

大鼠脊髓损伤模型中脂质分布和变化 MALDI 成像分析

李梦娟¹, 陈凌杉², 刘仪轩³, 许官通¹, 王浩³, 国新华¹

(1. 吉林大学化学学院, 吉林 长春 130015; 2. 东北师范大学化学学院, 吉林 长春 130024;

3. 中国科学院长春应用化学研究所生态环境高分子材料重点实验室, 吉林 长春 130021)

摘要: 基质辅助激光解吸电离质谱(MALDI-MS)具有软电离性质, 可以得到单电荷离子的简洁谱图, 是分析生物分子的有力工具。基质辅助激光解吸电离质谱成像(MALDI-MSI)技术为生物分析提供了一种同时成像多种化合物的原位可视化工具。本团队前期发展了一种新型基质(*E*)-丙基- α -氰-4-羟基肉桂酸盐(CHCA-C3), 其适用于分析疏水性蛋白和多肽。本工作将 CHCA-C3 用于大鼠脊髓损伤(SCI)模型中脂质的检测, 对原发性脊髓损伤和继发性脊髓损伤后脊髓中脂质的分布和发生的变化进行原位成像分析。使用 CHCA-C3 基质, 在 m/z 500~900 范围内成功检测出 251 个质谱峰。通过比对数据库获得 25 种脂质, 发现其中 4 种脂质在损伤 12 h(急性期)、3 天(亚急性期)、7 天(亚急性期)呈现明显的差异性。利用分区模型(SM)和主成分分析(PCA)对检测出的 251 个谱峰进行全面分析, 发现在 SCI 的不同阶段, 代谢物分布存在明显变化。本研究结果不仅拓展了 CHCA-C3 基质在 MALDI-MSI 中的应用, 也为了解脊髓损伤发展过程中脂质分子的变化提供了有意义信息。

关键词: 基质辅助激光解吸电离质谱成像(MALDI-MSI); (*E*)-丙基- α -氰-4-羟基肉桂酸盐(CHCA-C3); 脊髓损伤(SCI); 脂质检测

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2024)06-0755-08

DOI: 10.7538/zpxb.2024.0110

CSTR: 32365.14.zpxb.2024.0110

MALDI Imaging Analysis of Lipid Distribution and Change in Rats with Spinal Cord Injury

LI Meng-juan¹, CHEN Ling-shan², LIU Yi-xuan³, XU Guan-tong¹, WANG Hao³, GUO Xin-hua¹

(1. College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130015, China; 2. College of Chemistry, Northeast Normal University, Changchun 130024, China; 3. Key Laboratory of Polymer Ecomaterials, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130021, China)

Abstract: Lipids are one of the most important biomolecules, where they serve as building blocks for cellular membranes and involve in signal transduction and energy storage. The molecular imaging of lipids is critical for understanding complex biological processes, especially under pathological conditions. Spinal cord injury (SCI) always leads to a severe insult motor and sensory function impairment. The direct physical damage to spinal cord will lead to secondary injury consisted of uncontrollable oxidative stress and sever neuroinflammation, subsequently causes lipid peroxidation.

The oxidative stress and lipid peroxidation in SCI result in alterations of lipid metabolism and homeostasis, thus induce the changes and heterogeneous spatial distribution of lipids. Therefore, mapping the lipid distribution in injured spinal cords is necessary for understanding the pathological microenvironment of SCI. Matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) mass spectrometry is a powerful imaging tool for *in situ* visualization of numerous biomolecules simultaneously. To improve the matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry imaging (MALDI-MSI) performance of lipids, developing new matrices is urged. Our previous studies have shown that the matrix of (*E*)-propyl α -cyano-4-hydroxycinnamylate (CHCA-C3) exhibits excellent performance for detecting hydrophobic proteins and peptides, which has good co-crystallization performance and increased hydrophobicity. Herein, CHCA-C3 was applied for MALDI-MSI of lipids after SCI, and the changes and spatial distribution of lipids at different times after SCI were analyzed. Compared with CHCA, CHCA-C3 shows profound improvement in lipid detection, that more MS peaks are obtained with higher intensity. Using CHCA-C3, 251 MS peaks are observed in MS spectra, and 25 of them are identified as lipids by searching against database. Moreover, the difference of lipid distribution in injured spinal cords at various time after SCI was investigated. And four lipids, including cholesterol ester CE (20:4), phosphatidylcholine PC (32:1), PC (34:0) and PC (40:0), show significant difference in the spatial distribution at 12 h (acute stage), 3 day (subacute stage) and 7 day (subacute stage) after SCI. Subsequently, the segmentation model (SM) and principal component analysis (PCA) were performed to comprehensive analyzing the 251 MS peaks, and obvious differences are found at spectra obtained from injured spinal cord at different injured phases. In conclusion, this research not only expands the application of CHCA-C3 in MALDI-MSI, but also provides the changes and spatial distribution of lipids in SCI. And the result provides the in-depth understanding of lipidomic changes in SCI, as well as supports the development of new therapeutic strategies for SCI treatment.

