

• 药理与临床 •

基于血清代谢组学探究复方阿胶浆改善乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠抑郁情绪的作用机制

王媛媛, 孙 晖, 沈昆双, 张 宁*, 闫广利, 孔 玲, 韩 莹, 王喜军*

黑龙江中医药大学, 经方与现代中药融合创新全国重点实验室, 国家中医药管理局中医方证代谢组学研究中心, 黑龙江哈尔滨 150040

摘要: 目的 探究复方阿胶浆对乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠抑郁情绪的内源性代谢物及代谢途径的影响。方法 构建乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠模型, 给予复方阿胶浆或养正消积胶囊干预后, 以小鼠体质量、摄食量、肿瘤体积、糖水偏好率、悬尾实验及强迫游泳实验不动时间、海马区组织病理形态、外周血中免疫细胞数量百分比、血清及脑组织中炎症因子水平为指标, 观察复方阿胶浆对乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠抑郁情绪的治疗作用; 采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间串联质谱法分析小鼠血清代谢物水平, 筛选差异代谢物, 考察复方阿胶浆对乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠抑郁情绪治疗作用的潜在机制。结果 给予复方阿胶浆干预后, 与模型组比较, 小鼠糖水偏好率显著增加 ($P < 0.01$), 悬尾实验和强迫游泳实验不动时间显著降低 ($P < 0.01$), 脑组织海马区神经元细胞损伤得到改善, 尼氏小体数量增加, 外周血中 $CD45^+$ 、 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 细胞百分比显著增加 ($P < 0.05$ 、 0.01), 血清及脑组织中炎症因子白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。代谢组学研究表征了乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠抑郁情绪 32 个血清生物标记物, 其中 26 个在给予复方阿胶浆治疗后回调, 通路富集分析得到 4 条主要潜在代谢通路, 分别为苯丙氨酸代谢途径、色氨酸代谢途径、精氨酸生物合成途径以及鞘脂代谢途径。结论 复方阿胶浆可能通过提高免疫功能、降低炎症因子水平进而调节氨基酸的合成与代谢、脂质代谢等途径发挥治疗乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠抑郁情绪的作用。

关键词: 复方阿胶浆; 乳腺癌相关疲乏; 抑郁; 血清代谢组学; 免疫; 炎症; 氨基酸的合成与代谢; 脂质代谢

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)19-7055-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.19.017

Mechanism of Fufang E'jiao Jiang on improving depressive mood in fatigue mice induced with breast cancer combined with chemotherapy based on serum metabolomics

WANG Yuanyuan, SUN Hui, SHEN Kunshuang, ZHANG Ning, YAN Guangli, KONG Ling, HAN Ying, WANG Xijun

State Key Laboratory of Integration and Innovation of Classic Formula and Modern Chinese Medicine, Chinmedomics Research Center of National Administration of Traditional Chinese Medicine, Faculty of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To investigate the effect of Fufang E'jiao Jiang (复方阿胶浆) on endogenous metabolites and metabolic pathways of depressive mood in fatigue mice induced with breast cancer combined with chemotherapy. **Methods** A model of fatigue associated with combination chemotherapy for breast cancer was established. After treatment with Fufang E'jiao Jiang or Yangzheng

收稿日期: 2025-06-17

基金项目: 东阿阿胶股份有限公司横向课题 (22042240002); 国家中医药多学科创新团队项目 (ZYXCXTD-D-202407); 黑龙江省重点研发计划 (2022ZX02C04)

