

iMScope QT 分析多胺代谢通路相关内源物 在人胃癌组织中的空间分布和相对含量变化

IMSCope-009

摘要： 本文应用成像质谱显微镜 iMScope QT 对人胃癌组织中多胺通路相关的内源性小分子代谢物的空间分布进行了原位可视化分析，前处理经衍生后，在正模式下可直接观测到精氨酸、鸟氨酸等 12 种内源代谢物在人胃癌组织中的分布特征和变化趋势。结果显示：No.8937 和 No.0934 样本中精氨酸和鸟氨酸在空间分布上呈现位置互补现象，说明精氨酸和鸟氨酸之间存在互相转化的机制通路可能。该实验为研究动物内源性小分子代谢物的空间分布上可提供有力参考。

关键词： 成像质谱显微镜 iMScope QT 多胺代谢通路 胃癌组织 空间分布

技术特点：

- ❖ 解析人胃癌组织中内源代谢物的可视化时空分布规律和定量分析。
- ❖ 使用 IMAGEREVEAL MS 数据处理软件 Superimposition 功能进行多个代谢物的成像叠加。

胃肠道菌群是寄居在人体中微生物群落的总称，和人体的交互关系错综复杂，其如何影响胃肠道发育以及人体健康，一直都是生物学、医学、基因学等领域的研究热点。

传统观念认为，因为免疫系统的存在，人体绝大多数组织器官内部处于无菌状态，肿瘤组织亦然。但在 2020 年，科学家研究发现细菌也是癌症本身的组成部分，它存在于结直肠癌以外更广泛的癌症类型中，例如胰腺癌、肺癌、乳腺癌等。这类细菌绝大多数存在于细胞质内，称之为“胞内菌”。而胃癌组织中也

会存在一种“胞内菌”（某种链球菌细菌），会引起多胺代谢通路上多种内源小分子物质的含量变化，根据人体胃癌组织中瘤内菌含量高低通常分为 2 种亚型。

本文应用成像质谱显微镜 iMScope QT 结合 IMAGEREVEAL MS 软件探究该多胺通路相关的 12 种内源小分子在 4 份人胃癌组织中的相对含量和特征性空间分布，以初步判断属于哪一种亚型。研究结果表明成像质谱显微镜是进行小分子代谢物质谱成像以及原位定量分析的可靠研究手段。

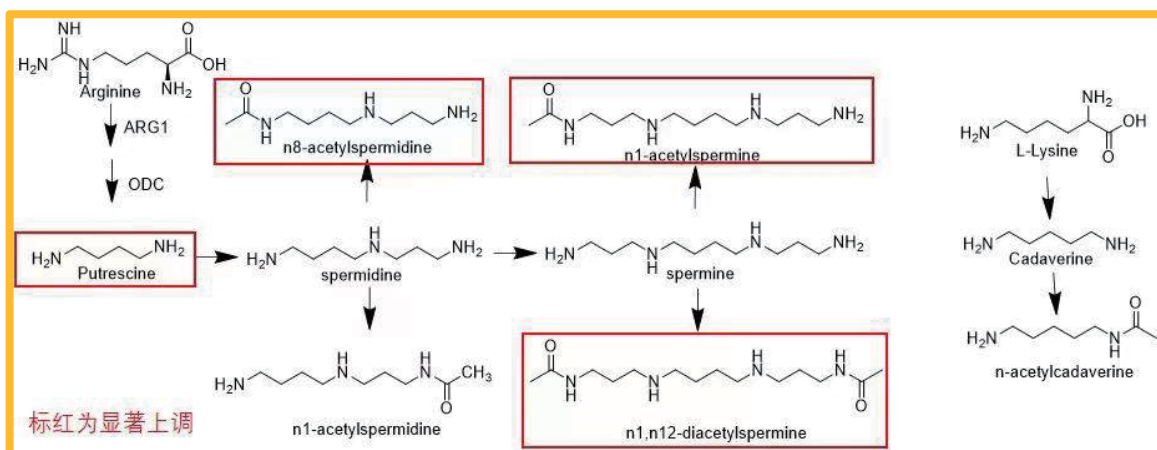


图 1 多胺代谢通路相关上下游代谢物

■ 实验部分

1.1 仪器

成像质谱显微镜 iMScope QT

1.2 仪器参数

分析模式：	正离子模式	激光器：	355 nm YAG 激光器
像素间距：	10 μm*10 μm	激光照射直径：	10 μm
激光能量：	70 (范围 0-100)	激光照射次数：	200 shots
扫描频率：	5000 Hz	扫描范围：	m/z 70-500
检测器电压：	2.40 kV		