Key words: matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry imaging (MALDI-MSI); (*E*)-propyl α -cyano-4-hydroxycinnamylate (CHCA-C3); spinal cord injury (SCI); lipid analysis

基质辅助激光解吸离子化质谱(matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry, MALDI-MS)具有高通量、软电离、高耐盐性和高灵敏度等特点,由于通常产生单电荷离子,适用于复杂样品中多组分的快速分析,在化学制药、生物和临床医学检测中发挥着重要作用^[1]。质谱成像(mass spectrometry imaging, MSI)技术的发展为在复杂的生物组织样本中直接探测多种生物分子的空间分布提供了解决方案^[2]。与染色光谱成像相比,基质辅助激光解吸电离质谱成像(MALDI-MSI)的操作更简便,不需要组织切片中生物分子的先验信息,一次组织切片成像实验可绘制多种不同物质在组织上的分布,如,可以实现神经递质、小分子药物、脂质和多肽及其代谢产物等多种生物分子的同时检测^[3-5]。质谱成像正在成为一种强大的原位可视化工具。

脂质是生物体内一类重要的生物有机分子,参与许多重要的细胞过程:首先,脂质具有疏水性,是生物膜的主要成分;其次,脂质可以储存多余能量;最后,脂质参与细胞内外的信号传导过程^[6]。任何脂质代谢的不平衡都可能导致生物体内的严重疾病,如慢性炎症、心血管疾病、糖尿病和神经退行性疾病等^[7]。因此,识别和定量分析脂质在生物医学研究中的重要性不言而喻^[8]。

脊髓中含有大量脂质,占脊髓干重的50%^[9]。对脊柱的外部物理冲击会造成创伤性脊髓损伤(spinal cord injury, SCI),导致椎骨脱位并严重影响神经系统的整体功能。根据SCI的发展阶段,一般将其分为原发性脊髓损伤和继发性脊髓损伤。原发性损伤是指脊髓组织受伤时引起的不可逆的初始损伤;而继发性损伤是在原发性损伤

的基础上扩散到临近数个节段脊髓组织的一系列有害反应,周期性地导致神经元和神经胶质细胞死亡、缺血和炎症^[10]。其中,由于 SCI 时酶促反应活性降低,过量产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)无法被清除,会使脂质过氧化变质,诱发继发性脊髓损伤^[11]。因此,在 SCI 后利用成像技术对脂质进行定位成像分析,对于早期诊断损伤程度、了解继发性损伤原理及制定治疗方案至关重要。

MALDI-MS 作为一种快速可靠的脂质分析方法,可以追溯到 20 世纪 90 年代末^[12]。MALDI 技术可以通过成像分析提供组织中脂质分布的二维图像^[8]。与光谱成像技术相比, MALDI-MSI 只需要在组织切片表面均匀喷涂基质,既可以最大限度保留组织的原位生物信息,又可以同时获得多种组分的分布。在 MALDI-MSI 分析中,基质的选择很重要,其应有利于脂质的电离以获得良好的质谱信号,并且在组织上的沉积尽可能均匀,以确保检测分辨率和重现性^[8]。用于 MALDI 分析的常用脂质包括 1,5-二氨基萘(1,5-diaminonaphthalene, DAN)、 α -氰基-4-羟基肉桂酸(α -cyano-4-hydroxycinnamic acid, CHCA)、2,5-二羟基苯甲酸(2,5-dihydroxyphenylcarboxylic acid, DHB)和 9-氨基吡啶(9-aminoacridine, 9-AA)等^[13]。目前, MALDI-MSI 技术已被用于 SCI 模型中脂质分布和变化的检测。如,利用 DHB 基质对大鼠 SCI 后磷脂酰胆碱(phosphatidylcholines, PCs)的分布和变化进行 MALDI 成像,以确定 SCI 病理的潜在临床指标,发现脊髓损伤 1 周后撞击部位含有花生四烯酸的 PCs 升高^[14]。利用 DHB 基质对大鼠 SCI 模型中的长链酰基肉碱(long-chain acylcarnitines, LC Acs)进行 MALDI 特异性定位和检测,推测它们在 SCI 进程中的潜在生理病理作用,在 SCI 3 天后检测到棕榈酰肉碱 AC(16:0)、棕榈油基肉碱 AC(16:1)、反油醇肉碱 AC(18:1)和十四烷酰肉碱 AC(14:1), MSI 结果表明,这些脂质在受损脊髓中的分布不均匀,在病变边缘向病变中心的吻侧清晰,在位于尾部的区域变得广泛且较少局限于边缘^[15]。利用 DAN 基质 MALDI 成像卵磷脂诱导的病变部位脱髓鞘和随后的髓鞘再生过程中脂质组成的变化,确定潜在的髓鞘修复机制^[16]。利用新型基质苯甲醛缩对苯二胺双席夫碱(N1,N4-dibenzylidenebenzene-1,4-diamine, DBDA)成像小