作者简介: 王媛媛, 硕士研究生, 从事中药血清药物化学及中医方证代谢组学研究。E-mail: w2480651536@163.com

*通信作者: 张 宁, 研究员, 博士生导师, 从事中药药效物质及体内代谢研究。E-mail: zhangning0454@163.com

王喜军, 教授, 博士生导师, 从事中药血清药物化学及中医方证代谢组学研究。E-mail: xijunw@sina.com

Xiaoji Capsules (养正消积胶囊), the following indicators were used to observe the therapeutic effect of Fufang E'jiao Jiang on depressive mood in mice with breast cancer-related fatigue following combination chemotherapy: body weight, food intake, tumor volume, sugar water preference rate, immobility time in the tail suspension test and forced swim test, histopathological morphology of the hippocampus, percentage of immune cells in peripheral blood, and levels of inflammatory factors in serum and brain tissue. Ultra-high-performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry was used to analyze metabolite levels in serum of mice, the differential metabolites were screened, and the potential mechanism of therapeutic effect of Fufang E'jiao Jiang on depressive mood in fatigue mice with breast cancer undergoing combination chemotherapy was investigated. **Results** After the administration of Fufang E'jiao Jiang intervention, compared with model group, the preference rate for sugar water in mice was significantly increased ($P < 0.01$), the immobility time in tail suspension and forced swimming experiments were significantly decreased ($P < 0.01$), neuronal cell damage in hippocampus of brain tissue was improved, and the number of Nissl bodies was increased, the percentage of CD45⁺, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and CD4⁺/CD8⁺ ratio in peripheral blood were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), the levels of inflammatory factors interleukin-6 (IL-6), IL-1 β and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in serum and brain tissue were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$). Metabolomics research characterized 32 serum biomarkers of depressive mood in mice induced by combined chemotherapy for breast cancer, of which 26 were reversed after treatment with Fufang E'jiao Jiang. Pathway enrichment analysis identified four major potential metabolic pathways, namely the phenylalanine metabolic pathway, tryptophan metabolic pathway, arginine biosynthesis pathway and sphingolipid metabolic pathway. **Conclusion** Fufang E'jiao Jiang may exert its therapeutic effects on depressive mood in fatigue mice with breast cancer combined with chemotherapy by enhancing immune function, reducing inflammatory factor levels, and regulating amino acid synthesis and metabolism, lipid metabolism and other pathways.

Key words: Fufang E'jiao Jiang; breast cancer-related fatigue; depression; serum metabolomics; immune; inflammation; amino acid synthesis and metabolism; lipid metabolism

癌因性疲乏 (cancer-related fatigue, CRF) 是一种痛苦的、持续的、主观的, 有关躯体、情感或认知方面的疲乏感或疲惫感, 与近期的活动量不符, 与癌症或癌症的治疗有关, 并且妨碍日常生活^[1]。乳腺癌是危害女性生命健康最常见的恶性肿瘤之一^[2], 患者存活率高, 常以化疗为主要手段延长其生存期, 是 CRF 高发的癌症类型。研究表明, 乳腺癌患者化疗 (以使用一线化疗药紫杉醇为主^[3]) 期间常会出现肌肉无力、睡眠障碍、抑郁等相关疲乏症状, 相比其他症状, 抑郁情绪最为明显, 75.8% 的乳腺癌 CRF 患者存在抑郁情绪^[4]。大量研究发现乳腺癌疲乏、炎症和免疫反应之间存在联系, 免疫异常是乳腺癌等癌症的突出特征, 而化疗在抑制肿瘤生长的同时也会杀伤免疫细胞, 诱导炎症因子释放, 进一步加重免疫失调, 现有研究表明接受化疗的患者通常会长期经历更严重的炎症和抑郁症状^[5-6]。研究发现, 乳腺癌化疗患者血液中促炎因子水平升高, CD4⁺、CD8⁺等免疫细胞减少, 且存在免疫抑制等现象, 均与其抑郁情绪的增强密切相关^[7-14]。

复方阿胶浆组方源自明代《景岳全书》收录的名方“两仪膏”, 由党参与熟地配伍阿胶、红参、山楂经现代工艺加工精制而成。现有研究表明复方阿胶浆具有抗炎作用^[15], 并且其所含有的氨基酸及肽类成分通过调节免疫细胞功能、抑制炎症介质

合成及调控代谢通路发挥抗炎活性^[16]; 皂苷类成分通过抑制炎症信号通路以及调节免疫细胞功能发挥抗炎作用, 如人参皂苷 Rg₃ 通过抑制 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) /髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) /核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路, 减少促炎因子的释放, 并减轻炎症细胞浸润^[17]; 糖类成分主要通过调节免疫细胞功能和炎症信号通路实现抗炎作用^[18]。由此可见复方阿胶浆具有改善 CRF 小鼠抑郁情绪的潜力, 但其药效及作用机制尚未得到明确阐释。代谢组学通过比较药物处理前后代谢物的差异, 能够揭示药物作用的靶点、通路以及潜在的作用机制, 已成为药物作用机制研究的核心工具^[19]。因此, 本研究通过行为学等指标观察其抗抑郁作用, 并采用血清代谢组学方法研究复方阿胶浆对乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠的作用机制。

