DOI: 10.11844/cjcb.2026.11.0006
中国细胞生物学学报 Chinese Journal of Cell Biology 2026, 48(11): 2561–2574 CSTR: 32200.14.cjcb.2026.11.0006

$HMnO_2$-DMRT2纳米材料通过稳定线粒体动力学重塑脂肪组织改善胰岛素抵抗

张梅梅[1,2,3] 永佳蕙[2,3] 王子杰[3,4] 王娟[2,3] 沈鑫[2,3] 曾璐[2,3] 杨毅宁[2,3] 陶静[2,3]*

([1]石河子大学临床医学院, 石河子 832003; [2]心脏及泛血管医学诊疗中心, 新疆维吾尔自治区人民医院, 乌鲁木齐 830001; [3]新疆心脏血管稳态与再生医学研究重点实验室, 新疆维吾尔自治区人民医院, 乌鲁木齐 830001; [4]新疆大学生命科学与技术学院, 乌鲁木齐 830001)

摘要 该研究目的是探究$HMnO_2$-DMRT2纳米材料对高脂饮食(HFD)诱导的胰岛素抵抗(IR)的改善作用及机制。首先, 合成pH响应性的中空二氧化锰($HMnO_2$)纳米粒负载双性相关及Mab-3相关转录因子2(*DMRT2*)基因($HMnO_2$-DMRT2); 投射电子显微镜(TEM)、动态光散射(DLS)、X射线光电子能谱(XPS)技术对纳米材料进行表征, CCK-8检测细胞毒性。其次, 进行体内实验, 将小鼠分成Control组、HFD组、HFD+$HMnO_2$组、HFD+$HMnO_2$-DMRT2组(每组6只); 葡萄糖耐量实验(GTT)和胰岛素耐量实验(ITT)评估糖代谢情况; HE染色检测脂肪组织形态; IHC评估解偶联蛋白1(UCP-1)蛋白水平; ELISA检测肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白介素-1β(IL-1β)、白介素-6(IL-6)、白介素-10(IL-10)、脂联素(ADP)含量; Western blot检测DMRT2、葡萄糖转运蛋白4(GLUT4)、蛋白激酶B(AKT)、磷酸化AKT(p-AKT)、UCP-1和Prdm16的蛋白表达水平; qPCR检测*Ucp-1*和*Prdm16* mRNA表达情况。再次, 进行体外实验, 将3T3-L1脂肪细胞分为Control组、IR组、IR+$HMnO_2$组、IR+DMRT2组、IR+$HMnO_2$-DMRT2组。采用2-DG摄取实验检测葡萄糖摄取水平; 试剂盒检测超氧化物歧化酶(SOD)活性、还原型谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)含量; MitoSOX Red检测线粒体ROS水平; Western blot检测DMRT2、线粒体融合蛋白1/2(MFN1/2)、视神经萎缩蛋白1(OPA1)、OMA1锌金属肽酶(OMA1)、发动蛋白相关蛋白1(Drp1)、磷酸化Drp1(p-Drp1)的蛋白表达水平。表征结果显示$HMnO_2$-DMRT2形态保持完整, 无明显聚集, 粒径分析结果显示其内径约(103.50±28.04) nm, 由氧(O)、锰(Mn)和碳(C)元素构成, Zeta电位为(–16.20±9.66) mV, 包封率为85.78%±3.01%, 载药量为7.73%, 且DMRT2质粒在pH5.5条件下的释放速率明显快于其在pH7.4条件下, CCK-8结果显示各组的细胞存活率没有差异, 表明$HMnO_2$-DMRT2纳米材料在体外未表现出明显的细胞毒性。动物实验结果显示, 与HFD组相比, HFD+$HMnO_2$组在第6、9周体质量无明显变化, 空腹血糖水平和AUC显著降低, GLUT4和p-AKT蛋白表达水平显著增加(P<0.001), 脂肪细胞体积仍明显增大, 可见少量炎性细胞浸润, UCP-1和Prdm16 mRNA和蛋白表达水平无显著变化; HFD+$HMnO_2$-DMRT2组小鼠体质量降低(P<0.05), 空腹血糖水平及AUC显著降低, 棕色脂肪相关基因UCP-1和Prdm16的mRNA和蛋白表达水平均显著增加(P<0.001), 脂肪细胞体积显著缩小, 脂质沉积明显减少。细胞实验显示, 与IR组相比, IR+$HMnO_2$组、IR+DMRT2组及IR+$HMnO_2$-DMRT2组DMRT2、Drp1及p-Drp1表达均被显著逆转, MitoSOX Red荧光信号显著减弱, GSH含量和SOD酶活性回升, MDA含量下降, 葡萄糖摄取水平回升(P<0.001)。结果表明, 该研究制备的$HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒可能通过缓解氧化应激和递送*DMRT2*基因协同促进脂肪米色化, 在稳定线粒体动力学及重塑脂肪组织中展现出潜在的调节作用, 这为未来探索靶向治疗胰岛素抵抗提供了初步的实验依据。

收稿日期: 2026-01-23 接受日期: 2026-09-14
新疆维吾尔自治区“天山英才”培养计划青年拔尖人才项目(批准号: 2023TSYCCX0048)资助的课题
*通信作者。Tel: 18935903292, E-mail: taojing_xj@163.com
Received: January 23, 2026 Accepted: September 14, 2026
This work was supported by the Young Top-Notch Talents Project of “Tianshan Talent” Program of Xinjiang Uygur Autonomous Region (Grant No.2023TSYCCX0048)
*Corresponding author. Tel: +86-18935903292, E-mail: taojing_xj@163.com

关键词 胰岛素抵抗; $HMnO_2$-DMRT2; 线粒体动力学; 脂肪重塑

$HMnO_2$-DMRT2 Nanomaterials Ameliorate Insulin Resistance by Stabilizing Mitochondrial Dynamics and Remodeling Adipose Tissue

ZHANG Meimei[1,2,3], YONG Jiahui[2,3], WANG Zijie[3,4], WANG Juan[2,3], SHEN Xin[2,3], ZENG Lu[2,3], YANG Yining[2,3], TAO Jing[2,3]*

([1]*Medical College of Shihezi University, Shihezi 832003, China*; [2]*the Cardiac and Panvascular Medicine Diagnosis and Treatment Center, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, China*; [3]*Xinjiang Key Laboratory of Cardiovascular Homeostasis and Regeneration Research, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, China*; [4]*College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830001, China*)

Abstract This study aimed to investigate the therapeutic effects and underlying mechanisms of $HMnO_2$-DMRT2 nanomaterials on HFD (high-fat diet)-induced IR (insulin resistance). Firstly, pH-responsive $HMnO_2$ (hollow manganese dioxide) nanoparticles were synthesized to load the *DMRT2* (double sex and Mab-3 related transcription factor 2) gene ($HMnO_2$-DMRT2). The nanomaterials were characterized by TEM (transmission electron microscopy), DLS (dynamic light scattering), and XPS (X-ray photoelectron spectroscopy) technology, and cytotoxicity was assessed using CCK-8 (cell counting kit-8) assay. Secondly, for the *in vivo* experiments, mice were randomly allocated into four groups (n=6 per group): Control group, HFD group, HFD+$HMnO_2$ group, and HFD+$HMnO_2$-DMRT2 group. Glucose metabolism was evaluated by GTT (glucose tolerance test) and ITT (insulin tolerance test). Adipose tissue morphology was examined by HE staining. UCP-1(uncoupling protein 1) protein levels were assessed by IHC (immunohistochemistry). The levels of TNF-α (tumor necrosis factor-α), IL-1β (interleukin-1β), IL-6 (interleukin-6), IL-10 (interleukin-10), and ADP (adiponectin) were measured by ELISA. The protein expression levels of DMRT2, GLUT4 (glucose transporter type 4), AKT (protein kinase B), p-AKT (phosphorylated AKT), UCP-1, and Prdm16 were detected by Western blot. The mRNA expression of *Ucp-1* and *Prdm16* was detected by qPCR. Finally, *in vitro* experiments, 3T3-L1 adipocytes were divided into five groups: Control group, IR group, IR+$HMnO_2$ group, IR+DMRT2 group, and IR+$HMnO_2$-DMRT2 group. Glucose uptake was measured using the 2-DG uptake assay. SOD (superoxide dismutase) activity, GSH (glutathione), and MDA (malondialdehyde) levels were detected using commercial kits. Mitochondrial ROS (reactive oxygen species) levels were detected using MitoSOX Red staining. The protein expression levels of DMRT2, MFN1/2 (mitofusin 1/2), optic atrophy protein 1 (OPA1), OMA1 (OMA1 zinc metallopeptidase), Drp1 (dynamin related protein 1), and p-Drp1 (phosphorylated Drp1) were detected by Western blot. Characterization results indicated that the $HMnO_2$-DMRT2 nanoparticles maintained an intact morphology without significant aggregation. Particle size analysis revealed an inner diameter of approximately (103.50±28.04) nm. The nanoparticles were composed of O (oxygen), Mn (manganese), and C (carbon) elements, with a Zeta potential of (–16.20±9.66) mV. The encapsulation efficiency was 85.78%±3.01%, and the drug loading capacity was 7.73%. Furthermore, the release rate of DMRT2 plasmid from the nanoparticles was significantly faster at pH5.5 than at pH7.4. CCK-8 assay results showed no significant differences in cell viability among the groups, indicating that the $HMnO_2$-DMRT2 nanomaterials possess no obvious cytotoxicity *in vitro*. *In vivo* experimental results demonstrated that, compared to the HFD group, the HFD+$HMnO_2$ group showed no significant change in body weight at weeks 6 and 9, but exhibited a significant decrease in fasting blood glucose levels and AUC (area under the curve), along with a significant increase in GLUT4 and p-AKT protein expression (P<0.001). However, adipocytes size remained markedly increased, with some inflammatory

