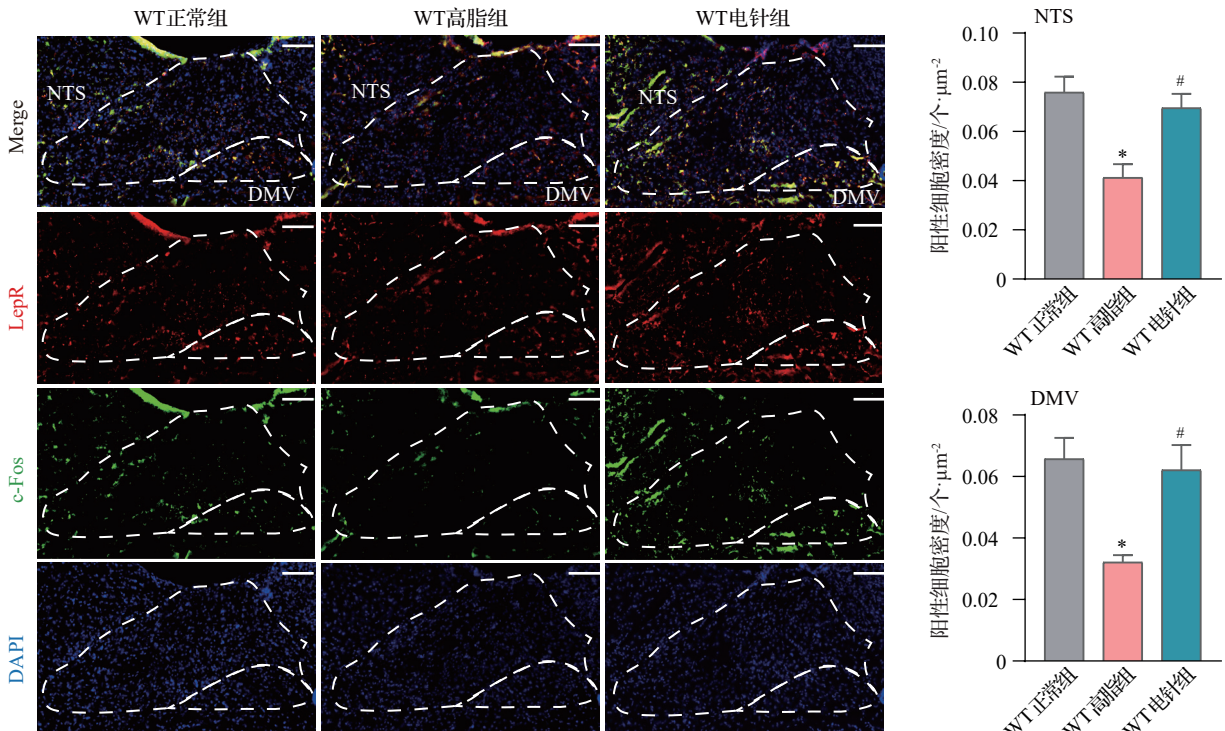


注:与 WT 正常组比较,** $P < 0.01$;与 WT 高脂组比较,## $P < 0.01$;与 LepR^{-/-}正常组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

图 4 各组小鼠胃排空率的比较($\bar{x} \pm s_x$, 5 只鼠/组)
Fig. 4 Comparison of gastric emptying rates of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s_x$, 5 mice / group)

2.7 各组 WT 小鼠 DMV 中 ChAT 和 c-Fos 共表达的比较

与 WT 正常组比较,WT 高脂组 DMV 中 ChAT 和 c-Fos 共表达水平降低($P < 0.05$);与 WT 高脂组比较,WT 电针组 ChAT 和 c-Fos 共表达水平升高($P < 0.05$)。见图 7。