1 材料

1.1 动物与细胞

SPF 级雌性 BALB/c 小鼠 36 只, 体质量 (16 \pm 2) g, 购自辽宁长生生物技术有限公司, 合格证号 SCXK (辽) 2020-0001。动物于无菌环境下饲养, 温度 (21 \pm 2) $^{\circ}$ C, 相对湿度 (60 \pm 5) %, 自由进食饮水。实验过程中小鼠的饲养及其他操作均符合中华人民共和国《实验动物管理条例》, 本实验实施过

程符合动物伦理要求, 获黑龙江中医药大学实验动物伦理委员会审批(批准号 2024090601)。

小鼠 4T1 乳腺癌细胞(批号 SCSP-5056)购自中国科学院细胞库。

1.2 药品与试剂

复方阿胶浆(批号 2401061, 国药准字 Z20083345)由山东东阿阿胶提供; 紫杉醇注射液(批号 H20084032, 国药准字 H20084032)购自海南全星制药有限公司; 养正消积胶囊(批号 A2305002, 国药准字 Z20040095)购自石家庄以岭药业股份有限公司; 胎牛血清(批号 11011-8611)购自杭州四季青生物工程材料有限公司; DMEM 培养基(批号 DT12800)购自浙江诺博生物制品有限公司; 青霉素-链霉素溶液(批号 C0222)、尼氏染色试剂盒(批号 C0117)购自上海碧云天生物技术有限公司; 胰酶细胞消化液(批号 T1320-100mL)、苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色试剂盒(批号 2307001)购自北京索莱宝科技有限公司; 异氟烷(批号 R510-22-16)购自深圳瑞沃德生命科技股份有限公司; 小鼠白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6) ELISA 试剂盒(批号 ml098430)、小鼠 IL-1 β ELISA 试剂盒(批号 ml106733)、小鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)试剂盒(批号 ml002095)购自上海酶联生物科技有限公司; APC/Cyanine7 anti-mouse CD45 抗体(批号 103115)、FITC anti-mouse CD4 抗体(批号 100509)、PE/Cyanine7 anti-mouse CD8 抗体(批号 100721)、Brilliant Violet 42TM anti-mouse CD3 抗体(批号 100335)购自 BioLegend 生物技术有限公司; 质谱级甲醇(批号 50102)、质谱级乙腈(批号 50101)、质谱级甲酸(批号 220634)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.3 仪器

ZS-MV-IV 型便携式小动物麻醉机(北京众实迪创科技发展有限公司); KD3398 型病理切片机、KD-TS3D1 型自动组织脱水机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司); TK-212 型自动恒温漂片仪、TB-718E 型生物组织自动包埋机(湖北泰维科技有限公司); SFC-11 型光学显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司); SFLO 型全光谱流式细胞仪(杭州谱康医学科技有限公司); FlexA-200 型酶标仪(杭州奥盛仪器有限公司); 3-18K 型低温高速离心机(美国 Sigma 公司); RVC 2-18 CD plus 型真空离心浓缩仪(德国 Martin Christ 公司); Waters Acquity

Synapt G2-Si 型液质联用仪(美国 Waters 公司)。

2 方法

2.1 乳腺癌联合化疗诱导疲劳小鼠抑郁情绪模型的构建及干预

雌性 BALB/c 小鼠随机分为对照组、模型组、养正消积胶囊(5.6 mg/kg)组和复方阿胶浆低、中、高剂量(3.9、7.8、15.6 mL/kg)组, 每组 6 只。适应性饲养 7 d 后, 除对照组外, 其余各组小鼠于右侧乳腺第 3 对脂肪垫处注射 2×10^5 个 4T1 细胞, 对照组注射 PBS 溶液 0.1 mL。5 d 后造模小鼠瘤体积均达到 50 mm³, 除对照组外, 其余各组小鼠每 2 天 ip 紫杉醇(10 mg/kg); 同时, 各给药组 ig 相应药物, 2 次/d, 连续给药 21 d。

