

# 基于质谱成像技术进行不同营养状态下小鼠肾脏脂质组学分析

IMS-008

**摘要：**本文展示了应用成像质谱显微镜 iMScope QT 对不同营养状态下小鼠肾脏中脂质化合物的代谢变化进行研究的应用案例。使用 iMScope QT 结合数据分析软件 IMAGEREVEAL MS 对正常饮食小鼠和高糖高脂饮食小鼠肾脏组织切片中的脂质化合物进行检测和数据分析，计算每组的平均值、比值、P 值等信息，最终筛选出 17 个上调脂质化合物、10 个下调脂质化合物，为研究膳食模式、脂质代谢变化与肥胖三者之间的关系提供理论依据。

**关键词：**成像质谱显微镜 iMScope QT 小鼠脑组织 脂质化合物

如今，肥胖已经成为一种全球流行病，是高血压、糖尿病等多种疾病的重要诱因。在全球范围内，肥胖率呈现上升态势。不良膳食模式容易导致肥胖，而脂代谢异常被认为是肥胖、超重、心脑血管等代谢性疾病重要的独立危险因素。研究膳食模式对组织中脂质代谢的变化的影响，有助于探明肥胖的机理、为寻找肥胖及其相关健康危害的预防和治疗策略提供理论依据。

目前脂质组学研究一般是通过色谱质谱联用系统来对目标物进行定量和定性的测定，这种传统的方法无法观察到目标物在器官水平的空间分布信息以及动态转移过程。成像质谱分析技术（mass spectrometry

imaging）可以直接测定生物体分子和代谢物，能够直观反映组织器官中分子水平化合物的空间分布与变化。岛津的新款成像质谱显微镜 iMScope QT 是将光学与成像质谱分析融合的独有技术，拥有 5 μm 高空间分辨率，高达 50 像素 / 秒的分析速度，为成像分析提供了全新的工具，使成像质谱分析迈进新时代。

本文应用岛津成像质谱显微镜 iMScope QT 对 2 种不同营养状态下的小鼠肾脏组织切片（正常饮食组和高糖高脂饮食组）进行检测和数据比对分析，筛选出一些差异表达的脂质化合物，为研究膳食模式、脂质代谢变化与肥胖三者之间的关系提供理论依据。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

成像质谱显微镜 iMScope QT



图 1 岛津成像质谱显微镜 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：	25 $\mu\text{m}$ × 25 $\mu\text{m}$	激光照射直径：	5 $\mu\text{m}$
激光能量：	35-45 (范围 0-100)	激光照射次数：	200 shots
扫描频率：	5000 Hz	扫描范围：	m/z 500-1000
检测器电压：	2.50 kV		

## 1.3 试剂与样品

基质：2,5-二羟基苯甲酸 (DHB)。

样品：2 组小鼠肾脏组织。A 组：正常饮食小鼠；B 组：高糖高脂饮食小鼠。

## 1.4 样品前处理

将 A/B 两组小鼠肾脏组织样本用冰冻切片机制作组织切片，每组样本设置 3 个重复切片，切片厚度为 15  $\mu\text{m}$ ，将切片转移到导电载玻片上，真空干燥处理。将载玻片送入成像质谱显微镜拍摄光学图像后取出，使用基质升华仪 iMLayer 和手动喷雾仪，在导电载玻片上涂敷 DHB (2,5-Dihydroxybenzoic acid) 基质。涂敷基质后，将载玻片送入成像质谱显微镜进行数据采集。使用数据分析软件 IMAGEREVEAL MS 进行数据分析。质谱成像上机分析流程如图 2 所示。