鼠脑组织切片,绘制了小鼠脑切片中油酸、棕榈酸、硬脂酸、二十二碳六烯酸和花生四烯酸的分布图。与其他常用基质相比, DBDA 可检测到更丰富的信号,是检测游离脂肪酸和硫醇的一种优秀基质^[17]。

虽然 MALDI-MSI 在检测脂质分布方面已有相关成果,但远远不能满足对生物体内复杂生理过程的研究需求,在对组织切片表面复杂的生物分子进行全面捕捉和分析方面仍有很大的发展空间,这对基质的耐盐性和促进待测物分子电离的能力提出了新要求。本团队前期研究表明^[18], CHCA 羧基丙酯化的衍生物(*E*)-丙基- α -氰基-4-羟基肉桂酸脂(*E*)-propyl α -cyano-4-hydroxyl cinnamylate, CHCA-C3)作为基质具有良好的疏水性、高耐盐性、高耐洗性、强激光消融能力等优点,与疏水性多肽和蛋白形成更好的结晶,在 MALDI 分析中提高了它们的检测灵敏度。最近研究还表明^[19], CHCA-C3 与 CHCA 组成的协同基质用于细菌 MALDI 质谱分析,相比于 CHCA 基质,可以获得更多的指纹峰和更高质量的质谱图,预测 CHCA-C3 基质在脂质的 MALDI-MSI 中可能具有优良表现。

基于此,本工作拟使用 CHCA-C3 基质对大鼠 SCI 模型的脊髓切片进行成像分析,并利用分区模型(segmentation model, SM)和主成分分析(principal component analysis, PCA)等化学计量学方法研究脂质在 SCI 模型中的特征差异性分布。在大鼠脊髓损伤的不同关键时间点对脂质进行原位分析并识别病变部位,以了解 SCI 的发生和发展机理、减轻继发性损伤和恢复神经功能。

1 实验部分

1.1 样品与试剂

CHCA、乙腈(ACN)、甲醇(MeOH)、三氟乙酸(TFA)和磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.2~7.4): Sigma-Aldrich(中国上海)公司产品;实验用水:使用 Milli-Q 公司的净水系统制备;实验中使用的商业化溶剂和试剂均为市售的最高纯度,使用时没有进一步纯化。CHCA-C3 的合成参考文献^[18]。

1.2 大鼠 SCI 模型建立

Sprague-Dawley 大鼠(雌性 SD 大鼠、200~

250 g): 购自吉林大学实验动物中心,并在标准条件下饲养。所有动物实验均由中国科学院长春应用化学研究所动物伦理委员会批准,实验程序按照《动物实验保护与使用指南》(吉林大学动物保护与使用委员会)执行。

采用重物打击法建立 T10 节段的 SCI 挫伤模型^[20]。对大鼠切除椎板后,使用脊髓打击器对暴露的 T10 脊髓节段进行打击,建立 SCI 挫伤模型。

1.3 组织处理与基质制备

分别使用 ACN-H₂O 溶液(50:50, *V/V*)和 ACN-H₂O 溶液(70:30, *V/V*)配制 10 g/L CHCA 基质和 CHCA-C3 基质。

本实验分别于脊髓损伤后 12 h、3 天和 7 天将 SD 大鼠麻醉,随后在心脏主动脉处插入钝性针头,并剪开右心耳进行灌注。每只 SD 大鼠先用 100 mL PBS 灌注至无血液流出,随后以损伤部位为中心取 2 cm 脊髓组织,立即冷冻并于 -80 °C 保存,待下一步处理。用冷冻切片器(Leica CM1900, Leica Microsystems)切割冷冻脊髓组织,切片厚度 12 μm,将组织切片转移到导电的氧化铟锡(ITO)涂层玻璃载玻片(Bruker Daltonics)上,室温下真空干燥 15 min,用于 MALDI-MSI 分析。

