

## 【药效学评价】

## HPA轴紊乱致海马损伤与乳腺癌并发抑郁症相关性研究

杨 琴<sup>1#</sup>, 孟 盼<sup>2#</sup>, 杨 蕙<sup>1</sup>, 凌 佳<sup>2</sup>, 王宇红<sup>1, 2\*</sup>, 杜 青<sup>3</sup>, 韩远山<sup>2</sup>

1. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007

2. 湖南省中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室培育基地, 湖南 长沙 410208

3. 湖南省中医药研究院, 湖南 长沙 410006

**摘要:**目的 探讨HPA轴紊乱致海马损伤与乳腺癌并发抑郁症(BCRD)的相关性。方法 将BALB/c雌性小鼠分为4组:对照组、乳腺癌组(腋下1次性接种0.1 mL的10<sup>7</sup>/mL 4T1炎性乳腺癌细胞)、抑郁症组(背部sc皮质酮混悬液30 mg/kg, 每天1次, 连续21 d)和BCRD(先进行乳腺癌造模后进行抑郁症造模)组, 每组10只。每周1次糖水偏好测试;连续注射皮质酮21 d后, 进行旷场、悬尾行为学实验;杀鼠取材, HE染色观察各组大鼠海马、肾上腺和肿瘤的病理改变;Elisa法检测血浆促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)、促肾上腺皮质激素(ACTH)、皮质酮含量。**结果** 与对照组比较, BCRD组小鼠糖水消耗明显降低( $P<0.01$ ), 第3周与乳腺癌组比较显著下降( $P<0.05$ )。与对照组、抑郁症组、乳腺癌组比较, BCRD组小鼠旷场实验中水平运动与垂直运动显著减少( $P<0.05$ ), 悬尾实验中不动时间显著上升( $P<0.01$ )。HE染色结果显示, 与对照组比较, BCRD组小鼠海马、肾上腺出现明显病理改变, 乳腺肿瘤细胞异常增生。与对照组比较, BCRD组血浆HPA轴相关指标皮质酮、ACTH和CRH含量显著升高( $P<0.01$ 、 $0.05$ );与抑郁症组比较, BCRD组皮质酮、ACTH和CRH明显升高( $P<0.05$ 、 $0.01$ );与乳腺癌组比较, BCRD组皮质酮、ACTH明显升高( $P<0.05$ )。**结论** BCRD小鼠存在快感缺乏、自主行为下降和绝望行为, 并且海马和肾上腺存在明显损伤, HPA轴紊乱。

**关键词:** 乳腺癌并发抑郁症; 海马损伤; HPA轴紊乱; 糖水偏好; 旷场; 悬尾; 行为学

中图分类号: R962.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2018)12-2176-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.12.008

## Correlation between damaged hippocampus induced by HPA axis disturbance and breast cancer complicated with depression in animal

YANG Qin<sup>1</sup>, MENG Pan<sup>2</sup>, YANG Hui<sup>1</sup>, LING Jia<sup>2</sup>, WANG Yuhong<sup>1, 2</sup>, DU Qing<sup>3</sup>, HAN Yuanshan<sup>2</sup>

1. First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China

2. Training Bases, Hunan Key Laboratory of Chinese Materia Medica Powder and Innovative Drugs Established by Provincial and Ministry, Changsha 410208, China

3. Hunan Institute of traditional Chinese Medicine, Changsha 410006, China

**Abstract: Objective** To investigate the relationship between hippocampal injury induced by HPA axis disorder with breast cancer complicated with depression (BCRD). **Methods** A total of 40 BALB/c female mice were divided into four groups: blank group, simple breast cancer group (0.1 mL 10<sup>7</sup>/mL 4T1 inflammatory breast cancer cells were inoculated once on the axilla of mice), simple depression group (subcutaneous injection of 30 mg/kg corticosterone suspension was given on the back of mice, once daily for 21 d) and BCRD (establish depression model followed by breast cancer model establishment) group. The sugar water preference test was

收稿日期: 2018-05-17

基金项目: 湖南省自然科学基金(2017JJ3235);湖南省研究生创新项目(2017CX30);湖南省研究生一方项目(YF201702)