2.2 一般情况观察

每天定时观察小鼠的状态, 包括饮食、精神、活动等; 每 2 天对小鼠体质量及瘤体积进行测量及记录。

2.3 糖水偏好实验

给药结束后, 进行小鼠行为学实验。实验前将各组小鼠禁食禁水 24 h, 每笼小鼠给予已称量好的 1%蔗糖水和纯水各 1 瓶, 隔 6 h 互换位置, 12 h 后撤走 2 瓶并各自称定质量, 记录每只小鼠蔗糖水消耗量和纯水消耗量, 计算糖水偏好率。实验结束后, 立即为小鼠提供饲料和水, 恢复自由进食和饮水。

糖水偏好率 = 蔗糖水消耗量 / (蔗糖水消耗量 + 纯水消耗量)

2.4 悬尾实验

用医用胶布做成的粘钩, 自小鼠尾部(距离尾尖 1.5 cm)连接小鼠和自制悬尾检测仪, 将小鼠倒立悬挂于自制小鼠悬尾仪上。悬挂架升高使小鼠倒立时头部距离悬尾筒底部 20 cm 以上, 记录 6 min 内小鼠的状态, 并记录后 4 min 小鼠的不动时间。

2.5 强迫游泳实验

将小鼠置于透明玻璃瓶中(水深 18 cm, 直径 16.5 cm, 水温 24 $^{\circ}$ C), 随即计时 6 min 摄像并记录后 4 min 小鼠累计不动时间(以直立漂浮或四肢偶尔移动使其头部浮在水面为标准)。

2.6 样品采集

行为学实验结束后, 通过吸入 5%异氟烷对小鼠进行麻醉处理, 经摘眼球取血并于 4 $^{\circ}$ C、4 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 于 -80 $^{\circ}$ C 保存备用。取小鼠全脑组织部分, 放置在新鲜配制的 4%多聚甲醛中固定 3 d, 以用于 HE 染色及尼氏染色, 部分

组织于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

2.7 HE 和尼氏染色观察脑组织病理变化

2.7.1 HE 染色 将固定好的海马组织水流冲洗 24 h, 洗去多余固定液。将组织依次浸入 75%乙醇溶液、85%乙醇溶液、95% I 乙醇溶液、95% II 乙醇溶液 1 h, 100% I 乙醇溶液 30 min、100% II 乙醇溶液 45 min 中脱水, 再放入正丁醇溶液 1 h, 二甲苯 I、II 溶液各 20 min 进行透明处理。在装有 $60\sim 62\text{ }^{\circ}\text{C}$ 熔点蜡的蜡缸中浸泡 3 h 后进行包埋, 随后切片 (厚度为 $4\text{ }\mu\text{m}$)、展片、烘片。蜡片于二甲苯 I、II 各浸泡 5 min, 随后放入 100%乙醇溶液 5 min, 95%乙醇溶液、85%乙醇溶液、70%乙醇溶液各 2 min 进行脱蜡操作。将脱好蜡的切片放入苏木素溶液中浸泡 10 min, 水洗 1 min, 随后在 0.5%盐酸乙醇溶液中浸泡 30 s, 0.5%氨水返蓝 30 s 后水洗 2 min, 浸入伊红溶液 4 min, 水洗 2 min, 脱水, 中性树胶封片。于显微镜下观察组织病理变化。

2.7.2 尼氏染色 取固定好的海马组织, 同 HE 染色法至梯度乙醇脱水; 将固定好的蜡片浸于尼氏染色液 25 min, 蒸馏水洗片 1 min, 终止染色, 脱水方法同 HE 染色, 封片后于光学显微镜下观察组织病理变化。

2.8 炎症因子水平的检测

取 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 中的各组小鼠血清及脑组织解冻, 按照 ELISA 试剂盒说明书测定 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平。

2.9 免疫表型检测

取小鼠新鲜血液样本, 加入红细胞裂解液孵育 20 min 后使用 PBS 洗涤, 调整细胞密度为 1×10^7 个/mL, 分别加入 $5\text{ }\mu\text{L}$ 荧光标记的相应抗体。经孵育、洗涤后重悬细胞, 用流式细胞仪检测 CD45⁺、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 细胞比例, 应用 CytoPysual 软件进行数据分析。

2.10 血清代谢组学分析

2.10.1 血清样本处理 将冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的血清样本取出, 在冰上解冻, 涡旋混匀, 取 $100\text{ }\mu\text{L}$ 于 EP 管, 加入 $400\text{ }\mu\text{L}$ 预冷的甲醇, 振荡 5 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 静置 1 h, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、13 000 r/min 离心 15 min, 取上清液于高速真空离心浓缩仪干燥, 加入 $150\text{ }\mu\text{L}$ 预冷的 80%甲醇复溶, 冰浴中超声 20 min, 过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜, 采集 $4\text{ }\mu\text{L}$ 分析。质控样本为各取上述各组血清待测液 $10\text{ }\mu\text{L}$ 混合而成。