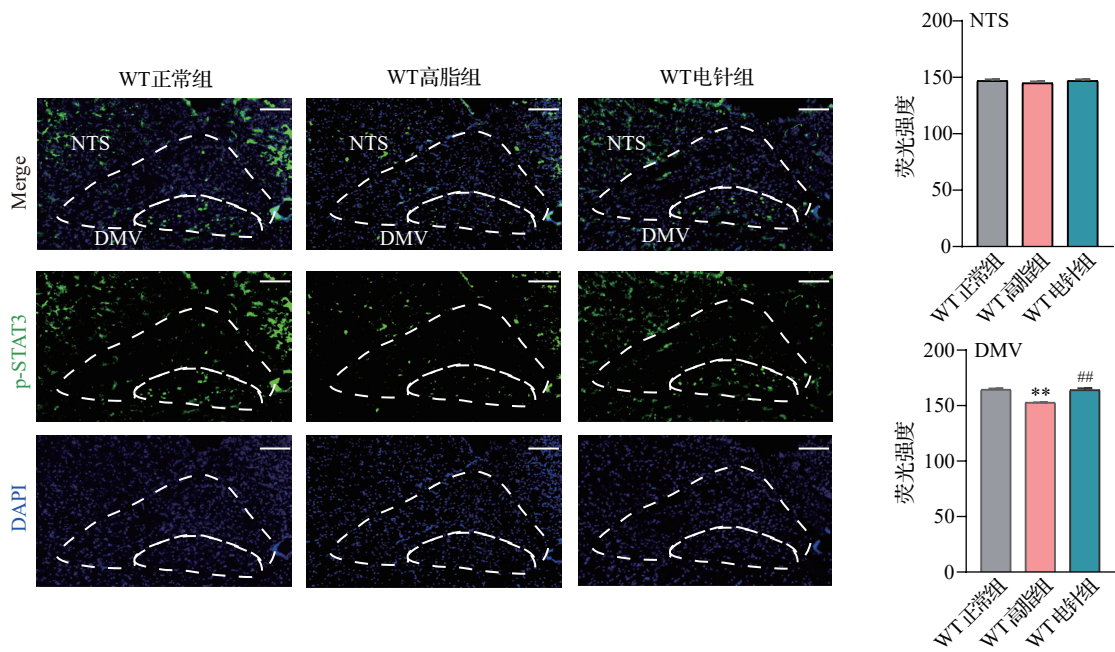


注:NTS 为孤束核,DMV 为迷走神经背核,LepR 为瘦素受体,c-Fos 为原癌基因 c-Fos 蛋白。LepR 阳性表达为红色,c-Fos 阳性表达为绿色,LepR 与 c-Fos 共标阳性表达为黄色。图中白色不规则图形表示观察的 NTS 与 DMV 区域,标尺=100 μm 。

与 WT 正常组比较,* $P < 0.05$;与 WT 高脂组比较,# $P < 0.05$ 。

图 5 各组小鼠 NTS、DMV 中 LepR 与 c-Fos 共表达阳性神经元比较(免疫荧光染色, $\bar{x} \pm s_x$, 3 只鼠/组)

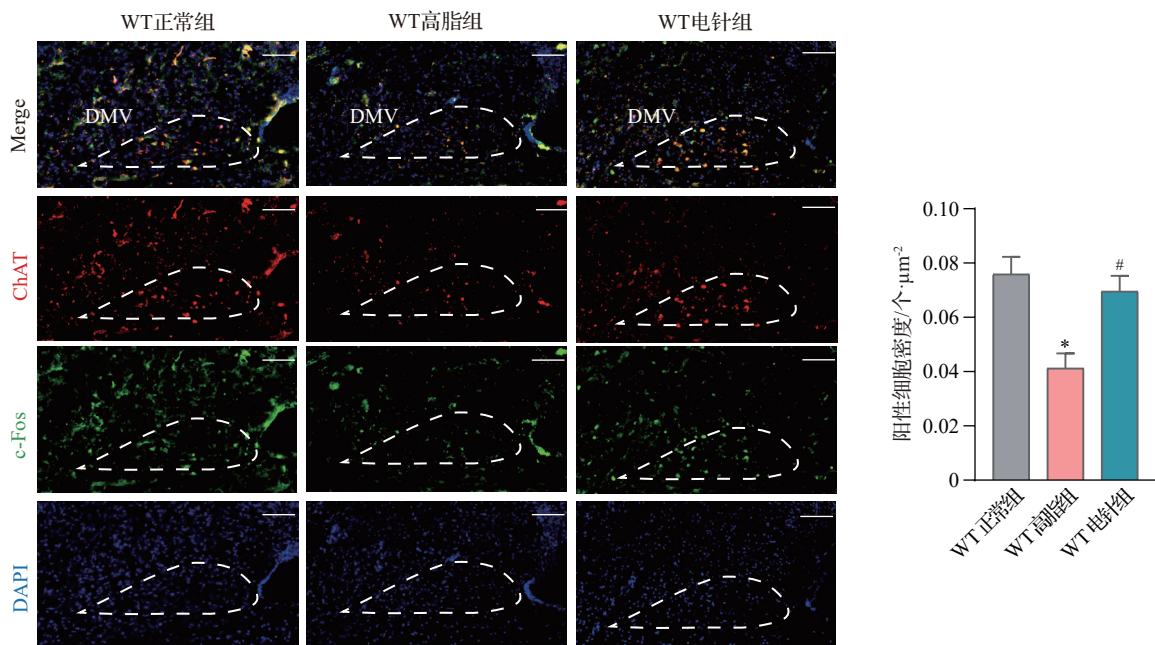
Fig. 5 Comparison of the co-expression of LepR and c-Fos positive neurons in the NTS and DMV of mice in the 3 groups (immunofluorescence staining, $\bar{x} \pm s_x$, 3 mice / group)