cell infiltration observed, and there were no significant changes in the mRNA and protein expression levels of UCP-1 and Prdm16. In contrast, mice in the HFD+$HMnO_2$-DMRT2 group experienced weight loss (P<0.05), a significant increase in glucose uptake levels, a significant reduction in fasting blood glucose levels and AUC. The mRNA and protein expression levels of the brown fat-related genes UCP-1 and Prdm16 were both significantly increased (P<0.001). Moreover, adipocyte size was significantly reduced, and lipid accumulation was markedly decreased. Mechanistic studies revealed that, compared to the IR group, the expression of DMRT2, Drp1, and p-Drp1 was significantly reversed in the IR+$HMnO_2$, IR+DMRT2, and IR+$HMnO_2$-DMRT2 groups. Additionally, the MitoSOX Red fluorescence signal was significantly reduced, the GSH content and SOD enzyme activity recovered, the MDA content decreased, and glucose uptake was restored (P<0.001). These findings suggest that the prepared $HMnO_2$-DMRT2 nanoparticles may synergistically promote adipose browning by clearing oxidative stress and delivering the *DMRT2* gene, exhibiting a potential regulatory role in stabilizing mitochondrial dynamics and remodeling adipose tissue, which provides preliminary experimental evidence for targeting insulin resistance in the future.

Keywords insulin resistance; $HMnO_2$-DMRT2; mitochondrial dynamics; adipose remodeling

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM), 是一种流行的慢性疾病, 影响约10%的20~79岁人群, 全球累计超5亿人[1]。胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是T2DM和肥胖症的共同病理基础, 其特征是机体靶组织对胰岛素信号的敏感性降低, 导致血糖稳态失衡与代谢紊乱[2]。近年来研究发现脂肪组织, 特别是白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)的功能紊乱和慢性炎症是导致全身性IR的关键因素之一。WAT炎症浸润和脂肪细胞病态性肥大, 可破坏机体的葡萄糖和脂质代谢平衡[3]。因此, 靶向脂肪组织重塑, 改善其能量代谢, 被认为是治疗IR的有效途径[4]。

脂肪组织功能重塑与线粒体能量代谢密切相关。棕色脂肪细胞与米色脂肪细胞中活跃的线粒体生物能量学过程, 在能量消耗与热量产生中发挥核心作用[5]。在IR状态下, 脂肪细胞常出现线粒体动力学失衡, 表现为过度裂变, 线粒体碎片化、功能障碍和活性氧(reactive oxygen species, ROS)过量生成, 进而加剧胰岛素信号通路紊乱[6]。因此, 恢复线粒体融合与裂变的平衡, 可能是改善脂肪细胞功能、缓解脂肪组织代谢紊乱及减轻IR的潜在干预策略。

双性相关及Mab-3相关转录因子2(double sex and Mab-3 related transcription factor 2, *DMRT2*)基因属于DMRT基因家族。早期研究表明, DMRT2主要作为经典转录因子参与胚胎体节发育、骨骼骨化以及左右对称性建立等过程。然而, 近年来其在能量代谢领域的调控功能正逐渐受到关注。研究表明, DMRT家族成员在肥胖人群不同部位的脂肪组织中呈现高度差异性表达[7]。在病理状态下, DMRT2的表达与脂肪细胞的胰岛素敏感性密切相关, 其在IR状态的脂肪细胞中呈显著低表达; 而过表达DMRT2能有效抑制促炎因子的释放, 并通过调控代谢相关核受体信号通路, 直接改善受损脂肪细胞的葡萄糖摄取水平[8]。这些证据表明, DMRT2是调控脂肪细胞糖脂代谢、缓解脂肪组织炎症的关键内源性制动因子。因此, 靶向恢复脂肪组织中DMRT2的表达有望成为逆转胰岛素抵抗的潜在治疗策略。然而, 单纯的基因治疗手段面临递送效率低、体内稳定性差及靶向性不足等瓶颈。

为克服上述障碍, 纳米递送系统展现出独特优势, 其中中空二氧化锰(hollow manganese dioxide, $HMnO_2$)纳米材料不仅具备高效的ROS清除能力, 模拟天然SOD酶活性以缓解氧化应激, 其特有的中空结构与pH响应性降解行为, 也使其成为理想的基因递送载体。在临床转化可行性与安全性方面, $HMnO_2$相比于传统非降解型无机纳米材料(如金、二氧化硅等)具有显著优势。其在弱酸性病理微环境(如炎性脂肪组织、细胞内体/溶酶体)中可发生智能自响应性降解, 将其自身转化为氧气和游离的二价锰离子(Mn^{2+})。Mn作为人体必需的微量元素, 在生理剂量下具有极高的生物相容性, 且能随胆汁与尿液被排出体外, 从而有效规避了材料在体内长期滞留所引发的蓄积毒性。这种优异的生物可降解性与代谢安全性, 赋予了$HMnO_2$纳米系统更广阔的临床药用与转化前景。研究显示, 基于MnO_2的纳米系统可有效协同基因治疗与氧化还原调控, 提升治疗

的精准性与效果[9]。据此, 本研究设计并构建了一种新型$HMnO_2$-DMRT2纳米材料, 旨在通过靶向递送*DMRT2*基因, 在脂肪组织中清除过量ROS并稳定线粒体动力学平衡, 从而重塑脂肪组织、缓解胰岛素抵抗。该策略有望为代谢性疾病的靶向治疗提供新的思路和实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料 高脂肪饲料、Eagle培养基(货号: D12492、M0643)购自美国Research Diets公司; 高锰酸钾水溶液(货号: 223468)购自美国Sigma-Aldrich公司; DMRT2过表达质粒(货号: RC213192)购自美国OriGene公司; BCA蛋白浓度测定试剂盒(货号: P0010)购自上海碧云天生物技术股份有限公司; 丙二醛(malondialdehyde, MDA)测定试剂盒(货号: A003-1-2)、还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)测定试剂盒(货号: A006-2-1)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)分型测定试剂盒(货号: A001-2)均购自南京建成生物工程研究所; 肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)酶联免疫试剂盒(货号: CSB-E04741m)、白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)酶联免疫试剂盒(货号: CSB-E08054m)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)酶联免疫试剂盒(货号: CSB-E04639m)、白介素-10(interleukin-10, IL-10)酶联免疫试剂盒(货号: CSB-E04594m-IS)、脂联素(adiponectin, ADP)酶联免疫试剂盒(货号: CSB-E04740m)均购自武汉华美生物工程有限公司; 2-[*N*-(7-硝基-2,1,3-苯并噁二唑-4-基)氨基]-2-脱氧-*D*-葡萄糖(2-[*N*-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl) amino]-2-deoxy-*D*-glucose, 2-NBDG)(货号: HY-116215)购自美国MCE公司; 线粒体活性氧(ROS)荧光探针MitoSOX Red(货号: M36008)、DMRT2兔多克隆抗体(货号: PA5-41694, 稀释比例1:1 000)购自美国ThermoFisher Scientific公司; 动力相关蛋白1(dynamin-related protein 1, Drp1)(1:1 000)(货号: ab184247)、磷酸化Drp1(phosphorylated Drp1, p-Drp1)(1:1 000)(货号: ab314755)、线粒体融合蛋白1(mitofusin 1, MFN1)(1:1 000)(货号: ab221661)、线粒体融合蛋白2(mitofusin 2, MFN2)(1:1 000)(货号: ab124773)、解偶联蛋白1(uncoupling protein 1, UCP-1)(1:1 000)(货号: ab234430)、PR结构域蛋白16(PR domain-containing zinc finger protein 16, Prdm16)(1:1 000)(货号: ab303534)、GLUT4(1:1 000)(货号: ab313775)、磷酸化AKT(phosphorylated AKT, p-AKT)(1:1 000)(货号: ab38449)、蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)(1:1 000)(货号: ab8805)、β-actin(1:2 000)一抗(货号: ab8226)、2-DG葡萄糖摄取测定试剂盒(货号: ab136955)均购自英国Abcam公司; 视神经萎缩蛋白1(optic atrophy protein 1, OPA1)(1:5 000)(货号: 27733-1-AP)、OMA1锌金属肽酶(OMA1 zinc metallopeptidase, OMA1)(1:5 000)(货号: 67449-1-Ig)、GAPDH内参一抗(货号: 60004-1-IG)均购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.1.2 仪器 纳米粒度及Zeta电位分析仪(型号: Zetasizer Ultra)购自英国Malvern Panalytical公司; X射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)酶标仪(型号: K-Alpha)、CO_2恒温培养箱(型号: Multiskan MK3)、实时PCR扩增仪(型号: CFX Connect)、透射电子显微镜(transmission electron-microscope, TEM)(型号: Verios 5 XHR SEM型)购自美国ThermoFisher Scientific公司; 荧光显微镜(型号: DMi8型)购自德国Leica公司。