2.10.2 色谱条件 Acquity UPLC[®] HSS T3 色谱柱

($100\text{ mm}\times 2.1\text{ mm}$, $1.8\text{ }\mu\text{m}$); 流动相 0.1%甲酸乙腈 (A)-0.1%甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱: $0\sim 6\text{ min}$, $2\%\sim 55\%\text{ A}$; $6\sim 6.5\text{ min}$, $55\%\text{ A}$; $6.5\sim 15\text{ min}$, $55\%\sim 98\%\text{ A}$; $15\sim 15.5\text{ min}$, $98\%\text{ A}$; $15.5\sim 16\text{ min}$, $98\%\sim 2\%\text{ A}$; $16\sim 18\text{ min}$, $2\%\text{ A}$ 。柱温 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$; 体积流量 0.3 mL/min ; 进样量 $4\text{ }\mu\text{L}$ 。

2.10.3 质谱条件 电喷雾电离源 (electrospray ionization, ESI), 采用正、负离子模式检测, 毛细管电压分别为 2.8 kV 和 -3.0 kV , 离子源温度为 $110\text{ }^{\circ}\text{C}$, 锥电压为 40 V , 锥气体积流量为 50 L/h , 脱溶气体积流量为 800 L/h , 脱溶温度为 $400\text{ }^{\circ}\text{C}$, 低碰撞能量扫描为 4 eV , 高碰撞能量扫描为 $10\sim 40\text{ eV}$ 。原始数据于 MS^E Continuum 模式下采集, $m/z\ 50\sim 1\ 500$, 扫描时间 0.2 s 。

2.10.4 数据处理 将原始数据导入 Waters Progenesis QI 软件中根据待测物的保留时间及精确相对分子质量进行峰对齐和峰提取。完成预处理的数据导入 Ezinfo 进行主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)。筛选变量投影重要性 (variable importance projection, VIP) 值 ≥ 1 、 $P<0.05$ 的差异代谢物。利用人类代谢组数据库 (human metabolome database, HMDB) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 数据库鉴定差异代谢物, 通过 Metabo Analyst 6.0 对筛选的差异代谢物进行代谢通路富集分析。

2.11 统计学分析

利用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析, 数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用最小显著性差异法 t 检验。采用 GraphPad Prism 9.5 软件对数据进行绘图。

3 结果

3.1 复方阿胶浆改善乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠的一般状态

实验过程中, 与对照组比较, 模型组小鼠行动迟缓, 不好动, 毛发稀疏, 精神状态差, 从第 5 天开始其体质量显著低于对照组 ($P<0.01$, 图 1-A); 给予复方阿胶浆干预后, 从第 13 天开始小鼠体质量有显著回调 ($P<0.05$ 、 0.01)。除对照组外, 各组小鼠肿瘤体积逐步增大 ($P<0.01$, 图 1-B); 与模型组比较, 给予复方阿胶浆干预后, 小鼠肿瘤体积在第 21 天显著减小 ($P<0.05$ 、 0.01)。