注:NTS为孤束核,DMV为迷走神经背核,p-STAT3为磷酸化信号转导子和转录激活子3。p-STAT3阳性表达为绿色。白色不规则图形表示观察的NTS和DMV区域,标尺=100 μm。与WT正常组比较,** $P < 0.01$;与WT高脂组比较,## $P < 0.01$ 。

图6 各组小鼠NTS、DMV中p-STAT3阳性表达比较(免疫荧光染色, $\bar{x} \pm s_x$, 3只鼠/组)

Fig. 6 Comparison of p-STAT3 positive expression in the NTS and DMV of mice in the 3 groups (immunofluorescence staining, $\bar{x} \pm s_x$, 3 mice / group)



注:DMV为迷走神经背核,ChAT为胆碱乙酰转移酶,c-Fos为原癌基因c-Fos蛋白。ChAT阳性表达为红色,c-Fos阳性表达为绿色,ChAT和c-Fos共标阳性表达为黄色。白色不规则图形表示观察的DMV区域,标尺=100 μm。与WT正常组比较,* $P < 0.05$;与WT高脂组比较,# $P < 0.05$ 。

图7 各组小鼠DMV区ChAT和c-Fos共表达阳性神经元的比较(免疫荧光染色, $\bar{x} \pm s_x$, 3只鼠/组)

Fig. 7 Comparison of the co-expression of ChAT and c-Fos positive neurons in the DMV region of mice in the 3 groups (immunofluorescence staining, $\bar{x} \pm s_x$, 3 mice / group)

2.8 各组WT小鼠的胃排空率与DMV单位面积LepR阳性神经元激活数量相关性分析

在WT小鼠中,对DMV单位面积LepR阳性神

经元激活数量与胃排空率进行相关性分析,结果显示DMV单位面积LepR阳性神经元激活数量与胃排空率之间存在显著正相关关系($R^2=0.61, P <$

0.05,图8),即随着单位面积LepR阳性神经元激活数量增加,胃排空率呈现升高趋势。

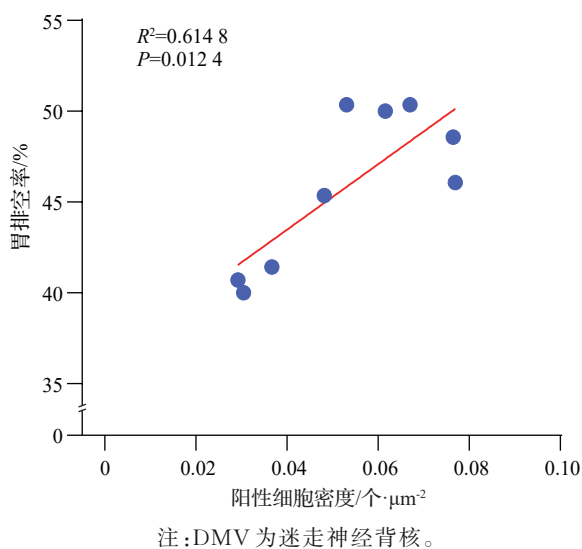


图8 WT小鼠胃排空率与DMV单位面积LepR阳性神经元激活数量相关性分析(9只鼠)

Fig. 8 Correlation analysis between gastric emptying rate and the number of LepR-positive neurons per unit area of WT mice (9 mice)

