iMScope QT 揭示五味子木脂素调控非酒精性脂肪性肝炎的分子机制

IMScope-042

摘要： 本文应用成像质谱显微镜技术，对非酒精性脂肪性肝炎（NASH）模型小鼠经五味子木脂素提取物（SLE）治疗前后肝组织中磷脂酰乙醇胺（PE）的空间分布进行了原位可视化分析，证实 SLE 治疗可以通过降低肝内 PE 水平来缓解蛋氨酸和胆碱缺乏（MCD）饮食引起的肝损伤。本研究为解析复杂疾病中的脂质代谢紊乱提供了强有力的可视化工具，也为新药研发中的靶点发现和药效评价开辟了新的路径。

关键词： 成像质谱显微镜　磷脂酰乙醇胺（PE）　非酒精性脂肪性肝炎（NASH）　五味子木脂素提取物（SLE）　空间分布

技术特点：

- 利用 iMScope QT 实现肝脏病理组织光学形态与分子分布的原位精准共定位，直观揭示了异常脂质在肝损伤区域的富集特征，克服了传统检测方法丢失空间信息的局限。
- 对 NASH 模型小鼠经 SLE 干预前后肝组织中磷脂酰乙醇胺的空间分布研究，为证实 SLE 通过调控磷脂酰乙醇胺的代谢异常改善 NASH 的分子机制提供了直观的可视化依据。

非酒精性脂肪性肝炎（NASH）是一类以肝脏脂质代谢紊乱为特征的慢性肝病，目前尚无获批的治疗药物。尽管甘油三酯蓄积被认为是 NASH 的早期标志，但特定脂质的异常代谢是推动 NASH 病情进展的关键因素 [1-3]。然而，究竟是哪些有害脂质在起主导作用，其空间分布如何，以及药物如何干预，仍是亟待解决的难题。

本研究构建了蛋氨酸和胆碱缺乏（MCD）饮食诱导的 NASH 小鼠模型，并给予五味子木脂素提取物（SLE）治疗，应用成像质谱显微镜（iMScope QT）对 NASH 模型小鼠 SLE 治疗前后肝组织中 PE(18:0/18:1) 等 PE 的空间分布进行了原位观察，结果显示，NASH 模型小鼠肝脏中 PE(18:0/18:1) 等脂质的信号强度显著高于对照组，SLE 给药后信号强度显著降低，直观证实 SLE 可缓解 NASH 肝脏 PE(18:0/18:1) 等脂质的组织蓄积。本研究为阐释五味子木脂素通过调控 PE 代谢异常缓解非酒精性脂肪性肝炎提供了直接的可视化依据，同时验证了 iMScope QT 在肝脏脂质空间代谢、中药药理机制研究中的应用价值，也为 NASH 候选药物研发提供了实验支撑。

■ 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
像　素　间　距：20 μm*20 μm
激　光　能　量：50（范围 0-100）
激　　光　　器：355 nm YAG 激光器
激光照射直径：5 μm
激光照射次数：200 shots

扫　描　频　率：5000 Hz　　扫　描　范　围：m/z 300-1000
检 测 器 电 压：2.5 kV

1.3 试剂与样品

基质：CHCA（α- 氰基 -4- 羟基肉桂酸）。

样品：小鼠肝脏组织，共包括三组：(i) 对照组：小鼠接受基础 MCS（蛋氨酸和胆碱补充）饮食 8 周；(ii) NASH 模型组：小鼠连续喂养 MCD（蛋氨酸和胆碱缺乏）饮食 8 周；(iii) NASH+SLE 组：NASH 模型小鼠每日经口灌胃给予 SLE（500 mg/kg/ 天），持续 2 周。最后，动物在麻醉状态下通过股动脉放血处死。迅速采集肝组织，-80℃保存。