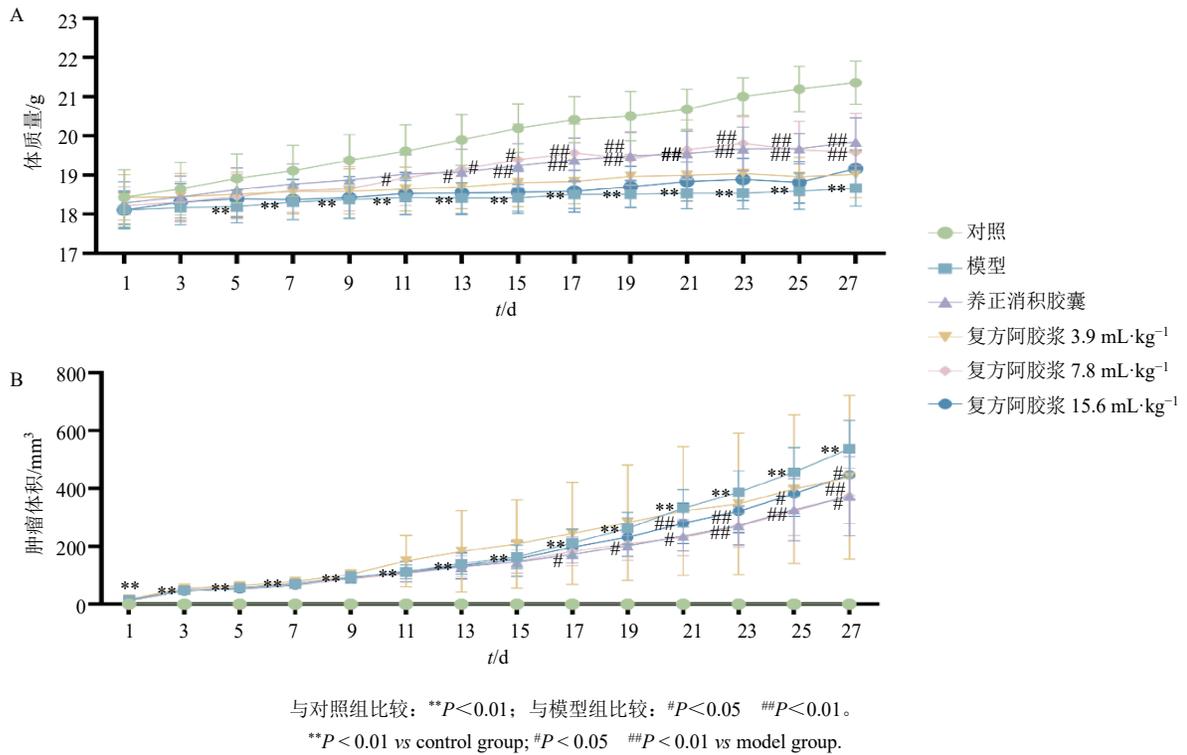


图1 复方阿胶浆对乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠体质量 (A) 和肿瘤体积 (B) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effect of Fufang E'jiao Jiang on body weight (A) and tumor volume (B) of fatigue mice induced with breast cancer combined with chemotherapy ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.2 复方阿胶浆改善乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠的抑郁行为

糖水偏好率主要反映抑郁小鼠快感缺失状态, 强迫游泳实验和悬尾实验主要用于评价抑郁小鼠的行为绝望。糖水偏好实验 (表 1) 结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠糖水偏好率显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组小鼠糖水偏好率显著升高 ($P < 0.01$), 表明复方阿胶浆可改善乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠的快感缺失抑郁样行为。悬尾实验 (表 1) 结果显示, 与对照组比较, 模型组

小鼠悬尾实验不动时间显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组小鼠悬尾实验不动时间显著降低 ($P < 0.01$), 表明复方阿胶浆可改善乳腺癌联合化疗疲乏小鼠行为绝望的抑郁样行为。强迫游泳实验 (表 1) 结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠强迫游泳实验不动时间显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 养正消积胶囊组和复方阿胶浆中、高剂量组小鼠强迫游泳实验不动时间显著降低 ($P < 0.01$), 表明复方阿胶浆可改善乳腺癌联合化疗疲乏小鼠行为绝望的抑郁样行为。

表1 复方阿胶浆对乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠抑郁行为的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of Fufang E'jiao Jiang on depressive behavior of fatigue mice induced with breast cancer combined with chemotherapy ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量	糖水偏好率/%	悬尾实验不动时间/s	强迫游泳实验不动时间/s
对照	—	0.78 ± 0.03	29.57 ± 7.56	21.39 ± 1.89
模型	—	0.45 ± 0.02**	107.08 ± 7.01**	84.11 ± 5.56**
养正消积胶囊	5.6 mg·kg ⁻¹	0.64 ± 0.02##	64.70 ± 8.30##	46.89 ± 5.04##
复方阿胶浆	3.9 mL·kg ⁻¹	0.52 ± 0.01##	84.62 ± 5.69##	75.08 ± 4.63
	7.8 mL·kg ⁻¹	0.59 ± 0.01##	56.45 ± 5.11##	40.32 ± 4.03##
	15.6 mL·kg ⁻¹	0.54 ± 0.02##	72.38 ± 5.82##	60.77 ± 4.94##

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$, 下表同。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group, same as below tables.