#第一作者: 杨 琴(1990—),女,硕士,研究方向为中药药理与创新药物研究。E-mail: 2309218145@qq.com

孟 盼(1988—),女,博士,助理研究员,研究方向为神经精神疾病的机制研究及防治。

#为共同第一作者

\*通信作者: 王宇红(1965—),女,研究员,博士研究生导师,研究方向为中药神经药理。E-mail: wyh107@126.com

tested once a week; Detection open field experiment and tail suspension test were performed after continuous injection of corticosterone for 21 d in mice; HE staining was used to study the pathological changes of hippocampus, adrenal, and breast cancer tumors; Elisa was used to detect plasma adrenocorticotropin releasing hormone (CRH), adrenocorticotrophic hormone (ACTH), and cortisone. **Results** Compared with control group, the consumption of sugar water in the BCRD group was significantly lower ( $P < 0.01$ ), and the consumption of sugar and water in BCRD group was significantly lower than that in breast cancer group at the 3rd week ( $P < 0.05$ ). The horizontal and vertical movements in the open field experiment were significantly decreased ( $P < 0.05$ ) compared with control group, depression group, and breast cancer group; The immobility time was significantly increased in the tail suspension test ( $P < 0.01$ ); HE staining showed that there were obvious pathological changes in the hippocampus and adrenal gland compared with control group; The CORT, ACTH, and CRH were increased significantly ( $P < 0.05$  and  $0.01$ ) compared with control group. Compared with depression group, corticosterone, ACTH, and CRH in BCRD group were increased significantly ( $P < 0.05$  and  $0.01$ ); Compared with breast cancer group, corticosterone and ACTH in BCRD group were increased significantly ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The BCRD mice had the characteristics of lack of pleasure, decreased autonomic behavior, and desperate behavior. Moreover, the hippocampus and adrenal gland of mice with HPA axis disorder were obviously damaged.

**Key words:** breast cancer complicated with depression; hippocampal injury; HPA axis disorder; sugar water preference; open field; hanging tail; behavior

乳腺癌是女性第二位最常见恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。随着治疗手段的不断革新,乳腺癌的治愈率虽有提高,但从发病到诊断再到治疗期间,患者极易出现抑郁症,严重影响乳腺癌的发生、发展、治疗和转归,并且,抑郁情绪会减少癌症患者20%~30%的生存时间<sup>[2]</sup>。目前研究显示,乳腺癌并发抑郁症(breast cancer complicated with depression, BCRD)的发病机制主要与下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴功能紊乱,尤其与促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)、皮质醇(COR)的释放密切相关<sup>[3]</sup>。HPA轴失调依赖性的海马神经元新生障碍是抑郁产生的主要驱动力<sup>[4]</sup>。因此本实验旨在研究HPA轴紊乱致海马损伤与BCRD发病的关联性,意在为该疾病的发病机制研究提供理论与实验依据。

## 1 材料

### 1.1 实验动物与细胞

SPF级BALB/c雌性小鼠,4~6周龄,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(湘)2013-0004,动物合格证号43004700025656。动物自购买之日起,在光暗周期为12 h/12 h环境中适应性喂养5 d,自由获取食物与水。

4T1炎性乳腺癌元代细胞株,购买于上海科学院细胞库。

### 1.2 主要试剂

皮质酮(CORT),索莱宝生物公司;RPMI培养基、双抗、胰酶,美国HyClone;胎牛血清,杭州四季青生物工程材料有限公司;DAB显色试剂盒、PBS缓冲液,中杉金桥;DMSO,上海蓝润化学有限公司;

二甲苯、伊红、苏木素、多聚甲醛、无水乙醇,海汇虹试剂有限公司。

### 1.3 主要仪器

TS-12A生物组织自动脱水机、BM-VIII生物组织包埋机、CS-VI摊片烤片机,湖北孝感宏业医用仪器有限公司;生物组织切片机, THERMO SCIENTIFIC;光学显微镜, ZEISS; DH-250型电热恒温培养箱,北京市科伟永兴仪器有限公司;自动双重水蒸馏器,上海健强玻璃仪器有限公司。

## 2 方法

### 2.1 4T1炎性乳腺癌细胞的培养与收集

4T1炎性乳腺癌原代细胞株,加入含有RPMI培养液(内含10%胎牛血清、1%双抗)10 mL,放入37℃恒温培养箱中,培养2 d后,观察细胞生长状态;若长至80%~90%,弃去培养液,用适量PBS洗1次,弃PBS,加入3 mL胰酶放入培养箱中消化2 min后,细胞消化80%~90%,加入2倍胰酶体积的培养液终止消化,4℃、1 500 r/min离心8 min,弃去培养液,加入适量PBS轻轻吹打细胞,使其完全成悬浮状态;4℃、1 500 r/min离心8 min,弃PBS,加入培养液,将细胞浓度调整为 $10^6/\text{mL}$ ,置于培养箱中培养,待细胞生长至对数期时,将细胞消化收集,用PBS将细胞吹打成单个悬浮状态,并将其浓度调整为 $10^7/\text{mL}$ 。