1.4 MALDI-MSI 分析

使用自动气动喷雾器(TM-Sprayer, HTX Technologies)在组织切片上喷洒加热试剂,所有样品的喷嘴温度均设为 80 °C,喷洒试剂 20 次,采用交错(CC)模式进行喷洒,气流压强为 68 950 Pa,在没有进一步孵育的情况下对样品进行 MALDI-MSI 分析。

所有 MALDI-MSI 实验均使用 MALDI-TOF (ultrafleXtreme, Bruker Daltonics)质谱仪,配备 Smartbeam II 2 kHz 激光器三倍频(355 nm)脉冲 Nd:YAG 激光(Bremen, Germany),并在正离子反射模式下进行。在每次运行开始时优化激光功

率,然后在 MALDI-MSI 实验中保持恒定。质量扫描范围 m/z 100~900, MALDI-MSI 的激光照射点、空间分辨率、激光照射直径、激光频率分别为 500 次、60 μm、Medium、2 000 Hz。使用 FlexImaging 5.0 软件成像,所有切片的成像分辨率为 60 μm。将采集的成像数据导入 SciLS Lab 2022b Pro 软件进行总离子计数法归一化处理,对所有离子图像进行弱去噪化处理;采用 SM 和 PCA 对组织成像结果进行数据分析。

2 结果与讨论

2.1 CHCA-C3 基质可以获得更丰富的脂质信息

在健康大鼠脊髓切片上分别喷涂 CHCA 基质和 CHCA-C3 基质进行成像。将 FlexImaging 5.0 软件中的成像数据导入 SciLS Lab 软件进行分析,经总离子计数(total ion count)归一化、弱去噪化处理(weak denosing)后,分别得到了 2 张组织切片的平均成像质谱图。随后,设置最小峰宽度(minimal interval width)为 ± 0.284 u、阈值(threshold)约为 6,对平均谱图进行有效峰筛选(find peaks)。结果表明,在 m/z 500~900 之间,CHCA-C3 基质在检出峰数量和强度上具有明显优势。CHCA-C3 基质可以筛选出 251 个信号峰,基峰的绝对强度为 3.0;而 CHCA 基质检测出 151 个信号峰,基峰的绝对强度为 1.6,示于图 1。

将平均谱图查找得到的信号峰经 HMDB、LipidMaps 数据库以及参考文献比对,确定 25 种脂质信息,其中 16 种脂质分子属于甘油磷脂,包括磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酸(PA)、磷脂酰肌醇(PI)、磷脂酰酸(PS)和磷脂酰甘油(PG);5 种鞘磷脂(SM)脂质分子属于鞘脂;4 种胆固醇脂(CE)脂质分子属于固醇,结果列于表 1。相比于前文提到的在大鼠 SCI 模型中对脂质进行 MALDI-MSI 分析,使用 CHCA-C3 基质可以检出的脂质峰更多。

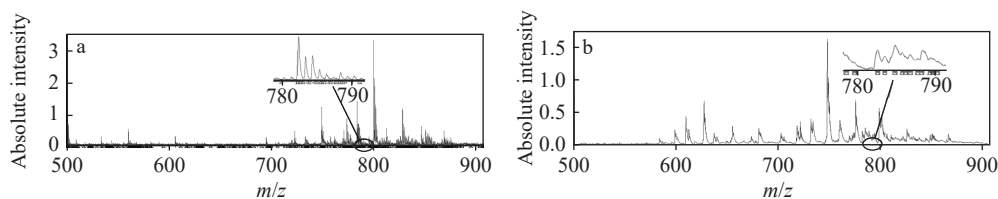


图 1 健康大鼠脊髓喷涂 CHCA-C3(a)和 CHCA(b)基质得到的平均谱图

Fig. 1 Mass spectra of normal rat spinal cord tissue using CHCA-C3 (a) and CHCA (b) as the matrix to spray

表1 大鼠健康脊髓表达的脂质分子信息
Table 1 Information of lipid markers in control rat spinal cord tissue