3.3 复方阿胶浆减轻乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠海马神经元损伤

HE 染色 (图 2) 结果显示, 对照组小鼠海马区神经元细胞排列紧密整齐, 细胞形态完整, 轮廓清晰; 与对照组比较, 模型组小鼠神经元排列松散紊乱, 伴有核固缩现象; 与模型组比较, 复方阿胶浆各剂量组小鼠海马区神经元细胞排列整齐, 核固缩

现象明显减轻。

尼氏染色 (图 2) 结果显示, 对照组小鼠海马区神经元排列整齐, 尼氏小体丰富, 细胞结构完整; 与对照组比较, 模型组小鼠神经元细胞结构不完整, 细胞间隙疏松, 尼氏小体数量减少; 与模型组比较, 复方阿胶浆各剂量组小鼠神经元排列整齐, 染色清晰, 尼氏小体数量明显增加。

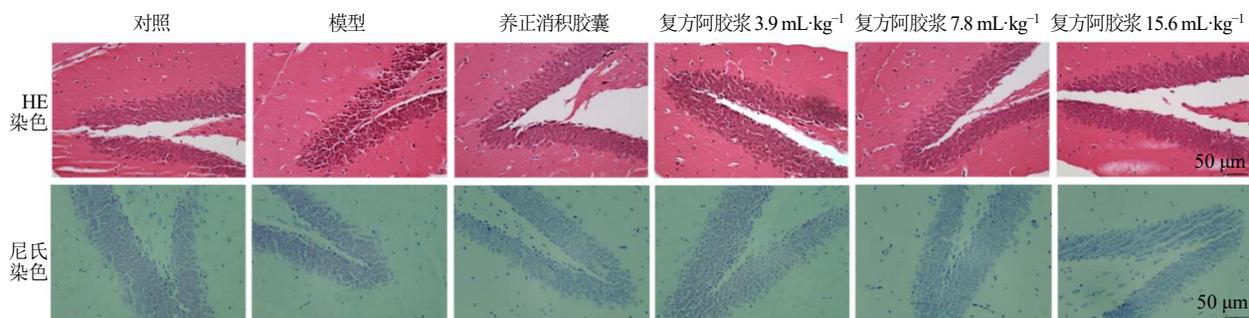


图 2 复方阿胶浆对乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠海马区神经元形态的影响 (×200)

Fig. 2 Effect of Fufang E'jiao Jiang on neuronal morphology in hippocampal region of fatigue mice induced with breast cancer combined with chemotherapy (× 200)

3.4 复方阿胶浆抑制乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠炎症因子释放

如表 2 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠脑组织中 IL-6、IL-1β、TNF-α 水平显著升高 (P<0.01); 与模型组比较, 各给药组脑组织中 IL-6、TNF-α 水平显著降低 (P<0.05、0.01), 养正消积胶囊组和复

方阿胶浆中、高剂量组 IL-1β 水平显著降低 (P<0.05、0.01)。

如表 3 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠外周血中 IL-6、IL-1β、TNF-α 水平显著升高 (P<0.01); 与模型组比较, 各给药组外周血中 IL-6、IL-1β、TNF-α 水平显著降低 (P<0.05、0.01)。

表 2 复方阿胶浆对乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠脑组织中炎症因子水平的影响 (x̄ ± s, n = 6)

Table 2 Effect of Fufang E'jiao Jiang on levels of inflammatory factors in brain tissue of fatigue mice induced with breast cancer combined with chemotherapy (x̄ ± s, n = 6)

组别	剂量	IL-6/(pg·mg ⁻¹)	IL-1β/(pg·mg ⁻¹)	TNF-α/(pg·mg ⁻¹)
对照	—	111.58 ± 6.05	80.76 ± 10.35	781.73 ± 54.48
模型	—	176.19 ± 7.06**	138.83 ± 10.59**	1 086.05 ± 39.80**
养正消积胶囊	5.6 mg·kg ⁻¹	137.15 ± 5.67##	108.21 ± 7.46##	870.32 ± 56.02##
复方阿胶浆	3.9 mL·kg ⁻¹	160.35 ± 5.53#	125.57 ± 7.86	969.51 ± 55.03#
	7.8 mL·kg ⁻¹	131.82 ± 9.53##	105.70 ± 7.48##	782.81 ± 38.26##
	15.6 mL·kg ⁻¹	160.80 ± 6.29#	120.85 ± 4.79#	940.15 ± 50.15##