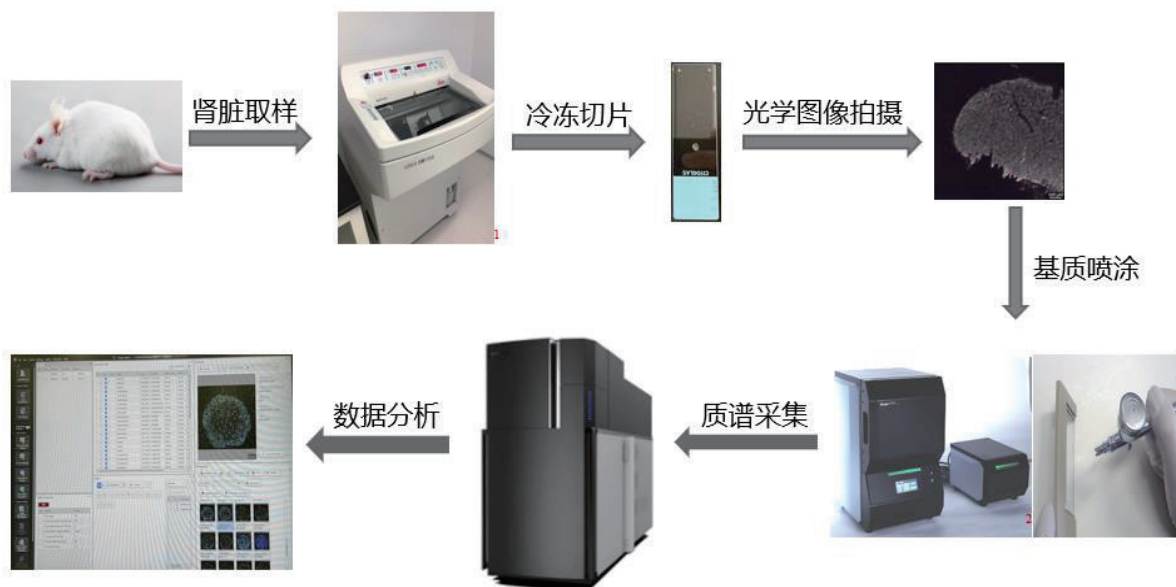


图 2 质谱成像上机分析流程图

## ■ 结果与讨论

将组织切片分别进行质谱采集，将质谱数据导入数据分析软件 IMAGEREVEAL MS 进行分析。对每个切片分别选定 ROI 并进行分组，Group A 为正常饮食小鼠，Group B 为高糖高脂饮食小鼠。将数据进行 TIC 归一化，用软件自带数据包 Lipids (一级质谱峰列表) 进行提取分析，结果显示约 100 余个脂质化合物有响应。然后进行检验分析，计算每组的平均值、比值、P 值等信息，最终从中筛选出 17 个上调脂质化合物，10 个下调脂质化合物。分析结果如表 1 和表 2 所示。

表 1 17 个上调脂质化合物 (上调倍数大于 2)

Label	m/z	Formula	Adduct Ion	Group A-Mean	Group B-Mean	Ratio (B/A)
Phosphatidylinositol(36:2)	901.5208	C <sub>45</sub> H <sub>83</sub> O <sub>13</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+K	1011	2565	2.54
Phosphatidylethanolamine(34:5)	748.4320	C <sub>39</sub> H <sub>68</sub> O <sub>8</sub> N <sub>1</sub> P <sub>1</sub>	M+K	1073	2701	2.52
Diacylglycerol(40:3)	675.5922	C <sub>43</sub> H <sub>78</sub> O <sub>5</sub> N <sub>0</sub> P <sub>0</sub>	M+H	217	511	2.35
Phosphatidylinositol(40:7)	947.5052	C <sub>49</sub> H <sub>81</sub> O <sub>13</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+K	855	1984	2.32
Phosphatidylcholine(30:2)	702.5068	C <sub>38</sub> H <sub>72</sub> O <sub>8</sub> N <sub>1</sub> P <sub>1</sub>	M+H	492	1138	2.31
Phosphatidylinositol(38:6)	905.515	C <sub>47</sub> H <sub>79</sub> O <sub>13</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+Na	830	1852	2.23
Phosphatidylglycerol(40:5)	863.5204	C <sub>46</sub> H <sub>81</sub> O <sub>10</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+K	707	1569	2.22
Phosphatidylethanolamine(30:0)	686.4731	C <sub>35</sub> H <sub>70</sub> O <sub>8</sub> N <sub>1</sub> P <sub>1</sub>	M+Na	2708	5938	2.19
Diacylglycerol(40:2)	677.6079	C <sub>43</sub> H <sub>80</sub> O <sub>5</sub> N <sub>0</sub> P <sub>0</sub>	M+H	258	560	2.17
Phosphatidylinositol(32:3)	843.4426	C <sub>41</sub> H <sub>73</sub> O <sub>13</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+K	945	2052	2.17
Phosphatidylinositol(40:8)	929.5150	C <sub>49</sub> H <sub>79</sub> O <sub>13</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+Na	880	1903	2.16
Phosphatidylcholine(40:9)	866.5102	C <sub>48</sub> H <sub>78</sub> O <sub>8</sub> N <sub>1</sub> P <sub>1</sub>	M+K	991	2125	2.14
Phosphatidylinositol(38:1)	931.5678	C <sub>47</sub> H <sub>89</sub> O <sub>13</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+K	601	1283	2.14
Phosphatidylinositol(40:4)	953.5521	C <sub>49</sub> H <sub>87</sub> O <sub>13</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+K	749	1569	2.09
Phosphatidylinositol(40:3)	955.5678	C <sub>49</sub> H <sub>89</sub> O <sub>13</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+K	715	1453	2.03
Phosphatidylinositol(38:7)	919.4739	C <sub>47</sub> H <sub>77</sub> O <sub>13</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+K	908	1838	2.03
Phosphatidylinositol(38:7)	903.4994	C <sub>47</sub> H <sub>77</sub> O <sub>13</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+Na	952	1920	2.02