1.2 方法

1.2.1 *实验动物* 雄性C57BL/6小鼠(4周龄, 12~14 g)购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 实验动物许可证号: SCXK(湘) 2019-0004。实验小鼠维持自由进食和饮水, 饲养于光暗比为12 h/12 h的SPF环境中。所有实验程序经新疆维吾尔自治区人民医院动物伦理委员会批准(批准号: KY202412013)。

1.2.2 *实验细胞* 小鼠前脂肪细胞3T3-L1细胞系购自美国ATCC(American Type Culture Collection), 细胞培养于含有10%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)的Dulbecco改良Eagle培养基(Dulbecco's modified Eagle medium, DMEM)中, 置于37 ℃、5% CO_2恒温培养箱中培养。为了使3T3-L1前脂肪细胞分化为成熟脂肪细胞, 将3T3-L1细胞在含10% FBS、0.5 mmol/L IBMX, 10 μg/mL胰岛素和0.25 mmol/L DEX的DMEM培养基中进行初始分化。2 d后, 将分化培养基换为维持培养基(含10% FBS和10 μg/mL胰岛素的DMEM培养基)再培养6~8 d。在这段时间之后, 至少95%的细胞积累了脂肪滴, 成熟的脂肪细胞被用于进一步的实验。

1.2.3 *$HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒制备* 采用Stober

法制备二氧化硅纳米球作为硬模板。然后，通过间苯二酚–甲醛树脂的原位聚合与高锰酸钾的后续氧化反应，在SiO_2模板表面均匀包覆一层MnO_2壳层，形成SiO_2@MnO_2核壳结构。最后，利用氢氧化钠溶液选择性刻蚀去除SiO_2内核，得到中空二氧化锰($HMnO_2$)，并采用聚合物聚烯丙基胺盐酸盐[poly (allylamine hydrochloride), PAH]与聚丙烯酸[poly (acrylic acid), PAA]逐层自组装法对其表面进行功能化修饰，获得最终产物[10]。随后，将1 mL 10 mg/mL的聚丙烯盐酸盐溶液加入终产物$HMnO_2$液中，室温搅拌30 min，经PBS洗涤并离心(4 ℃、13 000 r/min、25 min)获得带正电的$HMnO_2$-MSA-2-PAH纳米粒子。将1 μg DMRT2质粒加入PAH修饰的$HMnO_2$溶液中，将混合溶液在4 ℃下振荡15 min以获得$HMnO_2$-DMRT2。DMRT2质粒的投料质量固定为1 μg，PAH修饰的$HMnO_2$纳米颗粒与DMRT2质粒的投料质量比为4:1[11-12]。

1.2.4 $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒表征 采用TEM对$HMnO_2$、$HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒的表观形貌进行表征。利用DLS技术测定$HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒的水合粒径和Zeta电位。采用XPS光谱检测$HMnO_2$-DMRT2的元素构成。

1.2.5 $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒中DMRT2的包封率与载药量 将所得溶液过滤，使用紫外可见分光光度计测上清260 nm处吸光度(D)值，使用D_{260}=50 μg DNA换算质粒DNA浓度，计算包封率(the encapsulation efficiency, EE)和载药量(drug loading, DL)。EE和DL的计算公式如下[13]，其中a为制备时投入的DMRT2质粒DNA总质量，b为分离后上清液中游离DMRT2质粒DNA的质量，c为纳米颗粒的总质量，d为聚合物的总质量。

$$\mathrm{EE}\ (\%) = \frac{a-b}{c} \times 100$$

$$\mathrm{DL}\ (\%) = \left[\frac{(a-b)\times d}{c-(a-b)}\right] / a \times 100$$

1.2.6 $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒中DMRT2质粒的释放率 为了评估$HMnO_2$-DMRT2的体外DMRT2质粒释放行为，将5 mg $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒分散在1 mL PBS(pH7.4或pH5.5)中，放入透析袋中，将透析袋完全浸没于9 mL PBS中，并于37 ℃下孵育，监测8 h内DMRT2质粒的体外释放情况。结束后收集1 mL外部样品溶液，并提供等体积的新鲜培养基。通过HPLC-ELSD测定释放的DMRT2质粒浓度。

1.2.7 CCK-8检测细胞毒性 通过CCK-8测定法评估$HMnO_2$-DMRT2的细胞毒性。首先，将3T3-L1细胞在96孔板中培养至密度为10^4/孔，随后，将1、2、4、8、16、32、64、128、256 μg/mL的$HMnO_2$-DMRT2分别与细胞共培养72 h，每24 h检测1次。检测时取出每个孔中的DMEM培养基，并用PBS轻轻洗涤2次后，将细胞在制备的CCK-8溶液中培养2 h，以使用酶标仪检测450 nm处的吸收值，以获得反映相对细胞活力的D值[14]。

1.2.8 小鼠胰岛素抵抗模型构建及处理 将雄性C57BL/6小鼠随机分成对照组(Control)、肥胖模型组(HFD)、$HMnO_2$治疗组(HFD+$HMnO_2$)、$HMnO_2$-DMRT2治疗组(HFD+$HMnO_2$-DMRT2)，每组6只。Control组常规饮食喂养，其余各组均通过高脂饮食(脂肪含量60%)连续喂养6周以诱导构建肥胖模型[15]，造模成功后，HFD组小鼠恢复常规饮食。体内注射剂量设定为5 mg/kg，该剂量确立依据于本课题组前期探索及相关二氧化锰纳米材料的体内药效学文献[16]，可在保证脂肪靶向清除ROS疗效的同时，规避高剂量可能引发的系统性金属蓄积毒性。造模6周后，将HFD+$HMnO_2$组小鼠按5 mg/kg的剂量经尾静脉注射$HMnO_2$纳米溶液，HFD+$HMnO_2$-DMRT2组小鼠则静脉注射5 mg/kg HMnO2-DMRT2纳米溶液，每2 d注射1次，持续干预4周[16]。实验结束后，对实验小鼠进行拍照，记录各组小鼠体质量变化并进行葡萄糖耐量实验和胰岛素耐量实验。小鼠安乐死后，收集腹股沟和附睾脂肪进行组织学检测，收集血液样本分离血清进行ELISA检测。

1.2.9 葡萄糖耐量实验(glucose tolerance test, GTT) 小鼠禁食16 h，腹腔注射1g/kg葡萄糖。在0、30、60、90和120 min测量血糖浓度，并计算各组曲线下面积。

1.2.10 胰岛素耐量实验(insulin tolerance test, ITT) 小鼠禁食6 h，腹腔注射0.35 U/kg胰岛素。在0、30、60、90和120 min测量血糖浓度，并计算各组曲线下面积。

1.2.11 HE染色 取正常和高脂饲料喂养的小鼠腹股沟和附睾脂肪组织，置于室温下使用10%甲醛固定24 h，石蜡包埋，切片，在室温下进行苏木精染色35 min、伊红染色12 min，光学显微镜下观察细胞形态，使用ImageJ软件分析脂肪细胞的直径。

1.2.12 免疫组织化学染色(immunohistochemistry, IHC)

将脂肪组织石蜡切片脱蜡, 水合, 然后与100 μL 3% H_2O_2在室温下孵育10 min。PBS洗涤后, 滴加5%牛血清白蛋白溶液在室温下封闭20 min。分别依次加入50 μL UCP-1一抗(37 ℃孵育1 h)和二抗(37 ℃孵育1 h), 室温下滴加DAB显色液显色10 min。室温下用苏木精复染切片, 脱水, 透明化, 然后在显微镜下观察。

1.2.13 ELISA 根据制造商的说明, 通过小鼠试剂盒测定小鼠脂肪组织中TNF-α、IL-1β、IL-6、抵抗素、IL-10、脂联素(adiponectin, ADP)含量。

1.2.14 Western blot 收集各组样本, 其中脂肪组织包括附睾白色脂肪组织(epididymal white adipose tissue, eWAT)和腹股沟白色脂肪组织(inguinal white adipose tissue, iWAT)。加入裂解液提取总蛋白, 将蛋白样品与上样缓冲液混合, 取50 μg蛋白上样, 经电泳分离后将其转移至PVDF膜。使用脱脂奶粉于室温封闭2 h, 随后用含0.1% Tween-20的TBST溶液洗膜。根据各项实验的检测指标, 分别加入DMRT2、GLUT4、p-AKT、AKT、UCP1、Prdm16、MFN2、OPA1、OMA1、Drp1及p-Drp1一抗, 于4 ℃孵育过夜。洗膜后加入辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的二抗, 于室温孵育2 h。经增强化学发光法显色后, 使用ImageJ软件进行灰度值分析, 以β-actin为内参, 计算目标蛋白的相对表达量。