1.3 试剂与样品

基质：9-氨基吡啶 (9-AA)；

衍生试剂：① 3-硝基苯胍 (3-NPH)，CAS 号：619-27-2，用 75% 甲醇水溶液稀释至摩尔浓度为 175 mM；② 阿伐那非杂质 72，CAS 号：1892-57-5，用甲醇溶液稀释至摩尔浓度为 105 mM；③ 吡啶，CAS 号：110-86-1，用甲醇溶液稀释至体积分数为 2.5% 的吡啶 / 甲醇溶液。取上述 3 种稀释后的溶液各 100 μL，加入 200 μL 超纯水，涡旋，作为衍生试剂喷敷于切片表面。

样品：4 份人胃癌组织。

1.4 样品前处理



图 2 样品检测流程图

■ 结果与讨论

2.1 胃癌组织的光学图像、ROI 设定与 TIC 示例

以 9-AA 为基质，在正离子模式下对人胃癌组织切片衍生化后^[1]进行 m/z 70-500 的质谱采集。在切片上进行 ROI (感兴趣区域) 设定，使用 IMAGEREVEAL MS 软件对质谱数据进行处理分析。4 份人胃癌组织切片的光学图像、ROI (感兴趣区域) 设定与 TIC (总离子流图) 见图 3。

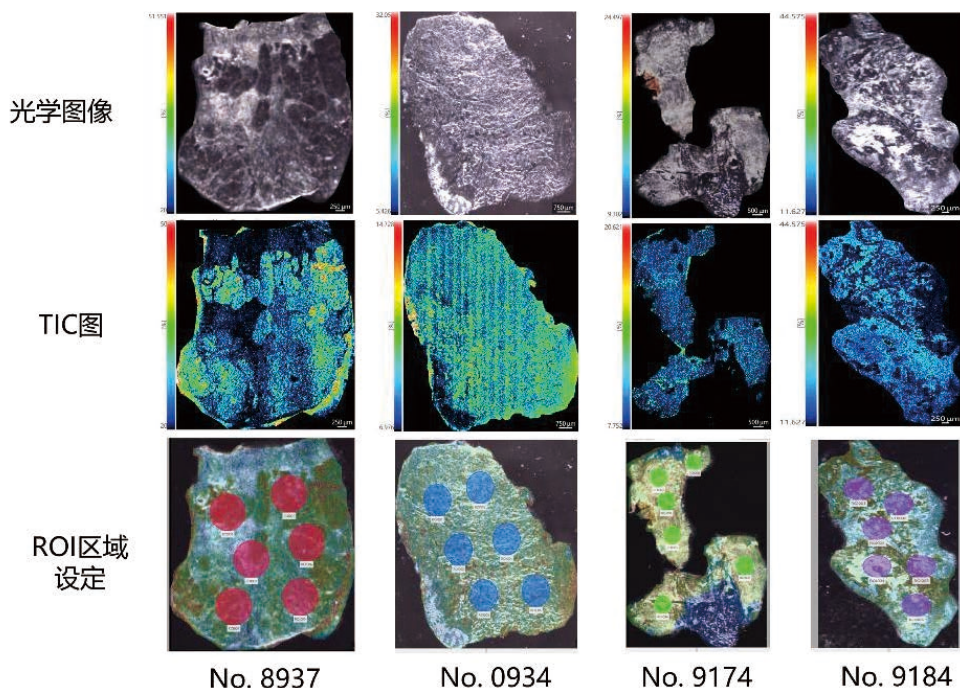


图3 4份人胃癌组织切片光学图像、ROI设定与TIC图

2.2 质谱成像数据分析结果

应用 iMScope QT 进行质谱数据采集，使用 IMAGEREVEAL MS 软件对人胃癌组织 12 种多胺通路的小分子代谢物进行提取分析。结果显示，经 3-NPH 衍生化后，12 种内源性小分子在 4 份胃癌组织样本中全部检测到。其中，精氨酸 (Arginine)、鸟氨酸 (Ornithine)、n1-acetylspermidine 和 n8-acetylspermidine 整体信号强度较高，Putrescine 和 Spermine 整体信号强度相对较低；12 种内源小分子在 No.8937 和 No.0934 胃癌组织样本中的相对含量较高，推测可能为瘤内菌含量较高的亚型；而在 No.9174 和 No.9184 样本中 12 种内源分子相对含量较低，推测可能为瘤内菌含量较低的亚型 (表 1)。

通过观察，发现 No.0934 样本中精氨酸和鸟氨酸的空间分布存在明显差异 (见图 4 红圈处)，推测此区域可能发生了由精氨酸通过 ARG1 酶催化为鸟氨酸的代谢过程。进一步使用软件 Superimposition 功能，将 No.8937 和 No.0934 样本中精氨酸和鸟氨酸的成像图进行叠印显示，如图 5 所示，发现精氨酸 (绿色) 和鸟氨酸 (红色) 在空间分布上呈现位置互补现象，说明精氨酸和鸟氨酸之间存在互相转化的机制通路可能。