### 2.2 BCRD动物模型的制备<sup>[5-6]</sup>

以BALB/C雌性小鼠为造模对象,在其腋下1次性接种0.1 mL的 $10^7/\text{mL}$  4T1炎性乳腺癌细胞,制备乳腺癌小鼠模型,接种7 d后,观察其是否成瘤,小鼠接种细胞的腋下出现米粒大小颗粒为乳腺癌造模成功。

在乳腺癌小鼠成功造模后,采用背部sc CORT混悬液(每300 mg CORT用5 mL DMSO预溶解,超声充分溶解后,加入95 mL生理盐水),30 mg/kg,每天1次,连续21 d,制备抑郁症小鼠模型。

### 2.3 动物分组

小鼠适应性喂养5 d后,按体质量随机分为2部分:其中1部分腋下接种4T1炎性乳腺癌细胞,乳腺癌成模后小鼠按糖水消耗随机分为2组:乳腺癌组和BCRD组,每组10只;另一部分未注射4T1细胞的小鼠同时给予等体积的PBS,按糖水消耗分为2组:对照组和抑郁症组,每组10只。BCRD组先进行乳腺癌造模后进行抑郁症造模,乳腺癌组仅进行乳腺癌造模,抑郁症组仅进行抑郁症造模,造模方法见“2.2”项,乳腺癌组和对对照组给予等体积CORT溶剂。

### 2.4 指标检测

**2.4.1 糖水偏好** 将小鼠饲养于单笼内,禁食禁水12 h后,给予事先称好质量的1%蔗糖水和蒸馏水各1瓶,1 h后取出水瓶,称量出剩余的蔗糖水与蒸馏水质量,计算糖水消耗度。糖水消耗总共测量4次,时间分别为抑郁造模前,造模后1、2、3周。

糖水消耗度=糖水消耗量/(蒸馏水消耗量+糖水消耗量)

**2.4.2 旷场实验** 连续注射CORT 21 d后,小鼠禁食不禁水24 h,将动物放入箱内底面中心,试验箱规格为50 cm×50 cm×40 cm。适应30 s后,观察并记录动物在3 min内双后肢跨越方格的个数(水平运动)与前肢腾空或攀爬墙壁的次数(垂直运动)。试验在无光源的环境中进行,观察完毕擦拭箱内壁及底面,以免上次动物余留的信息影响下次测试结果。

**2.4.3 悬尾实验** 连续注射CORT 21 d后,小鼠禁食不禁水24 h后,将动物尾巴靠近尾部部分固定在距离地面60 cm处,使其呈倒挂状态,动物之间留有一定距离,并视线彼此隔离,适应30 s后,记录动物3 min内四肢不动时间。

**2.4.4 海马、乳腺肿瘤及肾上腺病理检测** 行为学检测结束后,将小鼠处死,剪开头皮,露出头骨,打开枕骨大孔,沿矢状缝翘开颅骨,用镊子轻轻将脑剥离出来即可。剪开小鼠腹部,用棉球推开胃肠和脾脏,找到双肾,双肾上方白色米粒大小颗粒即为肾上腺,用弯镊夹起肾上腺周围脂肪组织,随之将肾上腺分离出即可。在肿瘤下方开一小口,将皮肤与肿瘤组织做钝性分离后取下肿瘤组织,将黏连在肿瘤上的黏膜与肌肉清理干净,用生理盐水洗净毛

发与血液。

取出的脑、乳腺肿瘤、肾上腺快速放入4%多聚甲醛溶液中固定。将固定好的脑、乳腺肿瘤和肾上腺组织,分别进行常规石蜡包埋,4 μm切片;放入分别装有二甲苯I和II的玻璃缸中各脱蜡10和5 min,然后用乙醇(100%、95%、80%、75%)逐级水洗1 min,自来水或蒸馏水冲洗2 min;擦干周边水渍,平放切片,滴入苏木精染色1~5 min后,用自来水轻轻冲洗3 min;在1%盐酸酒精溶液中摇晃分化数秒,放入装有自来水或蒸馏水的容器中浸泡10 min;显微镜下观察胞核深浅合适度,若过浅则需重染,若过深则需重新分化;用乙醇伊红染色液染色2~3 min,自来水冲洗1 min;乙醇各级(95%、95%、100%、100%)常规脱水1、1、2、2 min,再经二甲苯I、二甲苯II各脱水10 min至透明;擦去切片周围多余的液体,但不可干片,迅速滴加适量中性树脂至切片上,盖上盖玻片封固,常温下风干。玻片晾干后,放置于载物台上,光镜下观察并拍摄图片,记录下脑、乳腺肿瘤和肾上腺细胞的形态学变化(细胞核呈现蓝色,细胞浆呈现粉红色)。