代谢物名称 Name	离子加合形式 Ion adduct	理论值 Theoretical value (<i>m/z</i>)	实测值 Measured value (<i>m/z</i>)	相对误差 Error/ $\times 10^{-4}$
PC (24:1)	[M+Na] ⁺	628.816	628.833	-0.27
CE (18:2)	[M+H] ⁺	650.109	650.031	1.20
CE (20:4)	[M+H] ⁺	673.592	673.534	0.86
SM (18:1)	[M+H] ⁺	675.544	675.481	0.93
CE (20:2)	[M+H] ⁺	677.623	677.640	-0.25
PA (18:1)	[M+H] ⁺	701.512	701.669	-2.20
SM (16:1)	[M+H] ⁺	703.575	703.425	2.13
SM (18:0)	[M+H] ⁺	705.591	705.752	-2.30
PC (16:0)	[M+H] ⁺	718.575	718.325	3.48
PC (32:1)	[M+H] ⁺	732.554	732.476	1.06
PC (32:0)	[M+H] ⁺	734.570	734.300	3.68
CE (24:0)	[M+H] ⁺	737.717	737.354	4.92
PC (34:0)	[M+H] ⁺	748.622	748.451	2.28
PC (18:1)	[M+H] ⁺	754.611	754.716	-1.40
SM (20:0)	[M+H] ⁺	759.638	759.794	-2.10
PS (18:1)	[M+H] ⁺	762.528	762.345	2.40
PG (18:3)	[M+H] ⁺	769.502	769.661	-2.10
PG (18:1)	[M+H] ⁺	771.517	771.540	-0.30
PG (18:0)	[M+H] ⁺	775.549	775.339	2.71
SM (24:1)	[M+H] ⁺	785.653	785.367	3.64
PC (36:0)	[M+H] ⁺	790.632	790.669	-0.47
PC (20:3)	[M+H] ⁺	794.606	794.316	3.65
PC (38:3)	[M+H] ⁺	798.637	798.522	1.44
PI (16:1)	[M+H] ⁺	809.518	809.642	1.50
PC (40:6)	[M+H] ⁺	820.622	820.515	1.30

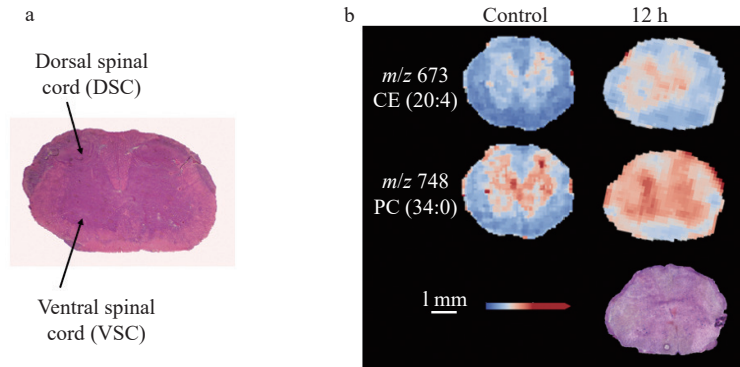
2.2 MALDI-MSI 分析脊髓损伤不同时间点的脂质分布情况

脊髓组织分为白质和灰质^[20],含有神经元细胞和神经胶质细胞的灰质呈蝴蝶状,被由神经纤维组成的白质包围在核心区域。核心灰质的结构可进一步细分为前角(腹侧)、后角(背侧)和侧角,示于图 2a。未损伤大鼠脊髓 MALDI-MSI 通常显示不同脂质种类的明显分布,它们根据灰质和白质形成谱图聚集^[21]。胆固醇酯是构成生物膜的重要组成部分之一,通过稳定细胞膜结构来维持其完整性,并且可转化为具有生物学活性的信使分子,参与调节细胞代谢过程。磷脂酰胆碱可以保护神经元免受氧化应激损伤。成像未损伤的大鼠脊髓,PC(34:0)(*m/z* 748)和 CE(20:4)(*m/z*

673)明显集中于灰质,灰质的“蝴蝶”形状容易识别且前角、后角定义清晰,示于图 2b。

脊髓损伤 48 h 内为急性期。此时,原发性损伤会立即诱发一系列相互关联的病理机制,引发神经功能紊乱^[20]。其中,组织乏氧和细胞内外离子浓度失衡使损伤处产生氧化应激,导致中枢神经系统脂质过氧化^[22]。对大鼠健康脊髓切片和脊髓损伤 12 h 时靠近损伤中心的脊髓切片进行成像,对比 2 种脂质的分布,可观察到灰质明显扭曲,示于图 2b。

脊髓损伤 48 h~14 天为亚急性期。在亚急性期,持续性的细胞死亡以及免疫细胞侵入使炎症级联反应继续恶化^[22]。在损伤脊髓组织内,常驻的星形胶质细胞和小胶质细胞,以及浸润的巨