1.4 样品前处理

冰冻切片：使用冷冻切片机（徕卡 CM1950）制作切片（厚度：10 μm）后，固定在 ITO 导电载玻片上，真空干燥 15 min。

基质涂敷：使用岛津基质升华仪 iMLayer 在样品切片表面进行基质涂敷，CHCA 基质沉积厚度设定为 0.7 μm，升华温度为 220℃。然后用喷笔在切片表面均匀喷洒 500 μL CHCA 基质溶液（1 mg/mL，溶解于 80% 甲醇水溶液）。

1.5 数据分析

使用 IMAGEREVEAL MS 软件进行数据可视化和相对定量分析，质量误差设定为 10 ppm。

结果与讨论

前期脂质组学研究发现，PE 在 NASH 模型小鼠中显著富集，而 SLE 给药能够剂量依赖性下调 NASH 模型小鼠体内 PE 的水平 [4]。为直观观察 NASH 疾病对 PE 空间分布的影响，本研究采用质谱成像技术，对比了对照组与 NASH 模型小鼠肝组织中脂质的分布特征（图 1、图 2）。NASH 小鼠中 PE(18:0/18:1)(m/z 746.5694) 的质谱强度显著高于对照组（图 1A、1B）。通过计算 PE(18:0/18:1) 平均质谱强度比值，评估 MCD 饮食对脂质分布的影响，结果显示，NASH 小鼠中 PE(18:0/18:1) 的平均信号强度约为对照组的 3 倍。此外，与对照组相比，其他主要的 PE，包括 PE(18:0/16:1)、PE(18:0/18:3)、PE(18:1/16:1)、PE(18:0/22:5)、PE(18:1/18:1) 等，在 NASH 小鼠中的含量亦显著升高（图 2）。

为进一步明确 SLE 给药对 PE 分布的影响，本研究对比了 NASH 与 NASH+SLE 小鼠肝组织中脂质的分布情况。如图 1C 和图 1D 所示，NASH+SLE 小鼠肝脏中 PE(18:0/18:1) 的质谱强度显著低于 NASH 小鼠，表明 500 mg/kg 剂量的 SLE 给药能够显著逆转由 MCD 饮食引起的 PE(18:0/18:1) 水平升高。此外，NASH 小鼠肝脏中 PE(18:0/16:1)、PE(18:0/18:3)、PE(18:1/16:1)、PE(18:0/22:5) 和 PE(18:1/18:1) 的水平也明显高于 NASH+SLE 小鼠（图 3）。