**2.4.5 HPA轴相关分泌物含量的检测** 行为学检测结束后,将小鼠摘眼球取血,用含肝素钠的EP管接住从眼眶中滴出的血液。4℃静置2 h后,3 000 r/min离心10 min,取上清液,置于液氮中速冻,后转移至超低温保存箱备用。将保存备用的血浆样本在室温下解冻,严格按Elisa试剂盒操作检测血浆中CORT、促肾上腺皮质激素(ACTH)和CRH含量。

### 2.5 数据处理

使用SPSS 17.0软件对数据进行统计,计量数据使用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间差异比较采用单因素方差分析,两两比较方差齐时采用LSD检验法,方差不齐时采用Dunnett's T3进行两两比较。

## 3 结果

### 3.1 BCRD小鼠行为学检测结果

**3.1.1 BCRD小鼠快感缺乏的检测** 与对照组比较,造模前和造模第1周各组小鼠糖水消耗无统计学差异;造模第2周抑郁症组和BCRD组糖水消耗明显降低,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),且BCRD组下降程度更大;第3周抑郁症组、乳腺癌组和BCRD组糖水消耗明显下降( $P<0.05$ 、 $0.01$ ),BCRD组下降程度最大;与乳腺癌组比较,第3周BCRD组糖水消耗明显下降,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。结果提示,BCRD小鼠存在快感缺乏症状。结果见表1。

表1 各组小鼠糖水消耗的检测结果 ( $\bar{X} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Results of sugar water test of mice in each group ( $\bar{X} \pm s, n = 10$ )

| 组别   | 糖水消耗度/%    |             |              |                |
|------|------------|-------------|--------------|----------------|
|      | 造模前        | 造模第1周       | 造模第2周        | 造模第3周          |
| 对照   | 55.31±6.63 | 66.77±11.11 | 67.34±7.42   | 70.43±9.40     |
| 抑郁症  | 53.87±5.85 | 52.96±18.50 | 53.85±16.84* | 52.89±7.17**   |
| 乳腺癌  | 54.76±5.55 | 55.24±17.38 | 54.76±19.2   | 54.63±16.5*    |
| BCRD | 55.68±5.79 | 55.19±17.42 | 52.58±19.07* | 47.48±14.44**△ |

与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与乳腺癌组比较: △ $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group; △ $P < 0.05$  vs breast cancer group

**3.1.2 BCRD小鼠自主行为的检测结果** 与对照组比较, 抑郁症组、乳腺癌组、BCRD组小鼠旷场实验跨立格子数、直立次数明显下降, 除乳腺癌组直立次数外, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与抑郁症组、乳腺癌组比较, BCRD组跨立格子数、直立次数均明显下降, 差异具有统计学意义( $P < 0.05, 0.01$ )。结果见表2。

与对照组比较, 抑郁症组、BCRD组小鼠在悬尾实验中不动总时间明显上升, 差异具有统计学意义( $P < 0.05, 0.01$ ); 与抑郁症、乳腺癌组比较, BCRD组悬尾不动时间显著升高, 差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )。结果见表2。

结果提示, BCRD小鼠缺乏在新奇环境中的自主行为、探索欲望以及存在抑郁绝望精神状态。

## 3.2 乳腺肿瘤病理检测结果

**3.2.1 肉眼下小鼠乳腺肿瘤外观形态特征** 肿瘤离体后肉眼下观察可见, 乳腺肿瘤呈不规则的长椭

表2 各组小鼠旷场、悬尾实验的检测结果 ( $\bar{X} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Results of open field and tail test of mice in each group ( $\bar{X} \pm s, n = 10$ )

| 组别   | 旷场实验           |                | 不动时间/s          |
|------|----------------|----------------|-----------------|
|      | 水平运动/次         | 垂直运动/次         |                 |
| 对照   | 120.67±23.47   | 39.83±18.85    | 35.25±14.14     |
| 抑郁症  | 65.06±8.85*    | 23.83±7.74*    | 55.33±6.74*     |
| 乳腺癌  | 81.50±20.17*   | 28.50±9.77     | 51.75±12.20     |
| BCRD | 59.50±8.85*##△ | 17.50±4.55*##△ | 69.58±9.08*##△△ |