1.2.15 qPCR 根据逆转录试剂盒的步骤, 从脂肪组织或细胞中提取总mRNA, 设置逆转录反应条件为: 42 ℃逆转录反应15 min(cDNA第一链合成), 85 ℃孵育5 min(逆转录酶灭活), 4 ℃保存备用。随后以cDNA为模板, 使用SYBR Green qPCR预混液于实时荧光定量PCR仪上进行扩增反应。PCR扩增程序设置为: 95 ℃预变性30 s; 95 ℃变性5 s, 60 ℃退火与延伸30 s, 共进行40个循环; 反应结束后进行熔解曲线分析以确认扩增特异性。引物序列信息如表1所示。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算基因相对表达量, 并以*GAPDH*作为内参基因。

1.2.16 细胞胰岛素抵抗模型构建及处理 将分化为成熟脂肪细胞的3T3-L1细胞随机分成5组: 对照组(Control)、模型组(IR)、$HMnO_2$干预组(IR+$HMnO_2$)、DMRT2质粒组(IR+DMRT2)、$HMnO_2$-DMRT2干预组(IR+$HMnO_2$-DMRT2)。Control组为正常培养的成熟脂肪细胞, 其余各组均加入10 ng/mL TNF-α孵育处理24 h, 以诱导建立脂肪细胞胰岛素抵抗模型[17]。模型诱导前, IR+DMRT2组按照参考文献使用2 μg DMRT2质粒[12], IR+$HMnO_2$-DMRT2组采用含有相同DMRT2含量的对应材料进行, IR+$HMnO_2$组$HMnO_2$剂量同等于IR+$HMnO_2$-DMRT2组中的$HMnO_2$水平, 各分组均处理48 h。结合本研究CCK-8细胞毒性筛选结果, 该材料在1~256 μg/mL范围内均具有优异的细胞相容性。为在安全窗口内获得最佳转染与治疗效率, 本研究依据前期转染优化实验并参考相关研究, 将$HMnO_2$与DMRT2质粒质量比为4:1的比例关系, 并统一以2 μg DMRT2质粒为基准计算各组给药用量。

1.2.17 2-DG摄取实验检测葡萄糖摄取水平 首先将分化的3T3-L1脂肪细胞进行8 h的无血清饥饿处理。随后, 用PBS(pH7.4)清洗细胞, 并将其置于37 ℃下在含有1 μmol/L胰岛素的Krebs-Ringer碳酸氢盐HEPES缓冲液中孵育30 min, 接着加入终浓度为10 mmol/L的2-DG, 并在37 ℃下继续孵育20 min。反应结束后, 加入中和缓冲液裂解细胞并中和裂解液体系的pH值, 随后于4 ℃下12 000 ×*g*离心5 min去除细胞碎片。将剩余的裂解液用测定缓冲液稀释。葡萄糖摄取量通过酶促反应进行检测: 该反应将2-DG6P氧化生成NADPH, 然后通过谷胱甘肽还原酶放大并用于生成谷胱甘肽。谷胱甘肽与加入反应体系的底物DNTB反应生成TNB, TNB的吸光度随后由分光光度计在412 nm处测定。葡萄糖摄取值通过BCA蛋白测定确定的蛋白水平进行标准化。每项实验均设置3个重复, 结果以倍数变化(处理组/对照组)的形式呈现, 其中对照组设定为100%[8]。

表1 引物列表

Table 1 Primer list

基因 Gene	正向引物(5′→3′) Forward primer (5′→3′)	反向引物(5′→3′) Reverse primer (5′→3′)
Ucp-1	CAA AAA CAG AAG GAT TGC CGA AA	TCT TGG ACT GAG TCG TAG AGG
Prdm16	CCC CAC ATT CCG CTG TGA T	CTC GCA ATC CTT GCA CTC A
GAPDH	TGG CCT TCC GTG TTC CTA C	GAG TTG CTG TTG AAG TCG CA

1.2.18 细胞氧化应激水平检测 严格按照试剂盒说明书的步骤检细胞裂解液中SOD酶活性、GSH和MDA的含量。

1.2.19 MitoSOX Red检测线粒体ROS水平 将经纳米颗粒处理的脂肪细胞用PBS清洗细胞2次, 随后加入5 μmol/L MitoSOX Red，并在37 ℃黑暗条件下孵育10 min, 结束后采用PBS清洗2次, 并在荧光显微镜下观察, 最后定量分析[17]。

1.3 统计学分析

所有统计分析均使用GraphPad Prism 9进行。符合正态分布的计量资料采用单因素方差分析进行多组间总体比较，组间两两比较采用Tukey多重比较检验。结果以平均值±标准差表示。以$P<0.05$为差异具有统计学意义。

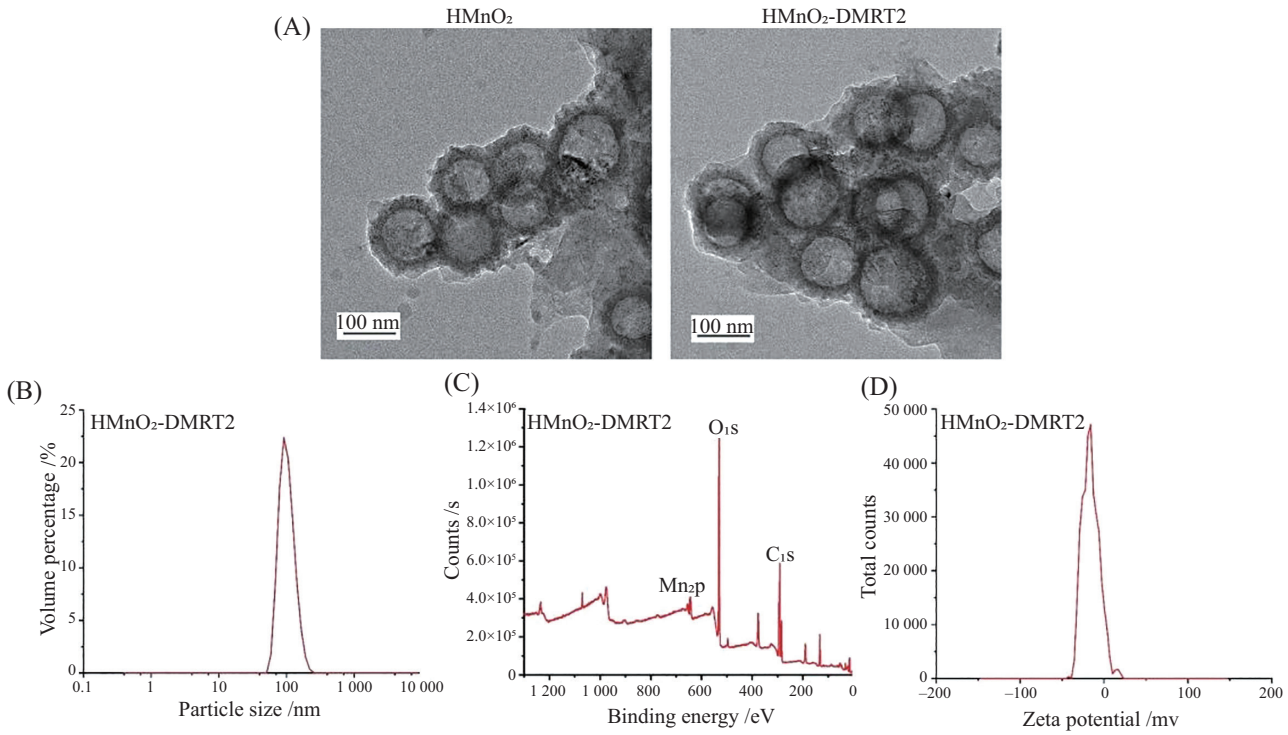
2 结果

2.1 $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒的表征

TEM图像显示$HMnO_2$为单分散的规则中空球体, 而负载DMRT2后, 纳米颗粒形态保持完整, 无明显聚集, 内径约为100 nm左右(图1A)。粒度分析结果与上述TEM结果一致, $HMnO_2$-DMRT2的粒径主要为(103.50±28.04) nm(图1B)。XPS检测$HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒的元素构成, 结果显示其由氧(O)、锰(Mn)和碳(C)元素构成, 说明DMRT2负载成功(图1C)。$HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒的Zeta电位为(–16.20±9.66) mV, 提示其具有良好的静电稳定性。

2.2 $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒的体外性能评价

对$HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒的体外性能进行评估发现, DMRT2在$HMnO_2$-DMRT2中的包封率可达85.78%±3.01%, 载药量为7.73%(图2A), 这表明$HMnO_2$空心纳米结构能够高效地捕获和封装药物分子。随后, 研究考察了$HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒体外释放DMRT2质粒的效率, 结果显示在pH5.5的酸性条件下, DMRT2质粒的释放效率明显高于pH7.4。在8 h内, 酸性环境下的累积释放效率接近80.00%, 而在生理环境pH7.4下的释放效率仅为40.00%左右(图2B)。CCK-8结果显示所有浓度组的细胞存活率均显著上升($P<0.001$), 表明该纳米颗粒在所测试的