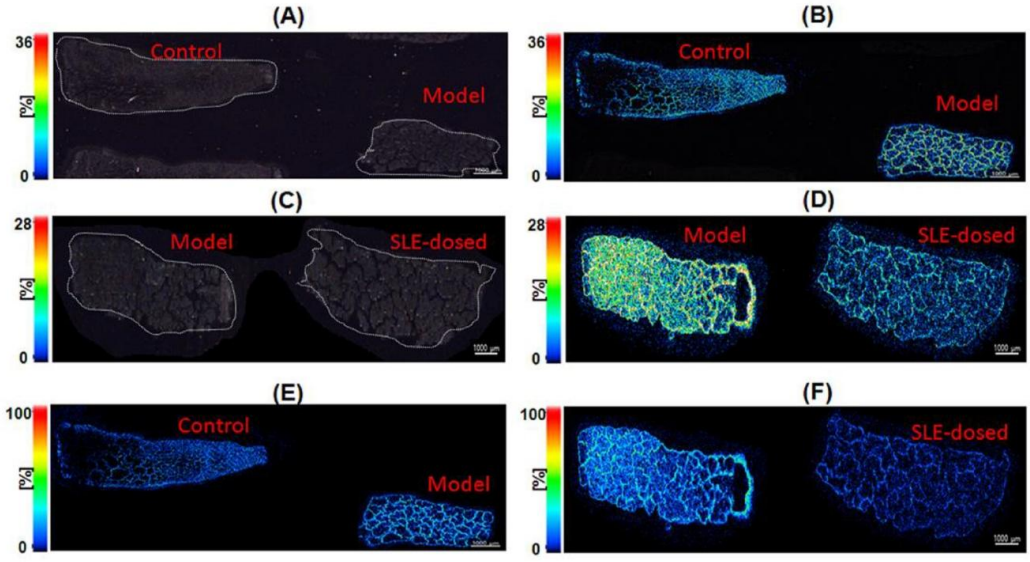


图 1　使用 iMScope QT 获取的小鼠肝脏中 PE(18:0/18:1) 的质谱成像图
(A) 对照组与 NASH 小鼠肝切片的光学图像；(B) 对照组和 NASH 小鼠肝内 PE(18:0/18:1) 的质谱成像图，强度标尺为 0–36%；(C) NASH 组和 NASH+SLE 组小鼠肝切片的光学图像；(D) NASH 组和 NASH+SLE 组小鼠肝内 PE(18:0/18:1) 的质谱成像图，强度标尺为 0–28%；(E) 对照组和 NASH 小鼠肝内 PE(18:0/18:1) 的质谱成像图，强度标尺为 0–100%，(F) NASH 组和 NASH+SLE 组小鼠肝内 PE(18:0/18:1) 的质谱成像图，强度标尺为 0–100%。

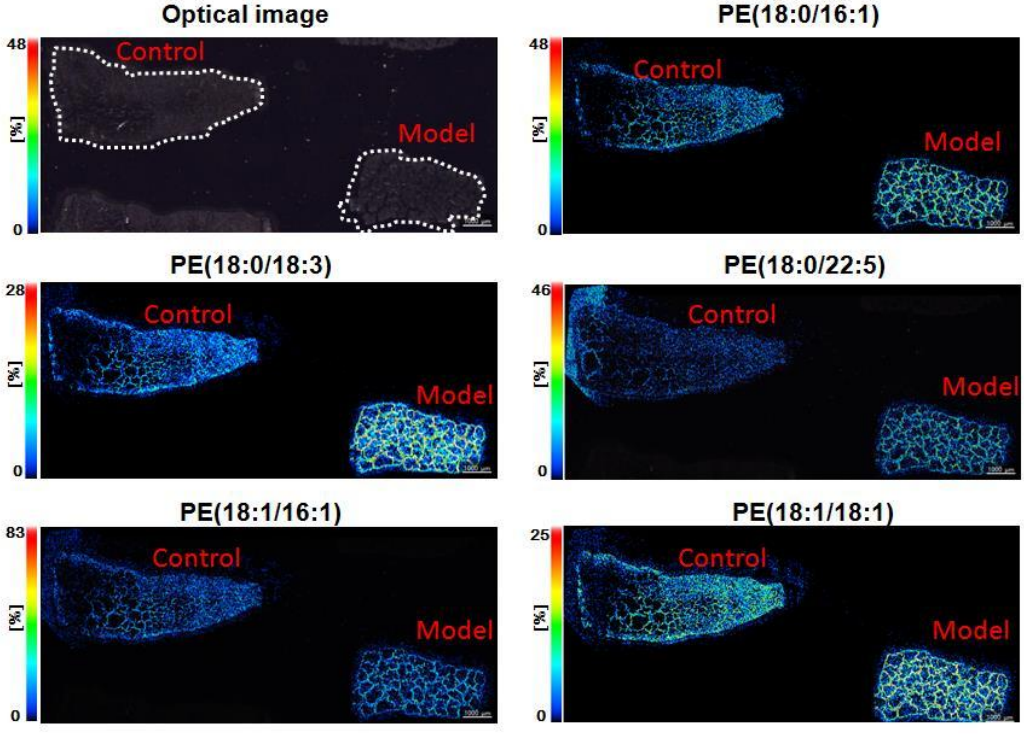


图 2　对照组与 NASH 模型小鼠肝脏中 PE(18:0/16:1)、PE(18:0/18:3)、PE(18:1/16:1)、PE(18:0/22:5) 及 PE(18:1/18:1) 的分布