注: Control 为大鼠健康脊髓; 12 h 为脊髓损伤 12 h

图 2 健康大鼠脊髓的 H&E 染色图(a); 在 MALDI 正离子模式下, 大鼠健康脊髓和损伤 12 h 时的脂质成像图(b)

Fig. 2 H&E stain of control rat spinal cord tissue (a), lipid images of rat spinal cord including control tissue and injured tissue at 12 h by MALDI under positive ion mode (b)

噬细胞、淋巴细胞和中性粒细胞等免疫细胞协同作用, 诱导巨噬细胞极化成 M1 型(促炎)或 M2 型(抗炎/促再生)^[23]。M1 型巨噬细胞促进氧化应激, M2 型细胞促进脊髓组织再生, 减轻炎症反应。因此, 脊髓内部整体处于功能失调状态。通过 MALDI 成像脂质分布和变化, 可以评估 SCI 亚急性期脊髓微环境的状态。

随后, 对大鼠脊髓损伤 3 天和 7 天时靠近损伤中心的 4 种脂质(CE(20:4)、PC(32:1)、PC(34:0)和 PC(40:0))进行成像, 示于图 3。与健康大鼠脊髓切片对比, 损伤 3 天时的灰质扭曲明显, 且局部相对信号强度更高, 表明脂质代谢水平存在分布和浓度的潜在差异, 特别是损伤部位; 损伤 7 天时的灰质扭曲部分集中在后角, 侧角及后角的“蝴蝶”形状恢复明显。由于大鼠的脊髓损伤

模型是从背侧打击损伤, 根据成像结果推测灰质后角受损更严重, 恢复效果更差, 所需时间更长, 且检测到变化的脂质相对含量更高。同时, 后角含有中间神经元和传入感觉神经元的轴突, 损伤会影响对感觉信息和复杂活动相关信息的传递^[24]。

2.3 对 MALDI-MSI 成像结果进行 SM 和 PCA 分析

利用分区模型, 通过 k-means 聚类进行分割, 对成像分析检测到的 251 个谱峰进行分析, 结果示于图 4。可见, 健康脊髓的分区图明显由灰质(蓝紫色)和白质(紫色和绿色)组成, 其中, 白质的前索(绿色)和后索(紫色)可以成功区分。损伤 3 天时, 灰质和白质不能明显分区, 灰质区域典型的“蝴蝶”形状丧失, 表示脊髓切片

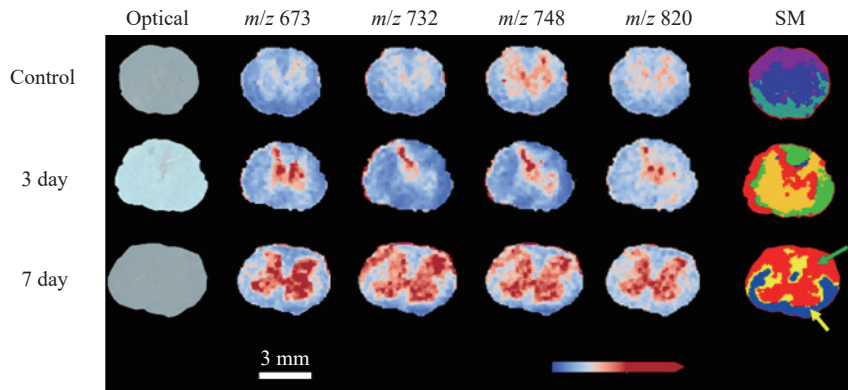
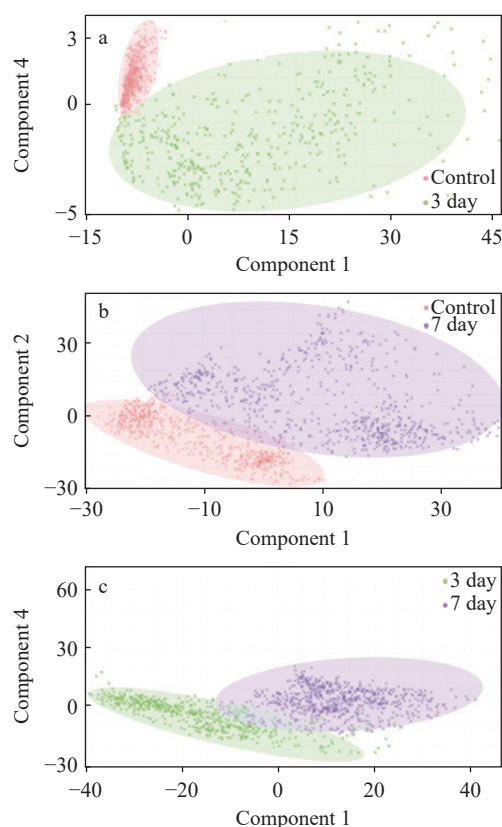