表 2 10 个下调脂质化合物 (下调倍数大于 2)

Label	m/z	Formula	Adduct Ion	Group A-Mean	Group B-Mean	Ratio (B/A)
Phosphatidylglycerol(38:5)	797.5327	C <sub>44</sub> H <sub>77</sub> O <sub>10</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+H	3819	1852	0.48
Phosphatidylglycerol(40:6)	845.5303	C <sub>46</sub> H <sub>79</sub> O <sub>10</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+Na	4531	2131	0.47
Fatty acylcarnitines (26:1)	504.4023	C <sub>29</sub> H <sub>55</sub> O <sub>4</sub> N <sub>1</sub>	M+Na	386	181	0.47
Phosphatidylcholine(34:2)	796.5259	C <sub>42</sub> H <sub>80</sub> O <sub>8</sub> N <sub>1</sub> P <sub>1</sub>	M+K	7367	3239	0.44
Phosphatidylglycerol(36:3)	773.5327	C <sub>42</sub> H <sub>77</sub> O <sub>10</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+H	7118	3047	0.43
Phosphatidylcholine(38:6)	844.5259	C <sub>46</sub> H <sub>80</sub> O <sub>8</sub> N <sub>1</sub> P <sub>1</sub>	M+K	8004	3251	0.41
Phosphatidylcholine(32:0)	772.5259	C <sub>40</sub> H <sub>80</sub> O <sub>8</sub> N <sub>1</sub> P <sub>1</sub>	M+K	14277	5727	0.40
Phosphatidylglycerol(34:2)	785.4735	C <sub>40</sub> H <sub>75</sub> O <sub>10</sub> N <sub>0</sub> P <sub>1</sub>	M+K	6871	2010	0.29
Fatty acylcarnitines (25:1)	506.3612	C <sub>28</sub> H <sub>53</sub> O <sub>4</sub> N <sub>1</sub>	M+K	7651	1953	0.26
Fatty acylcarnitines (25:3)	502.3299	C <sub>28</sub> H <sub>49</sub> O <sub>4</sub> N <sub>1</sub>	M+K	5713	1421	0.25

如表 1 所示, 筛选出的 17 个上调脂质化合物包括: 10 个磷脂酰肌醇 (Phosphatidylinositol, PI) 类脂质化合物: PI(36:2)、PI(40:7)、PI(38:6)、PI(32:3)、PI(40:8) 等; 2 个磷脂酰乙醇胺 (Phosphatidylethanolamine, PE) 类脂质化合物: PE(34:5) 和 PE(30:0); 2 个甘油二酯 (Diacylglycerol, DG) 类脂质化合物: DG(40:3) 和 DG(40:2); 2 个磷脂酰胆碱 (Phosphatidylcholine, PC) 类脂质化合物: PC(30:2)、PC(40:9); 1 个磷脂酰

甘油 (Phosphatidylglycerol, PG) 类脂质化合物: PG(40:5)。如表 2 所示, 筛选出的 10 个下调脂质化合物包括: 3 个脂肪酰肉碱 (Fatty acylcarnitines) 类脂质化合物: Fatty acylcarnitines (26:1)、Fatty acylcarnitines (25:1) 和 Fatty acylcarnitines (25:3); 3 个磷脂酰胆碱类脂质化合物: PC(34:2)、PC(38:6)、PC(32:0); 4 个磷脂酰甘油类脂质化合物: PG(38:5)、PG(40:6)、PG(36:3)、PG(34:2)。

磷脂酰肌醇、磷脂酰乙醇胺被认为在代谢调控、信号传导方面起重要作用, 甘油二酯被认为在降血脂、减少内脏脂肪、抑制体重增加等方面有重要功能, 脂肪酰肉碱、磷脂酰胆碱和磷脂酰甘油参与动物体脂质代谢。质谱成像结果表明高糖高脂饮食模式引起了小鼠肾脏中磷脂酰肌醇、磷脂酰乙醇胺、甘油二酯、脂肪酰肉碱、磷脂酰胆碱和磷脂酰甘油这 6 类脂质化合物的含量变化, 提示它们可能与膳食模式及肥胖密切相关。