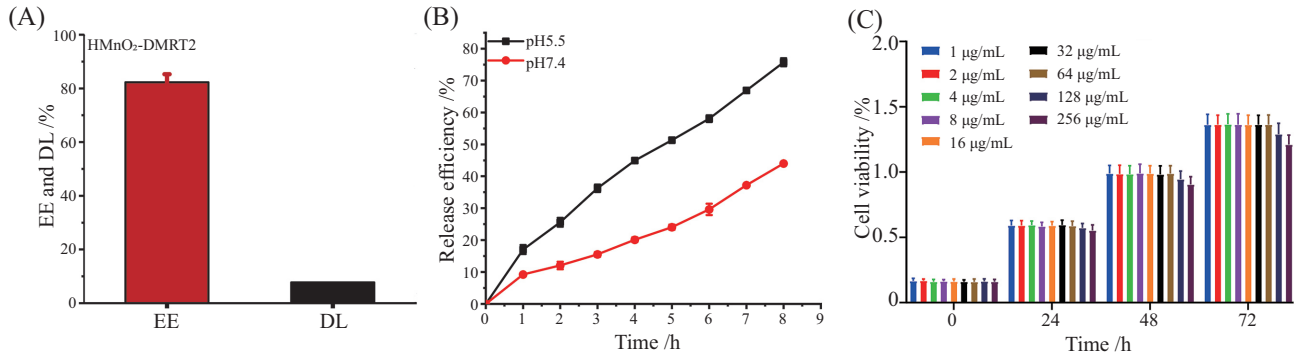


A: $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒的TEM图; B: $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒的粒径分布; C: XPS光谱检测$HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒的元素构成; D: $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒Zeta电位。$HMnO_2$为中空二氧化锰, $HMnO_2$-DMRT2为负载DMRT2的中空二氧化锰。

A: TEM image of HMnO2-DMRT2 nanoparticles; B: particle size distribution of HMnO2-DMRT2 nanoparticles; C: XPS spectrum showing the elemental composition of HMnO2-DMRT2 nanoparticles; D: Zeta potential of HMnO2-DMRT2 nanoparticles. HMnO2 represents hollow manganese dioxide; HMnO2-DMRT2 represents DMRT2-loaded hollow manganese dioxide.

图1 $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒表征

Fig.1 Characterization of $HMnO_2$-DMRT2 nanoparticles



A: $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒中DMRT2质粒的EE与DL; B: DMRT质粒的释放率; C: CCK-8检测细胞活力。n=3。

A: EE and DL of DMRT2 plasmid in HMnO2-DMRT2 nanoparticles; B: release rate of DMRT2 plasmid; C: cell viability assessed by CCK-8 assay. n=3.

图2 $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒体外性能评价

Fig.2 *In vitro* performance evaluation of $HMnO_2$-DMRT2 nanoparticles

浓度和时间内, 对细胞无明显毒性(图2C)。

2.3 $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒可改善胰岛素抵抗

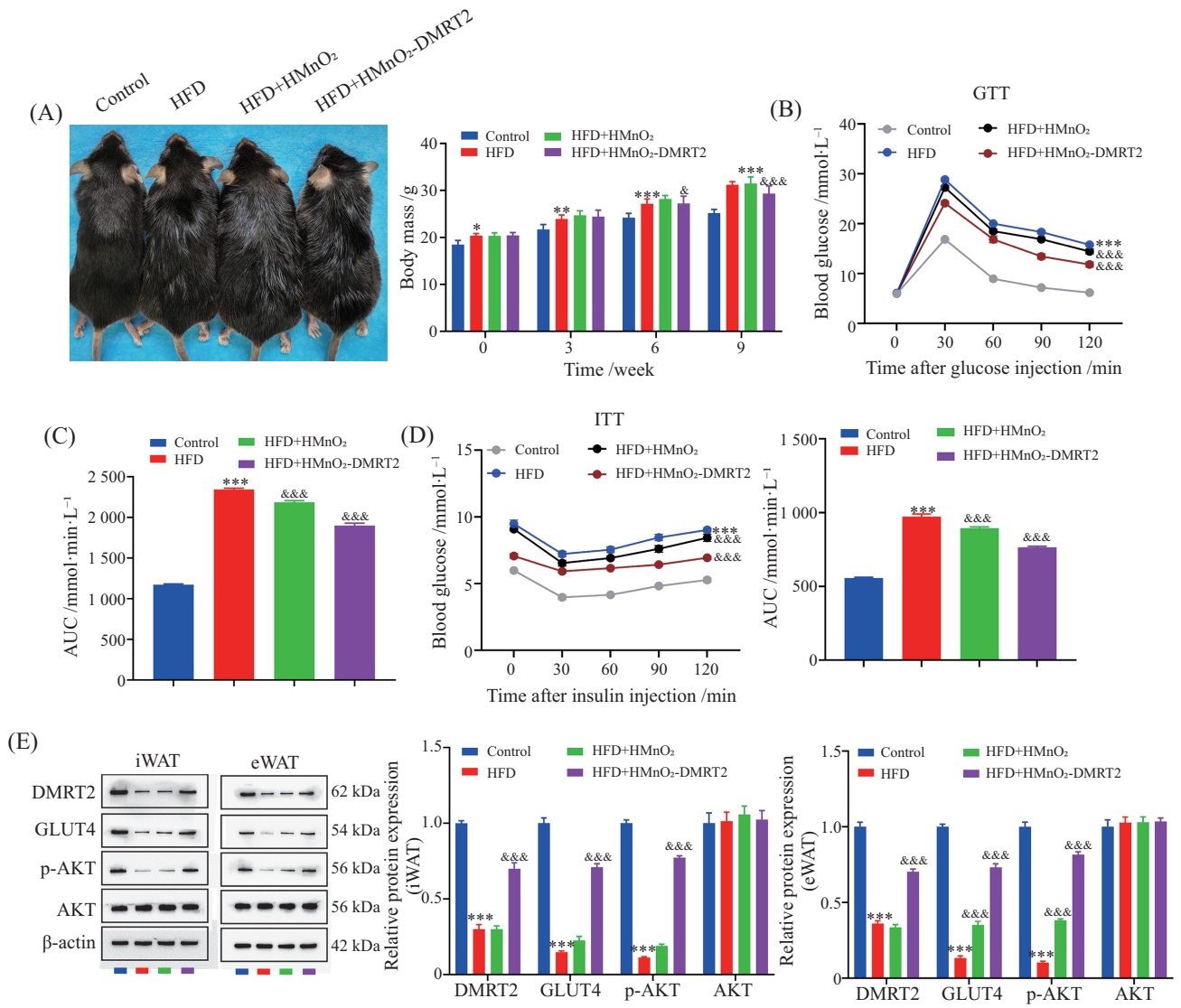
体内实验结果显示, 与Control组相比, HFD组小鼠在第3、6、9周体质量显著升高(均P<0.05, 图3A), 空腹血糖及GTT、ITT曲线下面积(area under the curve, AUC)显著增加(P<0.001, 图3B~图3D), 脂肪组织中DMRT2、GLUT4表达水平及AKT磷酸化水平(p-AKT/AKT)显著下调(P<0.001, 图3E), 提示胰岛素抵抗模型构建成功。经纳米药物干预后, 与HFD组相比, HFD+$HMnO_2$-DMRT2组小鼠在第6、9周体质量显著受抑(均P<0.05, 图3A), 空腹血糖和AUC显著下降(P<0.001, 图3C和图3D)。Western blot结果显示, HFD+$HMnO_2$-DMRT2组小鼠eWAT和iWAT中DMRT2、GLUT4蛋白表达水平及p-AKT表达水平均显著增加(P<0.001, 图3E), 且改善效果均显著优于HFD+$HMnO_2$组。

2.4 $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒减轻炎症促进脂肪组织重塑

ELISA结果显示, 与Control组相比, HFD组血清中IL-10和ADP水平显著降低, 而TNF-α、IL-1β、IL-6及Resistin水平显著升高(P<0.001, 图4A)。HE染色显示, HFD组小鼠eWAT和iWAT脂肪细胞体积显著增大, 并伴有明显的炎性细胞浸润(图4B); 其组织中UCP-1和Prdm16的mRNA与蛋白表达较Control组均显著下调(P<0.001, 图4C~图4E)。经纳米制剂干预后, HFD-$HMnO_2$组和HFD-$HMnO_2$-DMRT2组小鼠血清中, IL-10、ADP水平显著增加, TNF-α、IL-1β、IL-6及Resistin水平显著降低(P<0.001, 图4A); 病理学评价显示, HFD+$HMnO_2$-DMRT2组小鼠脂肪细胞体积显著缩小, 未见明显炎性细胞浸润(图4B和图4C), 改善效果明显优于HFD+$HMnO_2$组; 同时, HFD+$HMnO_2$-DMRT2组eWAT和iWAT中UCP-1和Prdm16的mRNA及蛋白水平较HFD组均显著上调(P<0.001, 图4C~图4E), 而HFD+$HMnO_2$组上述指标无显著变化。