图 3 在 MALDI 正离子模式下, 大鼠健康脊髓、损伤 3 天和 7 天时的脂质成像和分区模型

Fig. 3 Lipid images and models of rat spinal cord including control tissue, injured tissue at 3 day and 7 day by MALDI under positive ion mode

中代谢物含量和分布破坏显著。损伤7天时,灰质的后角和白质的后索不能区分(绿色箭头),而侧角及后角与白质的前索可以明显区分(黄色箭头),与脂质成像图吻合。



注: a. 大鼠健康脊髓 vs. 损伤3天; b. 大鼠健康脊髓 vs. 损伤7天; c. 损伤3天 vs. 损伤7天

图4 大鼠健康脊髓与脊髓损伤的PCA图

Fig. 4 PCA analysis of control rat spinal cord tissue and injured tissue

将大鼠健康脊髓的成像图与脊髓损伤3天(图4a)、7天(图4b)时的成像图进行PCA分析(置信度85%),选择总离子计数法进行归一化。结果表明,未损伤的脊髓与损伤的脊髓有明显差异,同样,脊髓损伤3天和7天也存在明显区分。表明在脊髓损伤的亚急性期,损伤部位的代谢发生变化。这为亚急性期脊髓微环境的研究,探索恢复脊髓功能的治疗方法提供了支持^[25-26]。

3 结论

本研究利用新型基质CHCA-C3成像脊髓切片,确定多种脂质代谢物在脊髓损伤不同阶段的分布和相对含量,进一步了解继发性脊髓损伤过程。通过对比CHCA-C3和CHCA基质的MALDI-

MSI平均谱图,发现CHCA-C3基质在检测灵敏度和信号强度方面均具有明显优势,可检测到更多脂质信息。随后,将CHCA-C3基质用于MALDI-MSI分析,将未损伤大鼠及损伤后不同阶段的大鼠脊髓切片进行原位成像分析并识别病变部位,发现不同损伤阶段的脂质分布存在明显差异。同时,利用分区模型和PCA分析进一步精确区分脊髓不同区域的损伤情况和后续变化。本研究对于理解脊髓损伤的复杂病理生理过程,指导脊髓损伤的治疗具有重要意义。

参考文献:

- [1] ZÜLLIG T, KÖFELER H C. High resolution mass spectrometry in lipidomics[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2021, 40(3): 162-176.
- [2] SHARIATGORJI M, SVENNINGSSON P, ANDRÉN P E. Mass spectrometry imaging, an emerging technology in neuropsychopharmacology[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2014, 39(1): 34-49.
- [3] GIROD M, SHI Y, CHENG J X, COOKS R G. Mapping lipid alterations in traumatically injured rat spinal cord by desorption electrospray ionization imaging mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(1): 207-215.
- [4] NORRIS J L, CAPRIOLI R M. Analysis of tissue specimens by matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry in biological and clinical research [J]. *Chemical Reviews*, 2013, 113(4): 2 309-2 342.
- [5] SHARIATGORJI M, NILSSON A, FRIDJONSDOTTIR E, VALLIANATOU T, KÄLLBACK P, KATAN L, SÄVMARKER J, MANTAS I, ZHANG X, BEZARD E, SVENNINGSSON P, ODELL L R, ANDRÉN P E. Comprehensive mapping of neurotransmitter networks by MALDI-MS imaging[J]. *Nature Methods*, 2019, 16(10): 1 021-1 028.
- [6] RUSTAM Y H, REID G E. Analytical challenges and recent advances in mass spectrometry based lipidomics [J]. *Analytical Chemistry*, 2018, 90(1): 374-397.
- [7] BROWN H A, THOMAS P G, LINDSLEY C W. Targeting phospholipase D in cancer, infection and neurodegenerative disorders[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2017, 16(5): 351-367.
- [8] ZÜLLIG T, TRÖTZMÜLLER M, KÖFELER H C. Lipidomics from sample preparation to data analysis: a primer[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2020, 412(10): 2 191-2 209.
- [9] PEÑA-BAUTISTA C, VENTO M, BAQUERO M,