表 1 4 个胃癌组织样品中 12 种内源小分子信号强度结果

No.	Compounds	m/z	Fomula	Adduct Ion	No.8937 Intensity	No.0934 Intensity	No.9174 Intensity	No.9184 Intensity
1	Arginine	310.1622	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	M+H	239.86	91.14	96.47	52.51
2	Ornithine	306.0968	C ₅ H ₁₂ N ₂ O ₂	M+K	147.56	139.18	49.38	37.86
3	Lysine	304.1380	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	M+Na	151.79	114.86	39.21	29.74
4	Putrescine	111.0893	C ₄ H ₁₂ N ₂	M+Na	4.15	7.02	0.35	0.72
5	Cadaverine	103.1230	C ₅ H ₁₄ N ₂	M+H	23.94	22.37	2.04	2.54
6	Spermidine	168.1471	C ₇ H ₁₉ N ₃	M+Na	15.81	51.56	0.86	1.89
7	Spermine	225.2050	C ₁₀ H ₂₆ N ₄	M+Na	8.67	6.47	4.28	3.53
8	n1,n12-diacetylspermine	460.2438	C ₁₄ H ₃₀ N ₄ O ₂	M+K	69.14	40.00	19.93	10.28

9	n1-acetylspermidine	361.1754	$C_9H_{21}N_3O$	M+K	220.79	179.51	100.09	67.79
10	n-acetylcadaverine	302.1587	$C_7H_{16}N_2O$	M+Na	102.75	165.50	26.01	34.64
11	n8-acetylspermidine	361.1754	$C_9H_{21}N_3O$	M+K	220.82	179.53	100.11	67.80
12	n1-acetylspermine	418.2333	$C_{12}H_{28}N_4O$	M+K	60.97	43.60	17.84	10.27