此外, 磷脂酰胆碱 (Phosphatidylcholine, PC) 和磷脂酰甘油 (Phosphatidylglycerol, PG) 类脂质化合物, 部分出现上调, 而另一部分则出现下调。例如, PC(30:2)、PC(40:9) 上调, 而 PG(40:5) 上调。说明不同种类的 PC 和 PG 对于膳食模式的响应不同。总体来看, 上述脂质化合物对研究膳食模式和脂质代谢的关系具有重要参考意义, 为研究肥胖机理、肥胖预防和治疗策略提供理论依据。

图 3-5 展示了一组正常饮食小鼠和高糖高脂小鼠肾脏组织中差异表达脂质化合物的代表性质谱成像结果。图 3 展示了小鼠肾脏组织切片光学图像; 图 4 展示了 3 个代表性上调脂质化合物 PE(30:0)、PE(34:5)、PI(32:3) 的质谱成像图; 图 5 展示了 3 个代表性下调脂质化合物 Fatty acylcarnitines (25:1)、Fatty acylcarnitines (25:3)、PC(32:0) 的质谱成像图。

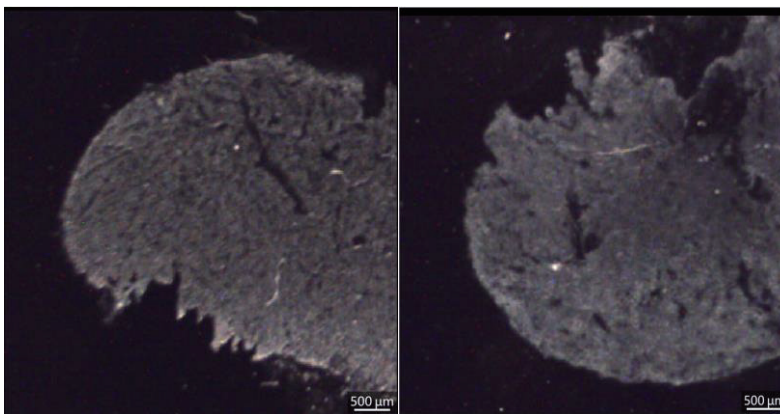
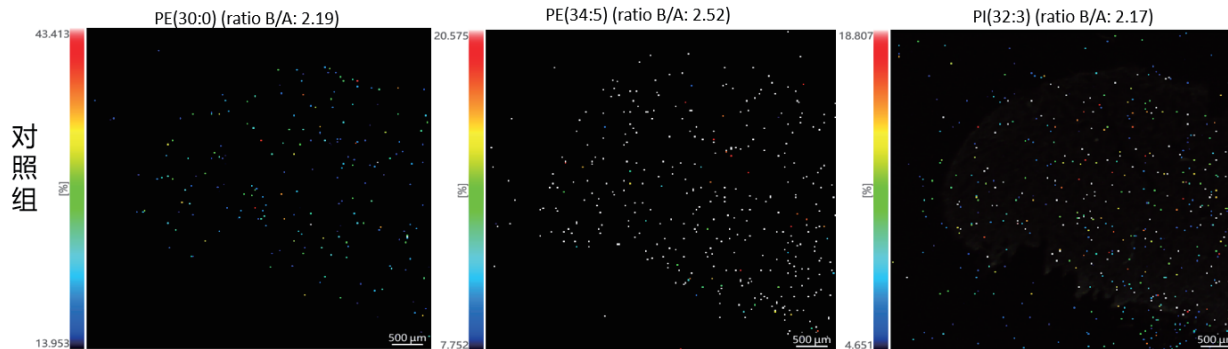


图 3 小鼠肾脏组织切片光学图像示例 (左: 正常饮食组; 右: 高糖高脂饮食组)