2.5 $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒恢复脂肪细胞线粒体动力学平衡并改善氧化应激

体外实验结果显示, 与Control组相比, IR组3T3-L1脂肪细胞内线粒体分裂相关蛋白Drp1及p-Drp1表达显著上调, 线粒体融合蛋白OPA1、OMA1、MFN1和MFN2表达显著下调(P<0.001, 图5A), 提示IR模型存在明显的线粒体动力学失衡。经制剂干预后, IR-$HMnO_2$组、IR+DMRT2组及IR+$HMnO_2$-DMRT2组的Drp1及p-Drp1表达均被显著逆转, 融合蛋白表达水平显著恢复, 其中IR+$HMnO_2$-DMRT2组效果最为显著(P<0.001, 图5A)。MitoSOX Red染色显示, Control组细胞线粒体ROS荧光信号极弱, 而IR组荧光显著增强(P<0.001), 提示细胞处于高氧化应激状态。与IR组相比, IR-$HMnO_2$组、IR+DMRT2组及IR+$HMnO_2$-DMRT2组的线粒体ROS荧光均显著减弱(P<0.001, 图5B和图5C), 其中IR+$HMnO_2$-DMRT2组效果最优。试剂盒检测证实, 各干预组细胞内GSH含量和SOD活性显著回升, MDA积聚显著缓解(P<0.001, 图5D~图5F)。此外, 2-DG摄取实验结果显示, 与IR组相比, IR+DMRT2组及IR+$HMnO_2$-DMRT2组葡萄糖摄取水平显著上升(P<0.001, 图5G), 且IR+$HMnO_2$-DMRT2组效果优于IR+DMRT2组。



A: 小鼠体质量变化; B、C: GTT实验结果; D: ITT实验结果; E: Western blot检测DMRT2、GLUT4、p-AKT、AKT蛋白表达情况。n=6; ***P<0.001, 与Control组相比; $^{\&\&\&}P$<0.001, 与HFD组相比; $^{\#\#\#}P$<0.001, 与HFD+$HMnO_2$组相比。

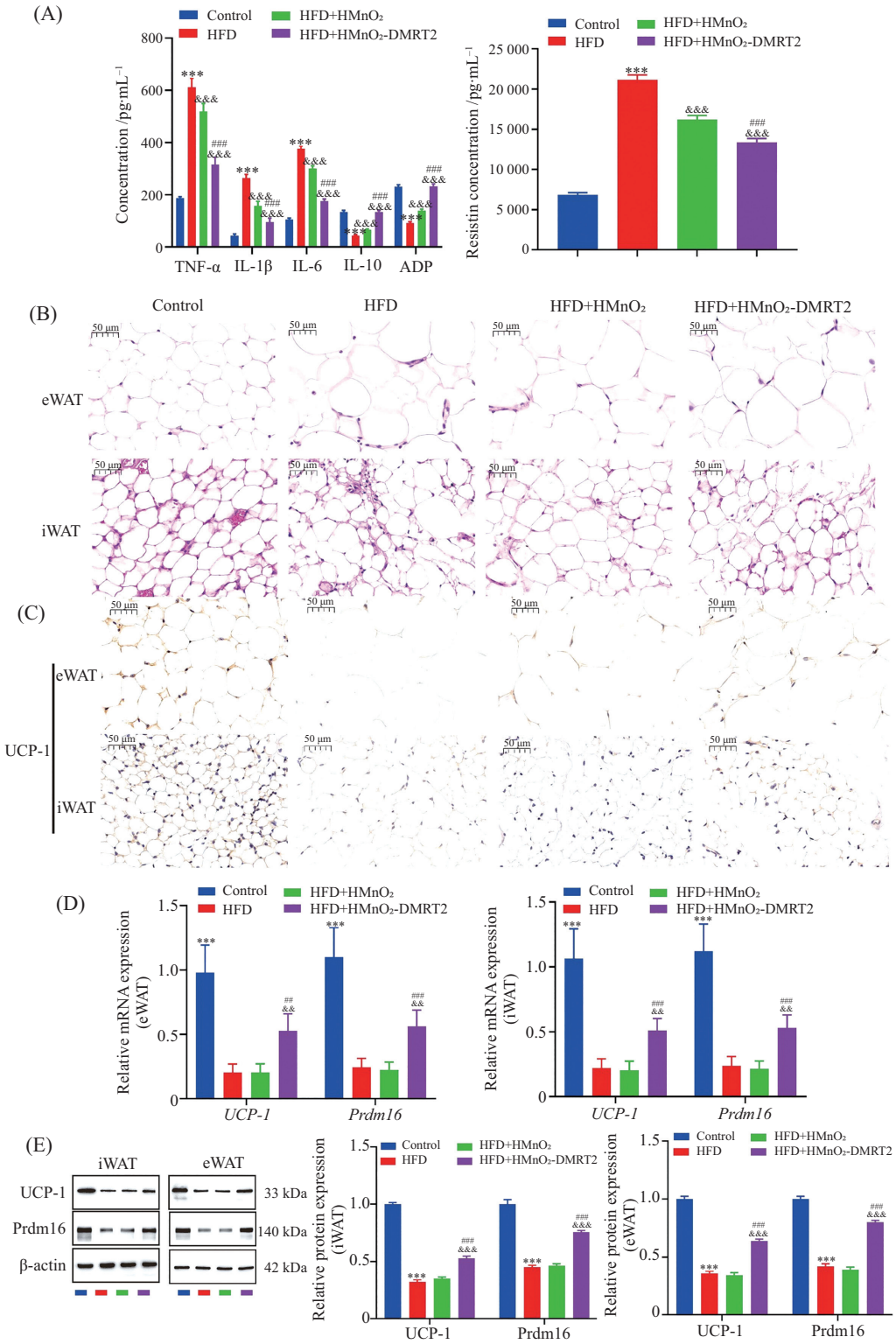
A: body mass changes of mice; B,C: GTT results; D: ITT results; E: protein expression of DMRT2, GLUT4, p-AKT, and AKT detected by Western blot. n=6; ***P<0.001 compared with the Control group; $^{\&\&\&}P$<0.001 compared with the HFD group; $^{\#\#\#}P$<0.001 compared with the HFD+$HMnO_2$ group.

图3 $HMnO_2$-DMRT2可改善胰岛素抵抗

Fig.3 $HMnO_2$-DMRT2 ameliorates insulin resistance

3 讨论

纳米靶向递送技术的兴起, 为提高病灶局部药效并降低全身毒副作用提供了行之有效的解决方案, 已成为代谢性疾病精准治疗的研究热点[18-20]。中空$HMnO_2$凭借其独特的结构和理化性质展现出显著优势。其典型的中空介孔结构不仅为疏水性药物提供了高负载容量的空间, 还能通过表面修饰实现多种治疗成分的共装载, 可有效解决药物溶解度低、体内稳定性差等问题[21-22]。此外, 在弱酸性条件下$HMnO_2$骨架可被迅速降解, 实现药物的靶向控释[23]。本研究成功构建了具有pH响应性的$HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒, 其不仅呈现出粒径均匀、单分散性良好的中空球状结构, 在酸性条件中也表现出较强药物释放能力, 这一特性与胰岛素抵抗组织和炎性细胞内体/溶酶体的酸性微环境高度契合[3]。此外, 由于游离的核酸质粒在体内复杂生理环境下极易被核酸酶降解, 且难以穿透细胞膜屏障, 单纯体内注射游离质粒无法发挥基因治疗效力。为遵循实验动物福利和减少不必要的动物资源浪费, 本实验在体内研究中未设置HFD+DMRT2(游离质粒)对照组, 而是在体外细胞实验中利用转染技术设置了单纯DMRT2组, 以阐明该基因对脂肪细胞代谢重塑的直接作用,