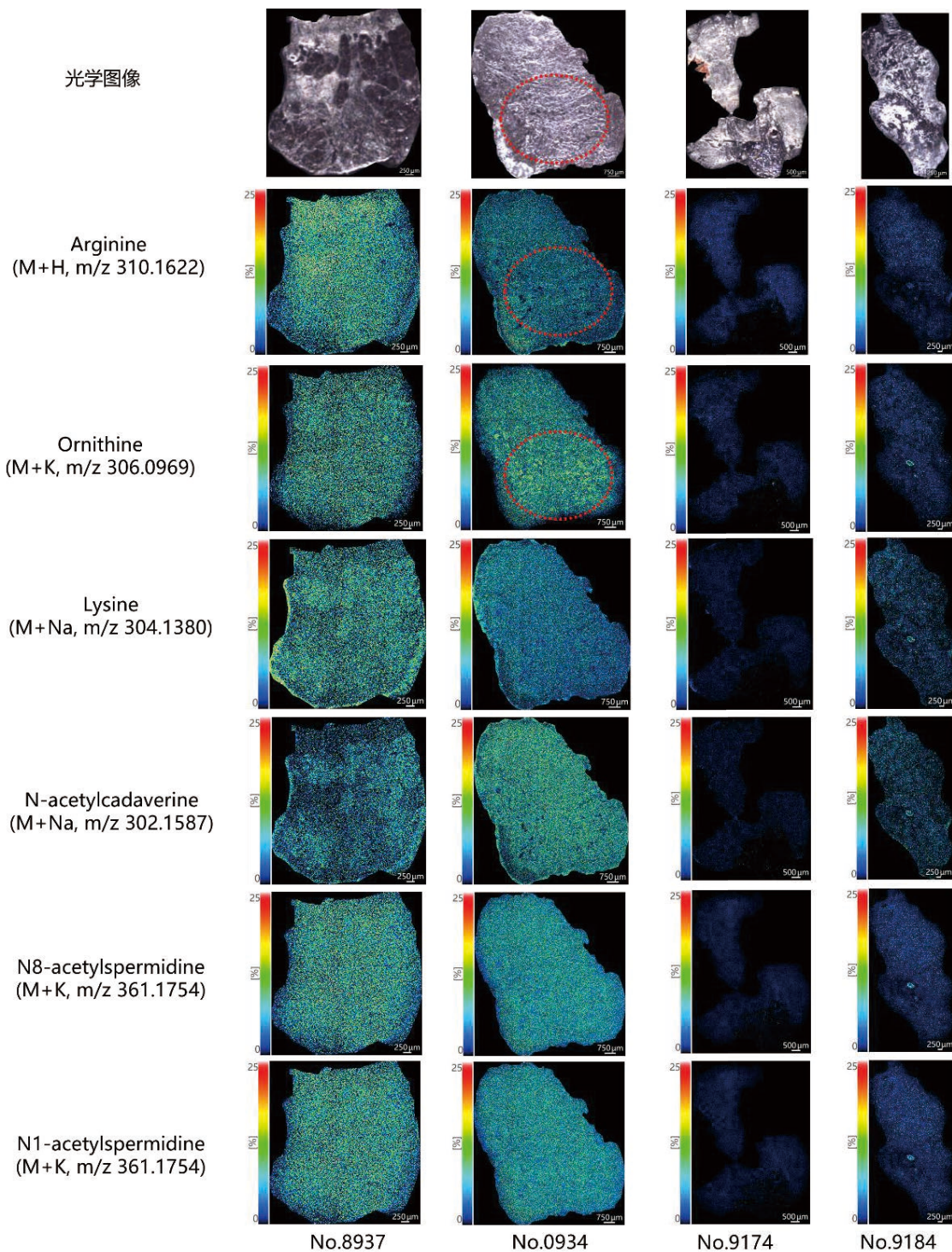


图4 人胃癌组织切片质谱成像图(部分)

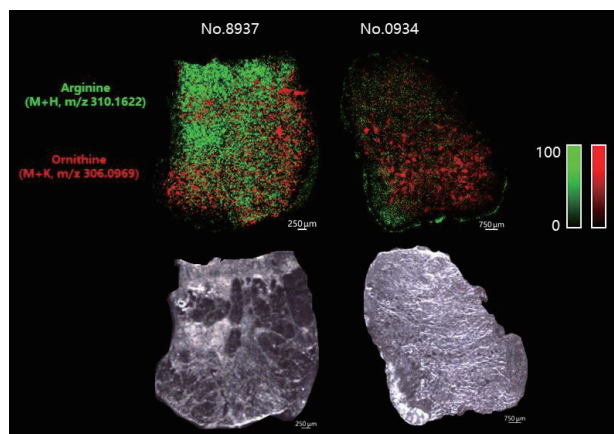


图5 Arginine 和 Ornithine 的质谱成像图

随后，通过进一步观察发现某些内源小分子在 No.8937 样本上呈现出特征性空间分布：比较 No.8937 样本肿瘤间质细胞（图6红圈处）和肿瘤细胞的 Arginine、Lysine 及其下游代谢产物的信号强度，发现：肿瘤间质细胞中 Lysine 代谢通路明显上调；肿瘤间质细胞中 Arginine 和 Spermidine 分布存在明显差异，推测这些区域可能发生了由 Arginine 通过酶催化进一步形成 Spermidine 的代谢过程。

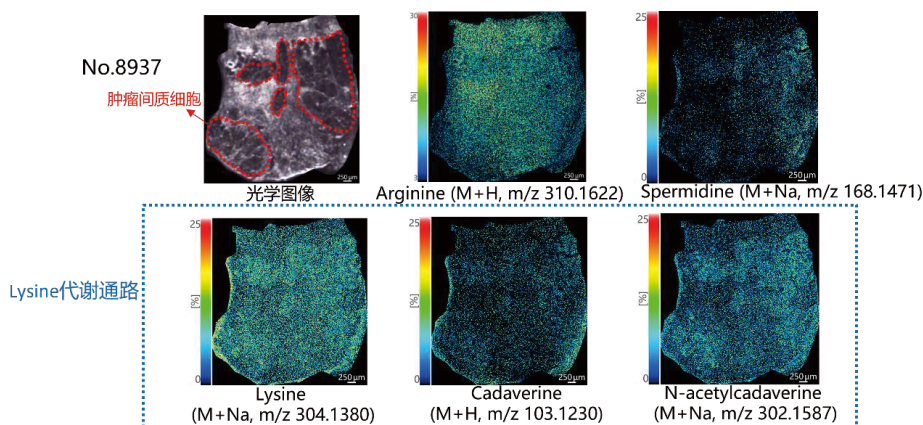


图6 No.8937 胃癌组织的质谱成像图

■ 结论

使用质谱成像显微镜 iMScope QT 结合 IMAGEREVEAL MS 数据分析软件，经 3-NPH 衍生化后，正模式下多胺代谢通路的 12 种内源性小分子在 4 份人胃癌组织样本中全部检测到。在 No.8937 和 No.0934 样本中，12 种内源小分子的相对含量较高，推测可能为瘤内菌含量较高的亚型；而在 No.9174 和 No.9184 样本中相对含量则较低，推测可能为瘤内菌含量较低的亚型。iMScope QT 将光学显微镜观察和质谱成像分析有效融合，能检测到更清晰更详细的质谱成像图，在研究动植物内源性小分子代谢物的空间分布上可提供有力参考。

岛津应用云

参考文献：

[1] Analytical Chemistry. 2021, 93(29), 10075-10083.

岛津企业管理（中国）有限公司 - 分析中心
Shimadzu (China) Co., LTD. - Analytical Applications Center