与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与抑郁症组比较: # $P < 0.05$

## $P < 0.01$ ; 与乳腺癌组比较: △ $P < 0.05$  △△ $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs depression

group; △ $P < 0.05$  △△ $P < 0.05$  vs breast cancer group

圆形、球形或结节形, 外表有完整的包膜包被, 颜色为肉红色, 有丰富的血管包裹, 部分肿瘤分化生长成多个瘤体, 或者有黑色的坏死区, 质硬。结果见图1。

**3.2.2 光镜下小鼠乳腺肿瘤病理检测结果** 如图2

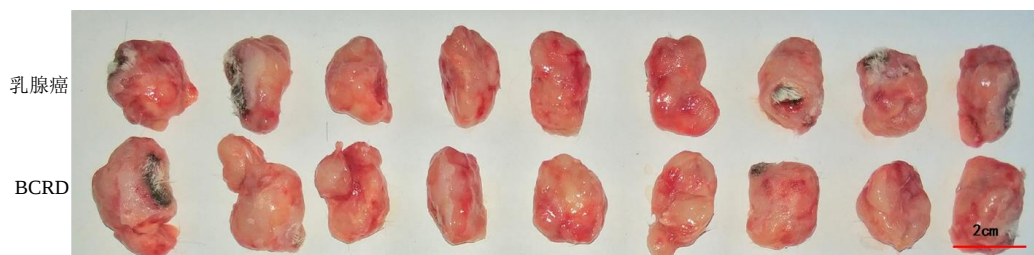


图1 各组小鼠乳腺肿瘤肉眼形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of breast cancer tumor in each group

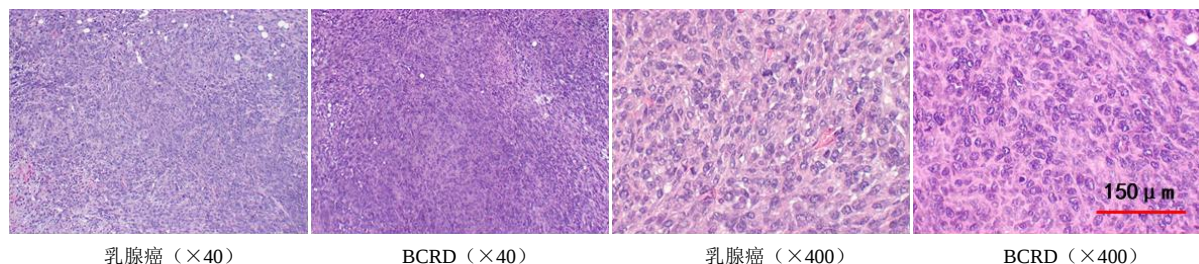


图2 各组小鼠乳腺肿瘤病理染色结果

Fig. 2 Pathological staining of breast cancer tumor in each group

所示,光镜下观察小鼠乳腺肿瘤结构,乳腺癌组和BCRD组肿瘤细胞排列紧密,坏死少,核质比大,细胞形态不规则,间质与实质界限不清,间质可见新生血管,偶可见肿瘤细胞侵入血管造成的血栓,400倍可见明显的核分裂现象。与乳腺癌组比较,BCRD组肿瘤细胞生长更加密集。

### 3.3 海马病理结构检测结果

**3.3.1 海马组织DG区病理检测结果** 光镜下观察小鼠海马DG区神经元,对照组神经元呈颗粒状,细胞排列整齐有序,胞体饱满,间隙正常,边缘结构清晰。与对照组比较,乳腺癌组神经元未见明显异常;抑郁症组细胞出现萎缩,有一定程度的核深染,而BCRD组神经元出现胞浆浓缩,细胞核体积变小或者消失,核深染程度加重,甚至出现破裂状态。结果见图3。

**3.3.2 海马CA3区病理检测结果** 光镜下观察小

鼠海马CA3区神经元,神经元呈椭圆状,神经元胞体饱满,胞质丰富,细胞核大而圆,边缘结构清晰。与对照组比较,乳腺癌组细胞有一定程度的萎缩;抑郁症组和BCRD组细胞有空泡样和核深染改变,且细胞间隙增宽,细胞排列散乱,胞浆浓缩,细胞核体积变小或者消失。综合海马DG和CA3区病理结果,提示BCRD小鼠海马存在海马损伤。结果见图4。

### 3.4 肾上腺病理检测结果

如图5所示,光镜下观察小鼠肾上腺结构,肾上腺皮质由外向内依次为:球状带、束状带、网状带,对照组球状带排列成襻状、圈状或者篮状;束状带向心性排列成束状;网状带细胞排列成网状。与对照组比较,抑郁症组和BCRD模型组出现不同程度的束状带变宽,细胞增大,网状带的细胞相互吻合成更密集的网状结构,并且出现了细胞排列疏松且