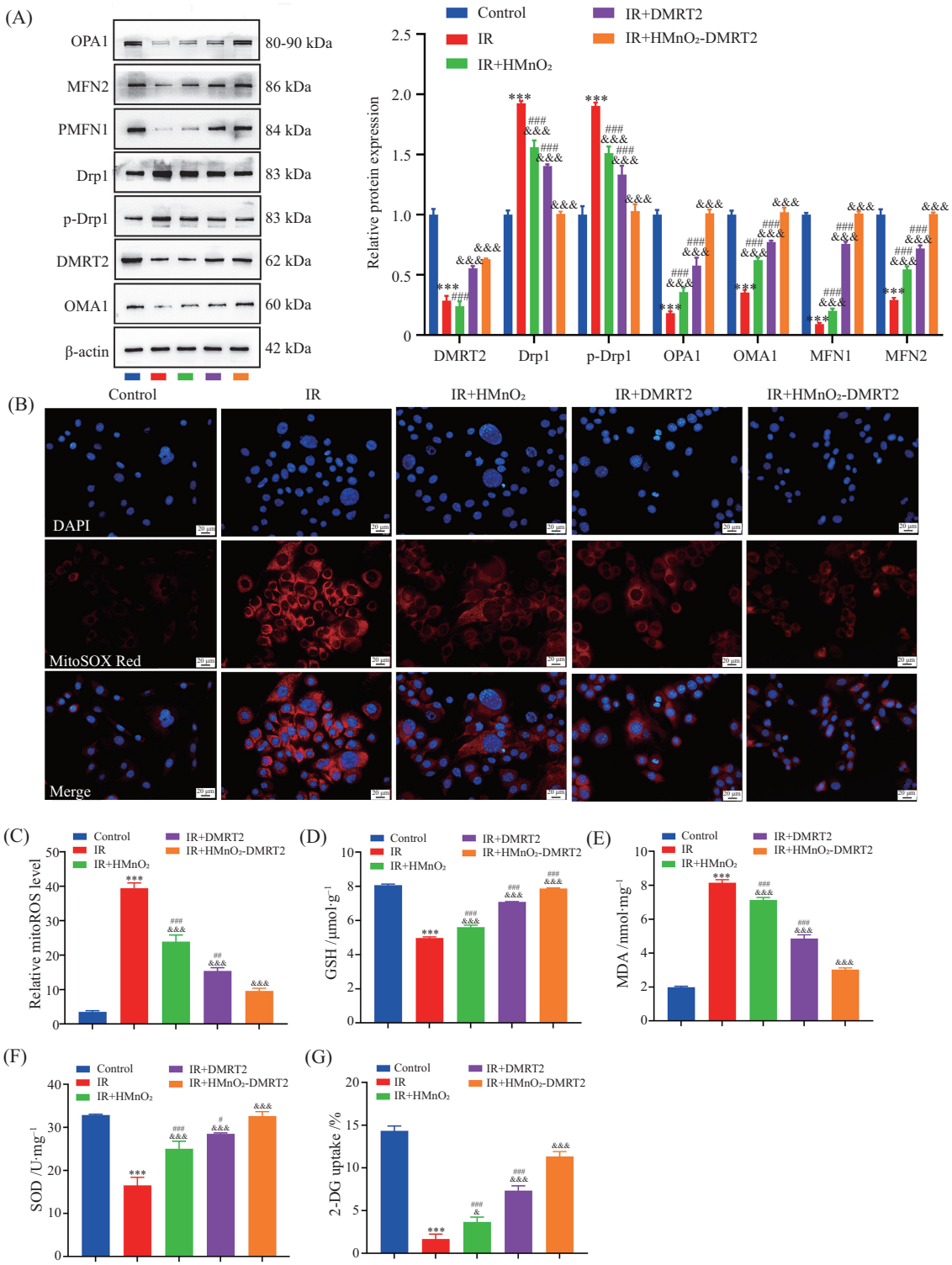


A: ELISA检测血清相关因子水平; B: HE检测iWAT和eWAT; C: IHC检测UCP-1的表达; D: qPCR检测eWAT和iWAT中*UCP-1*和*Prdm16* mRNA表达; E: Western blot检测eWAT和iWAT中UCP-1和Prdm16蛋白表达情况。n=6; ***P<0.001, 与Control组相比; $^{\&\&}P$<0.01, $^{\&\&\&}P$<0.001, 与HFD组相比; $^{\#\#}P$<0.01, $^{\#\#\#}P$<0.001, 与HFD+HMnO$_2$组相比。

A: serum levels of related factors detected by ELISA; B: HE staining of iWAT and eWAT; C: expression of UCP-1 detected by IHC; D: mRNA expression of *UCP-1* and *Prdm16* in eWAT and iWAT detected by qPCR; E: protein expression of UCP-1 and Prdm16 in eWAT and iWAT detected by Western blot. n= 6; ***P<0.001 compared with the Control group; $^{\&\&}P$<0.01, $^{\&\&\&}P$<0.001 compared with the HFD group; $^{\#\#}P$<0.01, $^{\#\#\#}P$<0.001 compared with the HFD+HMnO$_2$ group.

图4 HMnO$_2$-DMRT2纳米颗粒减轻炎症促进脂肪组织重塑

Fig.4 HMnO$_2$-DMRT2 nanoparticles alleviate inflammation and promote adipose tissue remodeling



A: Western blot检测线粒体动力学蛋白的表达; B、C: MitoSOX Red检测线粒体活性氧水平及其定量分析; D~F: 试剂盒检测GSH和MDA含量及SOD酶活力; G: 2-DG摄取实验检测葡萄糖摄取水平。n=3; ***P<0.001, 与Control组相比; $^{\&}P$<0.05, $^{\&\&\&}P$<0.001, 与IR组相比; $^{\#}P$<0.05, $^{\#\#}P$<0.01, $^{\#\#\#}P$<0.001, 与IR+$HMnO_2$组组相比。

A: expression of mitochondrial dynamics proteins detected by Western blot; B,C: mitochondrial ROS levels detected by MitoSOX Red and the quantitative analysis; D-F: GSH and MDA contents, and SOD enzyme activity detected by commercial kits; G: glucose uptake level detected by 2-DG uptake assay. n=3; ***P<0.001 compared with the Control group; $^{\&}P$<0.05, $^{\&\&\&}P$<0.001 compared with the IR group; $^{\#}P$<0.05, $^{\#\#}P$<0.01, $^{\#\#\#}P$<0.001 compared with the IR+$HMnO_2$ group.

图5 $HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒脂肪组织线粒体动力学平衡及改善氧化应激的影响

Fig.5 Effects of $HMnO_2$-DMRT2 nanoparticles on mitochondrial dynamic balance and the alleviation of oxidative stress in adipose tissue

这为纳米递送系统在体内的协同增效奠定了理论基础。

本实验进一步研究发现$HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒对高脂饮食诱导的胰岛素抵抗具有显著改善作用，并可有效逆转高脂饮食引起的AKT磷酸化水平下降和GLUT4膜转位障碍，且效果由于单独$HMnO_2$的使用。这一结果提示，*DMRT2*基因的导入与$HMnO_2$载体本身可能通过协同作用共同促进代谢健康。在机制上，单纯$HMnO_2$治疗虽能提升p-AKT和GLUT4表达能力，但并未引起UCP-1/Prdm16表达上调和脂肪细胞体积重塑。这表明$HMnO_2$单独使用时的疗效主要源于其强大的活性氧清除活性，通过改善外周氧化应激直接保护了受损的胰岛素信号通路；而脂肪组织向米色化及产热程序的深度重塑，则高度依赖于DMRT2转录因子的靶向递送。这种载体清除活性氧微环境保护通路与基因启动米色化重塑组织相结合的机制，构成了该系统体内协同增效的科学基础。*DMRT2*被认为是一种新的候选基因，参与调节中枢脂质积累。既往研究亦揭示由*DMRT2*基因转录而来的Linc-DMRT2在炎症诱发的心脏代谢疾病患者的脂肪组织中表达水平降低，其水平与血液中的脂多糖密切相关[24]；另一项关于残留增重(residual weight gain, RWG)性状的全基因组关联分析发现，*DMRT2*基因与RWG相关，并提出其可能通过调节肌肉功能或相关代谢通路，在促进生长中发挥重要作用[25]。近期一项全基因组研究进一步发现，DMRT2通过调节*SGCG*基因内含子中的rs679482位点，影响个体对饮食干预的体质量减轻反应[26]。本课题组前期研究亦发现DMRT2在胰岛素抵抗小鼠模型和细胞模型中显著下调，且过表达DMRT2可显著改善脂肪细胞炎症[8]。综上所述，本研究证实DMRT2可有效改善小鼠胰岛素抵抗，但具体机制仍有待阐明。

深入分析发现$HMnO_2$-DMRT2治疗可促进UCP-1和Prdm16等关键标志物的表达上调。UCP-1是产热脂肪细胞中的标志性蛋白，其功能在于解除线粒体呼吸链中质子梯度与ATP合成的偶联，将能量以热量形式释放，从而增加能量消耗，减少脂肪积累[27]；Prdm16作为关键的转录因子，可诱导白色脂肪细胞“米色化”转变，进而提高机体葡萄糖和脂质代谢能力[28]。研究表明，脂肪组织中UCP-1的激活或Prdm16介导的棕色化可以显著增强胰岛素敏感性，减轻高脂饮食诱导的胰岛素抵抗和肥胖相关代谢紊乱[29]。此外，Prdm16还能通过抑制1型干扰素信号通路等炎症反应，间接保护脂肪细胞的线粒体功能和产热程序，进一步维持代谢健康[30-31]。值得注意的是，单纯的$HMnO_2$处理并未引起类似的米色化效应，这表明*DMRT2*基因在脂肪重塑过程中发挥了不可或缺的作用。此外，线粒体稳态依赖于线粒体动力学与生物发生的双重调控。本研究所证实的DMRT2对Prdm16表达的显著上调，提示了线粒体生物发生程序的协同激活。作为转录因子，Prdm16可招募PGC-1α级联激活NRF1与TFAM，从而启动线粒体复制和转录。虽受限于样品我们未直接展示PGC-1α及TFAM的印迹数据，但这代表了我们在后续研究中完善线粒体质量控制证据链的重要方向。

现有研究提出线粒体动力学失衡与氧化应激水平升高是胰岛素抵抗和2型糖尿病发病机制的核心环节[32]。基于此，本研究深入探究发现$HMnO_2$-DMRT2联合干预可有效逆转线粒体分裂相关蛋白Drp1及p-Drp1、线粒体融合蛋白OPA1、OMA1、MFN1和MFN2的异常表达，并调整氧化应激标志物GSH、SOD和MDA的含量，降低ROS水平。$HMnO_2$可模拟SOD酶活性，降低ROS水平，减轻机体氧化应激[33]，而ROS水平的降低可避免HIF-1α过度羧基化，进而驱动*UCP-1*基因转录[34]。尽管DMRT2在稳定线粒体动力学方面表现出良好疗效，但其调控脂肪细胞线粒体功能的直接靶分子仍未阐明。在未来的研究中，有必要通过染色质免疫共沉淀测序等技术，在全基因组水平直接筛选并确证DMRT2的转录靶点与下游信号网络。作为转录因子，DMRT2调控Drp1等蛋白的机制可能包含两条途径：一是信号级联，DMRT2显著促进AKT磷酸化激活，进而调节Drp1磷酸化以抑制线粒体过度分裂；二是转录协同，DMRT2通过上调PRDM16，联合线粒体生物合成主控因子PGC-1α协同调控相关动力学基因的转录。虽然DMRT2与Drp1的直接转录结合靶点仍需通过ChIP等实验进一步验证，但上述两条通路为DMRT2稳定线粒体动力学提供了合理的机理解释。据此推测，$HMnO_2$-DMRT2纳米颗粒通过清除ROS稳定HIF-1α以促进UCP-1介导的产热，同时借助DMRT2维持线粒体功能稳态，协同增强脂肪能量消耗，从而改善胰岛素抵抗。