- CHÁFER-PERICÁS C. Lipid peroxidation in neurodegeneration[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2019, 497: 178-188.
- [10] AHUJA C S, WILSON J R, NORI S, KOTTER M R N, DRUSCHEL C, CURT A, FEHLINGS M G. Traumatic spinal cord injury[J]. *Nature Reviews Disease Primers*, 2017, 3: 17 018.
- [11] ANJUM A, YAZID M D, FAUZI DAUD M, IDRIS J, NG A M H, SELVI NAICKER A, ISMAIL O H R, ATHI KUMAR R K, LOKANATHAN Y. Spinal cord injury: pathophysiology, multimolecular interactions, and underlying recovery mechanisms[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(20): 7 533.
- [12] SCHILLER J, ARNHOLD J, BENARD S, MÜLLER M, REICHL S, ARNOLD K. Lipid analysis by matrix-assisted laser desorption and ionization mass spectrometry: a methodological approach[J]. *Analytical Biochemistry*, 1999, 267(1): 46-56.
- [13] LING L, LI Y, WANG S, GUO L, XIAO C, CHEN X, GUO X. DBDA as a novel matrix for the analyses of small molecules and quantification of fatty acids by negative ion MALDI-TOF MS[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2018, 29(4): 704-710.
- [14] HANADA M, SUGIURA Y, SHINJO R, MASAKI N, IMAGAMA S, ISHIGURO N, MATSUYAMA Y, SETOU M. Spatiotemporal alteration of phospholipids and prostaglandins in a rat model of spinal cord injury[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 403(7): 1 873-1 884.
- [15] QUANICO J, HAUBERG-LOTTE L, DEVAUX S, LAOUBY Z, MERIAUX C, RAFFO-ROMERO A, ROSE M, WESTERHEIDE L, VEHMEYER J, RODET F, MAASS P, CIZKOVA D, ZILKA N, CUBINKOVA V, FOURNIER I, SALZET M. 3D MALDI mass spectrometry imaging reveals specific localization of long-chain acylcarnitines within a 10-day time window of spinal cord injury[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 16 083.
- [16] SEKERA E R, SARASWAT D, ZEMAITIS K J, SIM F J, WOOD T D. MALDI mass spectrometry imaging in a primary demyelination model of murine spinal cord[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2020, 31(12): 2 462-2 468.
- [17] KHAMIDOVA N, PERGANDE M R, PATHMASIRI K C, KHAN R, MOHR J T, COLOGNA S M. DBDA matrix increases ion abundance of fatty acids and sulfatides in MALDI-TOF and mass spectrometry imaging studies[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2023, 34(8): 1 593-1 597.
- [18] WANG S, XIAO Z, XIAO C, WANG H, WANG B, LI Y, CHEN X, GUO X. (*E*)-Propyl α -cyano-4-hydroxyl cinnamylate: a high sensitive and salt tolerant matrix for intact protein profiling by MALDI mass spectrometry[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2016, 27(4): 709-718.
- [19] ZHAO N, WANG H, LI J, LIN X, GUO L, GUO X. A promoted MALDI-TOF-MS platform towards rapid and accurate identifications of bacteria[J]. *Microchemical Journal*, 2024, 200: 110 356.
- [20] GILBERT R J, RIVET C J, ZUIDEMA J M, POPOVICH P G. Biomaterial design considerations for repairing the injured spinal cord[J]. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 2011, 39(2): 125-180.
- [21] HÁJEK R, JIRÁSKO R, LÍSA M, CÍFKOVÁ E, HOLČAPEK M. Hydrophilic interaction liquid chromatography-mass spectrometry characterization of gangliosides in biological samples[J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(22): 12 425-12 432.
- [22] LI C, XIONG W, WAN B, KONG G, WANG S, WANG Y, FAN J. Role of peripheral immune cells in spinal cord injury[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2022, 80(1): 2.
- [23] HU X, XU W, REN Y, WANG Z, HE X, HUANG R, MA B, ZHAO J, ZHU R, CHENG L. Spinal cord injury: molecular mechanisms and therapeutic interventions[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2023, 8(1): 245.
- [24] PRINZ M, JUNG S, PRILLER J. Microglia biology: one century of evolving concepts[J]. *Cell*, 2019, 179(2): 292-311.
- [25] GIRÃO A F, SERRANO M C, COMPLETO A, MARQUES P A A P. Is graphene shortening the path toward spinal cord regeneration?[J]. *ACS Nano*, 2022, 16(9): 13 430-13 467.
- [26] LIU Y, LIN F, WU C, LIU W, WANG H, XIAO C, CHEN X. *In situ* reaction-generated aldehyde-scavenging polypeptides-curcumin conjugate nanoassemblies for combined treatment of spinal cord injury[J]. *ACS Nano*, 2024, 18(10): 7 346-7 362.

(收稿日期: 2024-06-30; 修回日期: 2024-09-11)