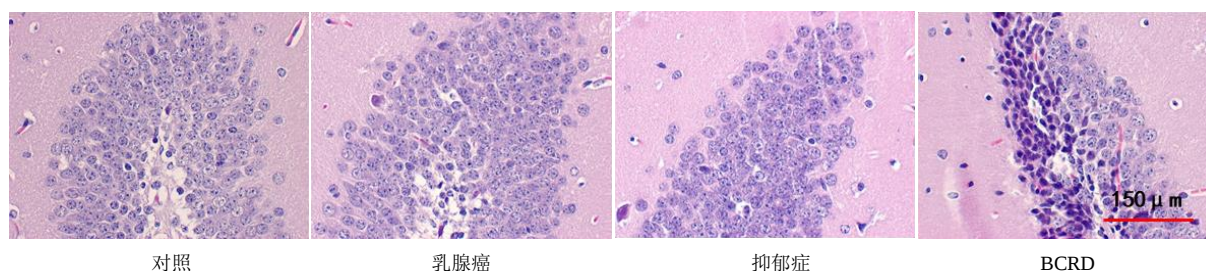


图3 各组小鼠海马DG区病理染色结果(×400)

Fig. 3 Pathological staining of hippocampal DG region in each group(×400)

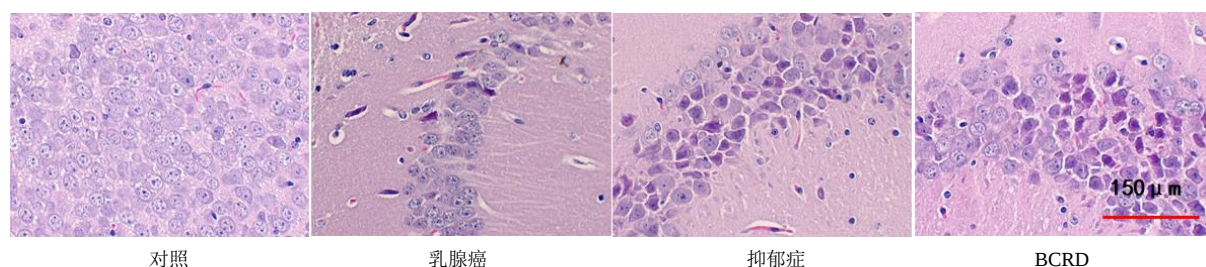


图4 各组小鼠海马CA3区病理染色结果(×400)

Fig. 4 Pathological staining of hippocampal CA3 region in each group(×400)

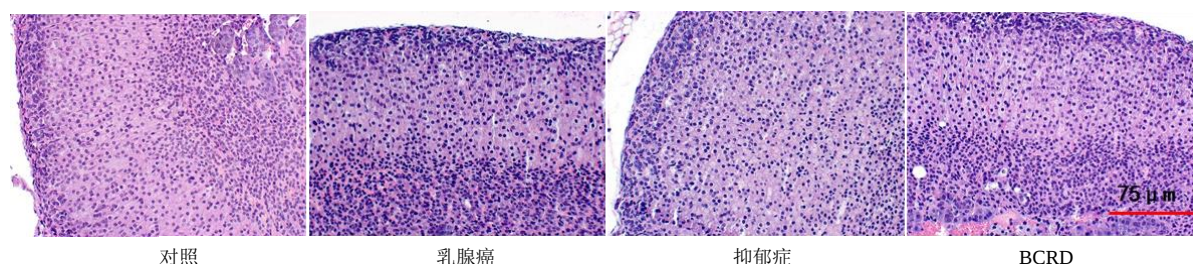


图5 各组小鼠肾上腺病理染色结果(×200)

Fig. 5 Pathological staining of adrenal gland in each group(×200)

散乱,细胞间隙变宽,细胞核固缩和深染,胞浆空泡增多等现象,提示皮质功能处于亢进状态。

### 3.5 HPA轴相关指标的检测结果

如表3所示,与对照组比较,抑郁症组、乳腺癌组和BCRD组小鼠血清中CORT、ACTH和CRH明显升高,除抑郁症组和乳腺癌组CORT外,差异具有统计学意义( $P<0.05$ 、 $0.01$ );与抑郁症组比较,BCRD组CORT、ACTH和CRH明显升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ 、 $0.01$ );与乳腺癌组比较,BCRD组CORT、ACTH明显升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。结果提示,BCRD小鼠HPA轴功能处于亢进状态。