综上所述，本研究结果提示，所构建的$HMnO_2$-

DMRT2纳米颗粒可能通过调控脂肪组织中线粒体动力学发挥缓解胰岛素抵抗的作用。该系统整合了$HMnO_2$的ROS清除作用与*DMRT2*基因对脂肪米色化的转录调控作用，在小鼠模型中初步实现脂肪组织重塑。该“载体–基因”协同策略为胰岛素抵抗治疗提供了新思路。然而，本研究仍存在一定的局限性。作为一种新型纳米递送系统，虽然本研究证实了其体外低毒性，但未能对小鼠主要脏器进行系统的HE组织病理学检测。此外，体外实验采用的TNF-α诱导模型虽常用于模拟炎症驱动型胰岛素抵抗，但其强促炎效应可能会对线粒体分裂与氧化应激指标的解读带来混杂干扰。在后续研究中，有必要引入高葡萄糖/高胰岛素等纯代谢超载诱导的细胞模型，进行多角度的平行对比验证。

作者贡献

张梅梅负责实验设计与文章撰写；永佳蕙、王子杰、王娟负责数据统计分析、图表制作、数据整理；沈鑫、曾璐负责动物实验、细胞实验实施与数据整理；陶静、杨毅宁负责研究指导、论文审定并提供经费支持。

参考文献 (References)

[1] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF diabetes atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 [J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2022, 183: 109119.

[2] Lee S H, Park S Y, Choi C S. Insulin resistance: from mechanisms to therapeutic strategies [J]. Diabetes & Metabolism Journal, 2022, 46(1): 15-37.

[3] Ahmed B, Sultana R, Greene M W. Adipose tissue and insulin resistance in obese [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2021, 137: 111315.

[4] Cheng L, Wang J K, Dai H Y, 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.

[5] Su H M, Guo H, Qiu X X, et al. Lipocalin 2 regulates mitochondrial phospholipidome remodeling, dynamics, and function in brown adipose tissue in male mice [J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 6729.

[6] van Huynh T, Rethi L, Rethi L, et al. The complex interplay between imbalanced mitochondrial dynamics and metabolic disorders in type 2 diabetes [J]. Cells, 2023, 12(9): 1223.

[7] Nono Nankam P A, Blüher M, Kehr S, et al. Distinct abdominal and gluteal adipose tissue transcriptome signatures are altered by exercise training in African women with obesity [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 10240.

[8] Tao J, Yu X L, Yuan Y J, et al. DMRT2 interacts with FXR and improves insulin resistance in adipocytes and a mouse model [J]. Frontiers in Endocrinology, 2021, 12: 723623.

[9] Xiao Y H, He Y Z, Zhong D, et al. Effect of engineered cyanobacterial capsules on a neurogenic bladder after spinal cord injury [J]. ACS Nano, 2025, 19(12): 11841-11860.

[10] Chen S J, Zhang W L, Tang C, et al. Macrophage membrane-functionalized manganese dioxide nanomedicine for synergistic treatment of atherosclerosis by mitigating inflammatory storms and promoting cholesterol efflux [J]. Journal of Nanobiotechnology, 2024, 22(1): 664.

[11] Lu Q L, Chen R Y, Du S Y, et al. Activation of the cGAS-STING pathway combined with CRISPR-Cas9 gene editing triggering long-term immunotherapy [J]. Biomaterials, 2022, 291: 121871.

[12] Li H, Ouyang Y Y, Lü H R, et al. Nanoparticle-mediated Klotho gene therapy prevents acute kidney injury to chronic kidney disease transition through regulating PPARα signaling in renal tubular epithelial cells [J]. Biomaterials, 2025, 315: 122926.

[13] Bozkir A, Saka O M. Chitosan nanoparticles for plasmid DNA delivery: effect of chitosan molecular structure on formulation and release characteristics [J]. Drug Delivery, 2004, 11(2): 107-112.

[14] Fu L W, Zhang W Y, Zhou X J, et al. Tumor cell membrane-camouflaged responsive nanoparticles enable MRI-guided immunochemodynamic therapy of orthotopic osteosarcoma [J]. Bioactive Materials, 2022, 17: 221-233.

[15] Dong J Y, Li W, Du X C, et al. Garcinia cambogia water extract alleviates insulin resistance and hepatic lipid accumulation in mice fed a high-fat diet [J]. Food & Nutrition Research, 2023, 14: 67.

[16] Sun Q K, Chen J H, Yang M J, et al. Macrophage membrane-decorated MnO_2 nanozyme catalyzed the scavenging of estradiol for endometriosis treatment [J]. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces, 2024, 233: 113633.

[17] Javaid H M A, Ko E, Joo E J, et al. TNFα-induced NLRP3 inflammasome mediates adipocyte dysfunction and activates macrophages through adipocyte-derived lipocalin 2 [J]. Metabolism, 2023, 142: 155527.

[18] Zhang C Y, Wang X, Du J F, et al. Reactive oxygen species-regulating strategies based on nanomaterials for disease treatment [J]. Advanced Science, 2021, 8(3): 2002797.

[19] Yang D J, Cai C Y, Liu K, et al. Recent advances in glucose-oxidase-based nanocomposites for diabetes diagnosis and treatment [J]. Journal of Materials Chemistry B, 2023, 11(32): 7582-7608.

[20] Ashique S, Sandhu N K, Chawla V, et al. Targeted drug delivery: trends and perspectives [J]. Current Drug Delivery, 2021, 18(10): 1435-1455.

[21] Qiu H Q, Gong H T, Bao Y H, et al. Reactive oxygen species-scavenging hollow MnO_2 nanozymes as carriers to deliver budesonide for synergistic inflammatory bowel disease therapy [J]. Biomaterials Science, 2022, 10(2): 457-466.

[22] Zhang M, Jia C, Zhuang J, et al. GSH-responsive drug delivery system for active therapy and reducing the side effects of bleomycin [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2022, 14(1): 417-427.

[23] Qian C, Zhao G L, Huo M P, et al. Tumor microenvironment-regulated drug delivery system combined with sonodynamic therapy for the synergistic treatment of breast cancer [J]. RSC Advances,

2024, 14(25): 17612-17626.

[24] Liu Y C, Ferguson J F, Xue C Y, et al. Tissue-specific RNA-Seq in human evoked inflammation identifies blood and adipose LincRNA signatures of cardiometabolic diseases [J]. Arteriosclerosis Thrombosis And Vascular Biology, 2014, 34(4): 902-912.

[25] Santana M H, Gomes R C, Utsunomiya Y T, et al. Genome-wide association with residual body weight gain in Bos indicus cattle [J]. Genetics and Molecular Research, 2015, 14(2): 5229-5233.

[26] Nikpay M, Lau P, Soubeyrand S, et al. SGCG rs679482 associates with weight loss success in response to an intensively supervised outpatient program [J]. Diabetes, 2020, 69(9): 2017-2026.

[27] Johnson J M, Peterlin A D, Balderas E, et al. Mitochondrial phosphatidylethanolamine modulates UCP1 to promote brown adipose thermogenesis [J]. Science Advances, 2023, 9(8): eade7864.

[28] Kotikalapudi N, Sampath S J P, Sinha S N, et al. Placental mesenchymal stem cells restore glucose and energy homeostasis in obesogenic adipocytes [J]. Cell and Tissue Research, 2023, 391(1): 127-144.

[29] Botezelli J D, Overby P, Lindo L, et al. Adipose depot-specific upregulation of Ucp1 or mitochondrial oxidative complex proteins are early consequences of genetic insulin reduction in mice [J]. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2020, 319(3): E529-E539.

[30] Mao L F, Lu J L, Hou Y L, et al. Directly targeting PRDM16 in thermogenic adipose tissue to treat obesity and its related metabolic diseases [J]. Frontiers in Endocrinology, 2024, 15: 1458848.

[31] Jiang N, Yang M, Han Y C, et al. PRDM16 regulating adipocyte transformation and thermogenesis: a promising therapeutic target for obesity and diabetes [J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 870250.

[32] Veluthakal R, Esparza D, Hoolachan J M, et al. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and inter-organ miscommunications in T2D progression [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(3): 1504.

[33] Kumar S, Adjei I M, Brown S B, et al. Manganese dioxide nanoparticles protect cartilage from inflammation-induced oxidative stress [J]. Biomaterials, 2019, 224: 119467.

[34] Zhou Y Y, Zhang H, Huang Y T, et al. Tanshinone IIA regulates expression of glucose transporter 1 via activation of the HIF-1α signaling pathway [J]. Molecular Medicine Reports, 2022, 26(5): 328.