3 讨论

过量摄入高能量饮食是导致肥胖、糖尿病等代谢性疾病的关键因素^[15]。本研究采用14周高脂饮食诱导WT小鼠肥胖模型^[10],并以电针双侧“足三里”(临床常用减肥穴位^[16])进行干预。结果显示,电针“足三里”能显著抑制食源性肥胖小鼠的体质量增长和24h摄食量,并有效逆转各组织湿重的异常增加,证实了其减肥效果。

瘦素作为经典的中枢饱感调节因子^[17],负责将外周能量状态传递至中枢,调控食欲、摄食和新陈代谢^[18]。LepR缺失或功能异常会导致饱腹感延迟或缺失(即瘦素抵抗),常伴随胰岛素抵抗^[19]。本研究结果显示高脂饮食小鼠呈现典型的瘦素抵抗(高瘦素血症伴随摄食量增加)和胰岛素抵抗(高胰岛素血症、糖耐量受损)。电针治疗后,虽然胰岛素水平下降不显著,但血清瘦素、空腹血糖、糖耐量等指标明显改善,表明电针可有效缓解肥胖小鼠的瘦素抵抗和胰岛素抵抗。需要指出的是,本研究正常组血糖绝对值相对偏高,可能与所用C57BLKS/JGpt小鼠为糖尿病易感背景有关。该品系在代谢应激或相关突变条件下较C57BL/6J更易出现高血糖。鉴于各组检测条件一致,本研究结果以组间差异为主进行解释。

以往关于瘦素的中枢调控研究多集中于下丘脑弓状核这一能量整合中心^[20]。然而,瘦素的靶点并不局限于此,还包括DVC等其他脑区。研究^[21]证实NTS和DMV区域存在LepR分布;向NTS或第4脑室注射瘦素可显著抑制摄食^[22]。行为学证据也表明激活DVC内的LepR能抑制摄食行为^[23],提示瘦素对DVC具有调控作用。

迷走传入纤维感受胃肠扩张或摄食相关激素信号,并将这些饱感信号传递至NTS。研究表明,瘦素可通过作用于NTS和极后区(AP)神经元上的LepR来调控胃肠来源的饱感信号。特异性敲除NTS/AP神经元的LepRb会显著削弱胆囊收缩素诱导的饱感信号,导致持续摄食和肥胖^[24]。这提示瘦素调控胃肠饱感信号的机制与NTS密切相关。本实验结果显示,高脂饮食导致NTS区LepR阳性神经元数量减少及c-Fos激活受抑,而电针能逆转这一现象,提示电针可能通过增加NTS区的LepR阳性神经元的数量和兴奋性,增强胃肠饱感信号,进而发挥抑制摄食的作用。

NTS神经元携带内脏感觉信号,与前脑及DMV存在密切突触联系^[24]。调控胃肠运动的迷走传出神经元胞体位于DMV,其发出的纤维通过刺激胃肠节后神经元调节胃肠道平滑肌收缩与松弛,参与消化吸收^[4],表明DMV与胃肠运动关系密切。胃排空本身也是重要的饱感信号,而瘦素对其也有调节作用:Cakir等^[25]研究结果显示中枢给予瘦素可降低大鼠胃排空率。高脂饮食可诱发DMV神经元发生形态学改变(如胞体大小、树突分支),并抑制胃投射DMV神经元的兴奋性和反应性^[26]。绝大多数(>95%)DMV神经元是胆碱能的(表达ChAT)^[27],且已被证明表达功能性受体LepRb和信号分子STAT3^[28]。这表明DMV中的瘦素可能直接作用于其胆碱能节前神经元,调节胃排空进而影响饱感。本研究表明电针显著提升DMV内LepR阳性神经元数量,上调瘦素下游分子p-STAT3表达,同时增加ChAT⁺神经元数量及胃排空率。这些结果证实:电针通过促进STAT3磷酸化来调控DMV瘦素敏感性神经元的兴奋性,从而增加胃排空。由于胃排空与饱感密切相关,最终影响了摄食行为。

值得注意的是,本研究显示电针“足三里”增加了DVC的LepR表达水平并促进胃排空,这与Smedh等^[29]报道的“中枢瘦素抑制胃排空”的传统认知不一致,但与“针刺‘足三里’通过激活迷走神经