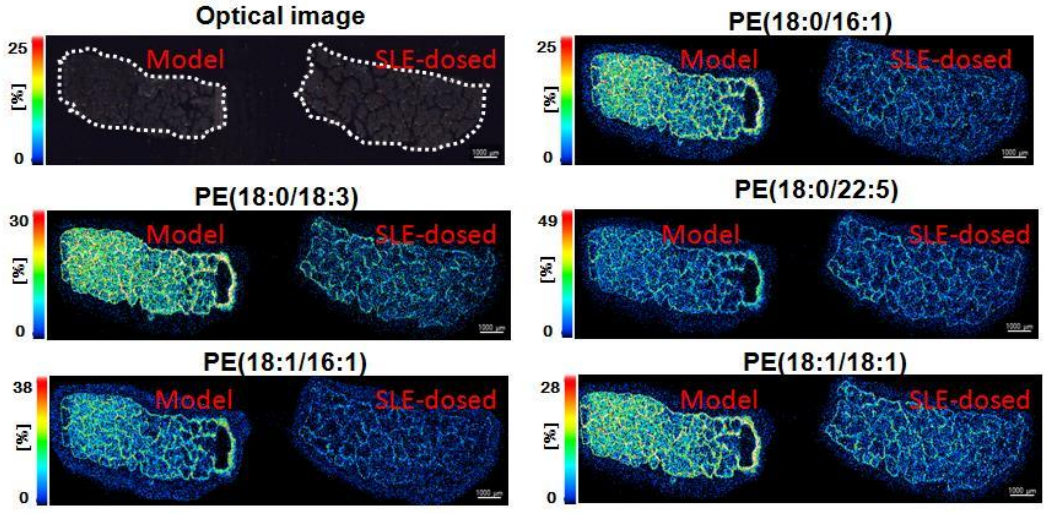


图 3　NASH 模型组与 NASH+SLE 给药组小鼠肝脏中 PE(18:0/16:1)、PE(18:0/18:3)、PE(18:1/16:1)、PE(18:0/22:5) 及 PE(18:1/18:1) 的分布

结论

本研究应用成像质谱显微镜技术，对 NASH 模型小鼠在五味子木脂素（SLE）干预前后的磷脂酰乙醇胺表达谱进行了原位可视化解析。成像结果显示，与对照组相比，NASH 模型小鼠肝脏中 PE(18:0/16:1)、PE(18:0/18:3) 及 PE(18:0/18:1) 等多种脂质分子呈现显著的高表达状态；而经 SLE 干预后，这些异常高表达的 PE 分子离子信号强度大幅下调，其空间分布特征亦逆转至接近正常水平。该发现直观证实 SLE 治疗可通过改善肝内 PE 代谢紊乱来缓解 MCD 饮食诱导的肝损伤，为解析其抗 NASH 机制提供了确凿的空间代谢组学证据，同时也展示了 iMScopeQT 技术在解析中药药效物质基础和作用机制方面的独特优势与巨大潜力。

参考文献

[1] Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD,Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. J Clin Invest. 2005;115:1343e51.

[2] Svegliati-Baroni G, Pierantonelli I, Torquato P, Marinelli R, Ferreri C, Chatgilialoglu C, et al. Lipidomic biomarkers and mechanisms of lipotoxicity in non-alcoholic fatty liver disease. Free Radic Biol Med 2019;144:293e309.

[3] Yamaguchi K, Yang L, McCall S, Huang J, Yu XX, Pandey SK, et al. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology 2007;45:1366e74.

[4] L.J. Xue, K.Q. Liu, C.X. Yan, J. Dun, Y.X. Xu, L.L. Wu, et al. Schisandra lignans ameliorate nonalcoholic steatohepatitis by regulating aberrant metabolism of phosphatidylethanolamines. Acta Pharm Sin B, 13 (2023), pp. 3545-3560

❖ 本研究由中国药科大学天然药物国家重点实验室王广基院士团队和岛津分析中心合作完成，研究成果已发表在《Acta Pharmaceutica Sinica B》[4]。

岛津应用云

岛津企业管理（中国）有限公司 –分析中心
Shimadzu (China) Co., LTD. – Analytical Applications Center
Email: dr_jin@shimadzu.com.cn　Tel: 86(21)34193983　http://www.shimadzu.com.cn