## 4 讨论

抑郁症是一种以持续情绪低落,思维迟缓、兴趣减低、主动性下降等精神运动迟滞为临床表现的心理障碍疾病。临床抑郁症疾病可以从患者的日常言行得知疾病的进展,而实验动物则可以借助一定的辅助工具,即行为学的检测。快感缺失是指患者体验快感的能力下降,是精神疾病与行为障碍的重要特征,是抑郁症的核心症状<sup>[7]</sup>,目前实验动物学对于快感缺失的评价指标是糖水消耗指数,指数越高,说明动物感受快感的能力越强。动物对陌生的开阔环境恐惧而致使其局限在中心活动,但动物的探究习性又促使它有往周边活动的欲望与动机,旷场实验是测试动物在新异环境中的自主、探究行为与紧张度的一种方法。另外动物在一个无法逃避的困境中,最先选择挣扎摆脱困境,经过努力仍然无法摆脱困境后会出现间歇性“行为绝望”,行为绝望符合国际上公认的抑郁症患者情感障碍,悬尾实验则是运用这个原理来检测动物的行为绝望状态<sup>[8]</sup>。本实验通过对BCRD小鼠的糖水消耗、旷场、悬尾实验检测发现,模型小鼠糖水偏好度降低、水平运动与垂直运动明显减少、不动时间显著增加,表明模型小鼠出现了与临床抑郁症相似的临床症状,即快感缺失、自主行为降低、行为绝望等;另外

BCRD小鼠乳腺肿瘤离体组织与病理切片结果也符合临床乳腺肿瘤的特征,说明了BCRD小鼠模型从组织、行为上均贴合疾病临床表现。

HPA轴功能的完成是由下丘脑分泌CRH,刺激垂体分泌促肾上腺ACTH,最后刺激肾上腺分泌他糖皮质激素(GC)<sup>[9]</sup>(GC在人体内为COR,在啮齿类动物体内为CORT),乳腺癌患者多伴随HPA轴功能的亢进,具体表现为基础血浆GC水平上升,地塞米松实验中GC、CRH低响应等<sup>[10]</sup>。研究报道,抑郁症患者血清、脑脊液和尿液中COR水平异常升高<sup>[11]</sup>,动物研究也表明,在经受慢性应激后,血清中CORT的水平急剧升高<sup>[12]</sup>,表明HPA轴亢进<sup>[13]</sup>也是抑郁症的特征之一。此外,乳腺癌患者存在CRH水平升高的现象,且CRH可直接引起抑郁行为的改变<sup>[14]</sup>。临床研究表明,70%患者存在HPA轴亢进致海马损伤现象<sup>[15]</sup>,就此可能是由于HPA轴分泌物能调节神经元存活,例如GC等,从而影响海马的结构和记忆的获取与情绪的调节。海马是调节执行功能、机体情绪及学习记忆功能的重要部位<sup>[16-17]</sup>。目前,关于抑郁症发病机制假说的研究大都指向海马的变化,如海马体积减小,神经元衰亡、丢失,及突触发生和神经发生的减少等<sup>[18]</sup>,大量临床和动物实验也证明,抑郁患者和大鼠海马神经元均发生了不同程度的结构和功能的损伤。研究表明,乳腺癌可导致海马锥体神经元凋亡,齿状回神经元祖细胞及神经增殖减少,神经突触可塑性降低<sup>[19]</sup>。综上推测乳腺癌患者在HPA亢进的情况下引起抑郁症的发生,HPA亢进是诱发BCRD的病理基础,而HPA轴导致的海马损伤是BCRD发病的病理结果。

本实验发现,BCRD小鼠血浆中CORT、ACTH和CRH含量显著增高,且肾上腺皮质细胞间隙变宽,细胞增大,核深染,提示BCRD小鼠HPA轴处于功能亢进状态,另外海马DG区和CA3区神经元出现明显损伤,由此推测,BCRD小鼠的发病与HPA轴亢进导致海马海马损伤密不可分。

表3 各组小鼠血浆中CORT、ACTH和CRH的含量( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 3 Content of CORT, ACTH and CRH in plasma of mice in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

| 组别   | CORT/(pg·mL <sup>-1</sup> ) | ACTH/(pg·mL <sup>-1</sup> ) | CRH/(pg·mL <sup>-1</sup> ) |
|------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| 对照   | 197.96±30.74                | 217.21±48.28                | 240.73±52.89               |
| 抑郁症  | 272.5±78.58                 | 522.84±23.2**               | 350.38±64.92**             |
| 乳腺癌  | 261.13±63.74                | 437.67±51.06**              | 474.68±53.95**             |
| BCRD | 348.59±83.68***△            | 817.42±31.79***△            | 571.06±45.62***            |