促进胃肠运动^[30-31]”的研究结果相符。为探究此差异机制,我们进一步检测了LepR敲除(LepR^{-/-})小鼠的胃排空率,结果表明其基础胃排空率显著高于野生型,且电针反而抑制其胃排空,这提示在野生型小鼠中,电针促进胃排空的核心机制依赖于DVC的LepR信号通路的完整性。另有研究表明,将低剂量瘦素分别注入第3脑室或第4脑室均不单独抑制食欲,但将两者同时注入则导致食欲下降和体质量减轻,提示中枢对瘦素的能量代谢反应依赖于多个脑区的协同调控^[32]。下丘脑腹内侧核LepR抑制胃动力^[33],而本研究显示DVC(特别是DMV)LepR表达增强则呈现促进胃动力作用。因此,我们推测LepR在不同核团间的异质性及其相互作用,可能是解释不同研究中瘦素对胃排空效应差异的关键,而具体作用机制尚不明确。

综上所述,本研究表明电针“足三里”可能通过恢复食源性肥胖小鼠DVC的LepR表达水平,进而增加胃排空,以抑制摄食量,最终达到减轻体质量作用。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。徐斌为本刊编委,但未参与本文的审理。

参考文献

- [1] VALENZUELA P L, CARRERA-BASTOS P, CASTILLO-GARCÍA A, et al. Obesity and the risk of cardiometabolic diseases. [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2023, 20(7): 475-494.
- [2] PAN X F, WANG L, PAN A. Epidemiology and determinants of obesity in China [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2021, 9(6): 373-392.
- [3] CIFUENTES L, CAMILLERI M, ACOSTA A. Gastric sensory and motor functions and energy intake in health and obesity-therapeutic implications[J]. *Nutrients*, 2021, 13(4): 1158.
- [4] GOYAL R K, GUO Y, MASHIMO H. Advances in the physiology of gastric emptying[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2019, 31(4): e13546.
- [5] QI Y, LEE N J, IP C K, et al. Agrp-negative arcuate NPY neurons drive feeding under positive energy balance via altering leptin responsiveness in POMC neurons [J]. *Cell Metab*, 2023, 35(6): 979-995.
- [6] TACK J, VERBEURE W, MORI H, et al. The gastrointestinal tract in hunger and satiety signalling [J]. *United European Gastroenterol J*, 2021, 9(6): 727-734.
- [7] WILLIAMS D L, BASKIN D G, SCHWARTZ M W. Hindbrain leptin receptor stimulation enhances the anorexic response to cholecystokinin [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2009, 297(5):R1238-R1246.
- [8] BRUCE K, ZHANG S Y, GARRIDO A N, et al. Pharmacological and physiological activation of TGR5 in the NTS lowers food intake by enhancing leptin-STAT3 signaling [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1):4990.
- [9] 朱凤亚,李梓萌,汤莉洁,等. 针刺治疗食源性肥胖症的机制研究进展[J]. *针刺研究*, 2020, 45(3):255-259.
- ZHU F Y, LI Z M, TANG L J, et al. Progress of the mechanism research of acupuncture in treatment of diet-induced obesity (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2020, 45(3): 255-259.
- [10] 崔立坤. 长期高脂饲料喂养致小鼠肥胖模型的建立[J]. *济宁医学院学报*, 2011, 34(4): 240-242.
- CUI L K. Establishment of obesity mouse model by long-term high fat diet (in Chinese) [J]. *Journal of Jining Medical University*, 2011, 34(4): 240-242.
- [11] GHATTA S, RAMARAO P. Increased contractile responses to 5-Hydroxytryptamine and Angiotensin II in high fat diet fed rat thoracic aorta[J]. *Lipids Health Dis*, 2004, 3: 19.
- [12] 中国针灸学会, 实验动物常用穴位名称与定位 第3部分: 小鼠[J]. *针刺研究*, 2021, 46(5):445-446.
- China Association of Acupuncture-Moxibustion. Nomenclature and location of acupoints commonly used in laboratory animals. Part 3: mice (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2021, 46(5):445-446.
- [13] CASSANO V, LEO A, TALLARICO M, et al. Metabolic and cognitive effects of ranolazine in type 2 diabetes mellitus: data from an in vivo model [J]. *Nutrients*, 2020, 12(2):382.
- [14] 宋鑫,徐天成,王亚玲,等. 电针天枢穴调控食源性肥胖小鼠胃肠运动及相关肠神经机制[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(2):737-742.
- SONG X, XU T C, WANG Y L, et al. Mechanism of electroacupuncture at Tianshu (ST25) acupoint on gastrointestinal motility and related intestinal nerve in diet-induced obesity mice (in Chinese) [J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2024, 39(2): 737-742.
- [15] MASOOD B, MOORTHY M. Causes of obesity: a review [J]. *Clin Med (Lond)*, 2023, 23(4):284-291.
- [16] 金京,史之焯,黄前前,等. 基于数据挖掘技术分析针灸治疗单纯性肥胖的选穴规律[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2022, 24(6): 2472-2478.
- JIN J, SHI Z X, HUANG Q Q, et al. Rules of acupoints selection in treating simple obesity based on data mining (in Chinese) [J]. *World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine*, 2022, 24(6): 2472-2478.