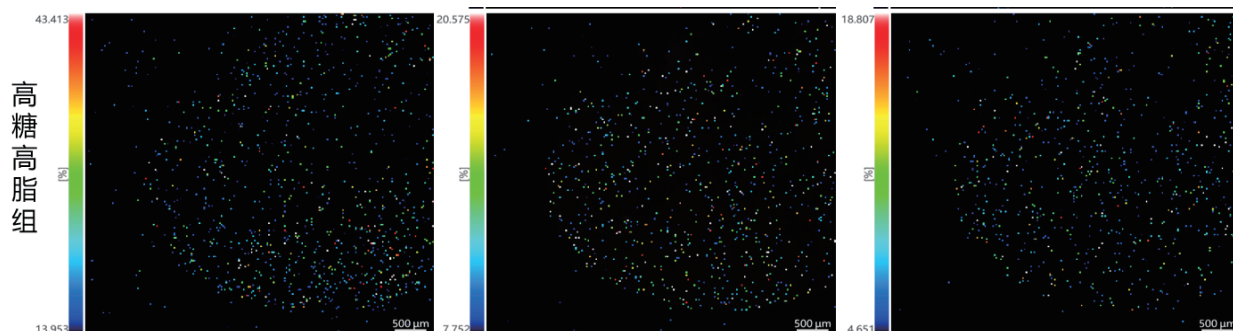


图4 代表性上调脂质化合物 PE(30:0)、PE(34:5)、PI(32:3) 的质谱成像图

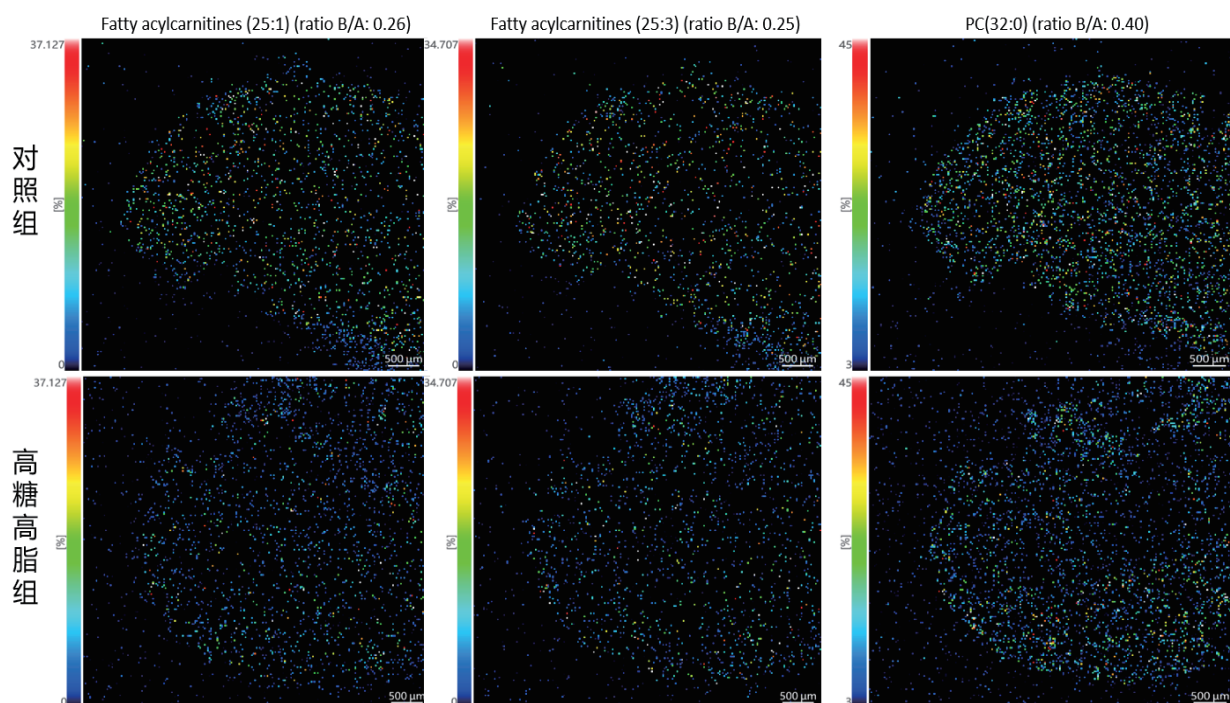


图5 代表性下调脂质化合物 Fatty acylcarnitines (25:1)、Fatty acylcarnitines (25:3)、PC(32:0) 的质谱成像图

## ■ 结论

本文应用岛津成像质谱显微镜 iMScope QT 研究正常饮食和高糖高脂饮食小鼠肾脏中脂质化合物的组间差异，经过质谱检测和数据分析，最终筛选出 17 个上调脂质化合物和 10 个下调脂质化合物，为研究肥胖症、膳食模式与脂质代谢关系提供了一种新的方法。iMScope QT 将光学显微镜和质谱仪整合成一体，既可观察得到高分辨率的形态图像，又可以对特定分子进行鉴定和可视化分布分析，为动物组织中脂质化合物分析提供一种新的研究手段。

岛津应用云