与对照组比较: \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$ ; 与抑郁症组比较: # $P<0.05$  ## $P<0.01$ ; 与乳腺癌组比较: △ $P<0.05$  △△ $P<0.01$

\* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$  vs control group; # $P<0.05$  ## $P<0.01$  vs depression group; △ $P<0.05$  △△ $P<0.05$  vs breast cancer group

## 参考文献

- [1] Beiki O, Hall P, Ekblom A, et al. Breast cancer incidence and case fatality among 4.7 million women in relation to social and ethnic background: a population-based cohort study [J]. *Breast Cancer Res*, 2013, 14(1): 1-13.
- [2] Zabora J, Brintzenhofe S K, Crubow B, et al. The prevalence of psychological distress by cancer site [J]. *Psychooncology*, 2001, 10(1): 19-28.
- [3] Shin K J, Lee Y J, Yang Y R, et al. Molecular mechanisms underlying psychological stress and cancer [J]. *Curr Pharm Des*, 2016, 22(16): 2389-2402.
- [4] Keller J, Gomez R, Williams G, et al. HPA axis in major depression: cortisol, clinical symptomatology, and genetic variation predict cognition [J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22(4): 527.
- [5] 严丽, 李莉, 郝芳, 等. BALB/c小鼠乳腺癌4T1细胞株移植模型的建立 [J]. *中国免疫学杂志*, 2014, 30(6): 794-796.
- [6] Gupta D, Radhakrishnan M, Kurhe Y. Effect of a novel 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist 4i, in corticosterone-induced depression-like behavior and oxidative stress in mice [J]. *Steroids*, 2015, 96(11): 95-102.
- [7] 郑爽, 谢雯. 抑郁症患者谱系快感缺失的相关研究 [J]. *中国民康医学*, 2017, 29(14): 73-75.
- [8] 孙世光, 刘健, 鹿岩, 等. 昆明小鼠强迫游泳实验与悬尾实验抑郁模型相关性 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2014, 28(1): 107-112.
- [9] Mooren F C. Hypothalamus-Pituitary-Adrenal (HPA) Axis. *Encyclopedia of Exercise Medicine in Health & Disease* [M]. Giessen, Germany: Institute of Sports Sciences, Justus-Liebig-University, 2013: 428-428.
- [10] Giese-Davis J, Wilhelm F H, Conrad A, et al. Depression and stress reactivity in metastatic breast cancer [J]. *Psychosom Med*, 2006, 68(5): 675-683.
- [11] 卢妍妍, 阎琳, 蒋珊, 等. 伴躯体症状抑郁症患者皮质醇与述情障碍的相关性 [J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2014, 23(6): 511-513.
- [12] 张绘宇, 赵玉男, 王中立. 慢性皮质酮注射对小鼠抑郁样行为及脑糖原水平的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2015, 31(5): 828-833.
- [13] 亢俊俊, 陶晶, 仇剑崑. HPA轴与抑郁症关系的研究进展 [J]. *医学临床研究*, 2015(4): 776-779.
- [14] Soygur H, Palaoglu O, Akarsu E S, et al. Interleukin-6 levels and HPA axis activation in breast cancer patients with major depressive disorder [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2007, 31(6): 1242-1247.
- [15] Reddy P H. Abnormal tau, mitochondrial dysfunction, impaired axonal transport of mitochondria, and synaptic deprivation in Alzheimer's disease [J]. *Brain Res*, 2011, 1415(1415): 136-148.
- [16] Khan S A, Ryali V, Bhat P S, et al. The hippocampus and executive functions in depression [J]. *Ind Psychiatry J*, 2015, 24(1): 18.
- [17] Bisby J A, Horner A J, Hørlyck L D, et al. Opposing effects of negative emotion on amygdalar and hippocampal memory for items and associations [J]. *Soc Cogn Affect Neurosci*, 2016, 11(6): 981-990.
- [18] Liu W, Ge T, Leng Y, et al. The role of neural plasticity in depression: from hippocampus to prefrontal cortex [J]. *Neural Plast*, 2017, 2017(5): 1-11.
- [19] Kesler S, Shelli M, Janelsins D, et al. Reduced hippocampal volume and verbal memory performance associated with interleukin-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$  levels in chemotherapy-treated breast cancer survivors [J]. *Brain Behav Immun*, 2013, 30: 109-116.