- [17] HUANG K P, GOODSON M L, VANG W, et al. Leptin signaling in vagal afferent neurons supports the absorption and storage of nutrients from high-fat diet[J]. *Int J Obes (Lond)*, 2021, 45(2): 348-357.
- [18] PERAKAKIS N, FARR O M, MANTZOROS C S. Leptin in leanness and obesity: JACC state-of-the-art review [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2021, 77(6): 745-760.
- [19] DE SOUZA G O, DOS SANTOS W O, DONATO J Jr. Ironing out obesity[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2024, 35(6): 456-458.
- [20] LIU J R, LAI F T, HOU Y J, et al. Leptin signaling and leptin resistance [J]. *Med Rev*, 2023(4):363-384.
- [21] SCOTT M M, LACHEY J L, STERNSON S M, et al. Leptin targets in the mouse brain [J]. *J Comp Neurol*, 2009, 514(5):518-532.
- [22] BASSI M, FURUYA W I, ZOCCAL D B, et al. Facilitation of breathing by leptin effects in the central nervous system[J]. *J Physiol*, 2016, 594(6): 1617-1625.
- [23] STEIN L M, LHAMO R, CAO A, et al. Dorsal vagal complex and hypothalamic glia differentially respond to leptin and energy balance dysregulation [J]. *Transl Psychiatry*, 2020, 10(1): 90.
- [24] NEYENS D M, BRENNER L, CALKINS R, et al. CCK-sensitive C fibers activate NTS leptin receptor-expressing neurons via NMDA receptors[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2024, 326(5): R383-R400.
- [25] CAKIR B, KASIMAY O, DEVSEREN E, et al. Leptin inhibits gastric emptying in rats: role of CCK receptors and vagal afferent fibers[J]. *Physiol Res*, 2007, 56(3): 315-322.
- [26] BHAGAT R, FORTNA S R, BROWNING K N. Exposure to a high fat diet during the perinatal period alters vagal motoneurone excitability, even in the absence of obesity[J]. *J Physiol*, 2015, 593(1): 285-303.
- [27] TRAVAGLI R A, HERMANN G E, BROWNING K N, et al. Brainstem circuits regulating gastric function[J]. *Annu Rev Physiol*, 2006, 68: 279-305.
- [28] BUYSE M, OVESJÖ M L, GOÏOT H, et al. Expression and regulation of leptin receptor proteins in afferent and efferent neurons of the vagus nerve[J]. *Eur J Neurosci*, 2001, 14(1): 64-72.
- [29] SMEDH U, HAKANSSON M L, MEISTER B, et al. Leptin injected into the fourth ventricle inhibits gastric emptying[J]. *Neuroreport*, 1998, 9(6): 927-931.
- [30] LI Y Q, ZHU B, RONG P J, et al. Neural mechanism of acupuncture-modulated gastric motility [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(5):709-716.
- [31] LI Y Q, ZHU B, RONG P J, et al. Effective regularity in modulation on gastric motility induced by different acupoint stimulation[J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(47): 7642-7648.
- [32] SEAMON M, AHN W, LI A J, et al. Leptin receptor-expressing neurons in ventromedial nucleus of the hypothalamus contribute to weight loss caused by fourth ventricle leptin infusions[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2019, 317(4): E586-E596.
- [33] 周吕,王礼建,袁勃,等. 下丘脑瘦素对大鼠胃运动的作用[J]. *诊断学理论与实践*, 2006, 5(1): 20-23.
- ZHOU L, WANG L J, YUAN B, et al. The effect of the hypothalamic leptin on gastric motility in rats (in Chinese)[J]. *Journal of Diagnostics Concepts & Practice*, 2006, 5(1): 20-23.

收稿日期:2025-07-19 修回日期:2025-11-17