表 3 复方阿胶浆对乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠外周血中炎症因子水平的影响 (x̄ ± s, n = 6)

Table 3 Effect of Fufang E'jiao Jiang on levels of inflammatory factors in peripheral blood of fatigue mice induced with breast cancer combined with chemotherapy (x̄ ± s, n = 6)

组别	剂量	IL-6/(ng·mL ⁻¹)	IL-1β/(ng·mL ⁻¹)	TNF-α/(ng·mL ⁻¹)
对照	—	49.03 ± 4.81	52.29 ± 2.86	266.21 ± 15.91
模型	—	86.07 ± 3.69**	91.34 ± 2.41**	441.42 ± 20.32**
养正消积胶囊	5.6 mg·kg ⁻¹	68.12 ± 5.97##	63.45 ± 3.67##	350.93 ± 13.98##
复方阿胶浆	3.9 mL·kg ⁻¹	74.45 ± 2.99#	75.30 ± 3.01##	399.97 ± 17.12#
	7.8 mL·kg ⁻¹	65.43 ± 4.03##	68.79 ± 3.13##	299.53 ± 17.52##
	15.6 mL·kg ⁻¹	75.81 ± 2.17#	74.02 ± 3.37##	400.93 ± 10.74#

3.5 复方阿胶浆对乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠外周血免疫表型的影响

如表 4 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠外周血中 CD45⁺、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 的比例显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组小鼠外周血中 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 的比例显著升

高 ($P < 0.01$), 复方阿胶浆中剂量组小鼠外周血中 CD45⁺、CD3⁺ 的比例显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01), 养正消积胶囊组和复方阿胶浆低、高剂量组小鼠外周血中 CD8⁺ 的比例显著升高 ($P < 0.01$), 表明复方阿胶浆可以提高乳腺癌联合化疗疲乏小鼠体内免疫细胞的含量, 提高免疫功能。

表 4 复方阿胶浆对乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠外周血免疫表型的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effect of Fufang E'jiao Jiang on immunophenotype of peripheral blood in fatigue mice induced with breast cancer combined with chemotherapy ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量	CD45 ⁺ /%	CD3 ⁺ /%	CD4 ⁺ /%	CD8 ⁺ /%	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照	—	31.33 ± 2.05	32.23 ± 3.11	5.55 ± 0.21	2.87 ± 0.23	1.93 ± 0.18
模型	—	2.14 ± 0.76**	2.01 ± 0.74**	0.29 ± 0.07**	0.31 ± 0.10**	0.94 ± 0.11**
养正消积胶囊	5.6 mg·kg ⁻¹	3.70 ± 0.56	3.59 ± 1.20	1.38 ± 0.13##	0.68 ± 0.14##	2.03 ± 0.09##
复方阿胶浆	3.9 mL·kg ⁻¹	4.29 ± 0.80	4.11 ± 1.47	1.26 ± 0.11##	0.83 ± 0.03##	1.52 ± 0.08##
	7.8 mL·kg ⁻¹	8.34 ± 1.51##	7.99 ± 1.60#	1.73 ± 0.17##	1.47 ± 0.06	1.18 ± 0.16##
	15.6 mL·kg ⁻¹	5.46 ± 1.87	5.17 ± 1.86	2.05 ± 0.12##	0.94 ± 0.06##	2.18 ± 0.17##

3.6 复方阿胶浆治疗乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠的血清代谢组学分析

3.6.1 乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠模型代谢轮廓及生物标记物鉴定与分析 将标准化后的小鼠血清代谢数据导入 Metware Cloud 进行 PCA, 结果见图 3, 在正、负离子模式下模型组代谢轮廓与对照组明显分离, 表明模型构建成功。为了观察各组小鼠血清代谢样本的分布趋势, 进一步进行 OPLS-DA, 结果见图 4, 在正、负离子模式下, 对照组与模型组有较好的区分效果。在正离子模式下, 置换检验参数 $R^2 = 0.985$, $Q^2 = 0.951$; 负离子模式下, $R^2 = 0.988$, $Q^2 = 0.966$ 。表明模型拟合性良好, 具有

可靠性, 可用于生物标记物的筛选。筛选各组 VIP ≥ 1、 $P < 0.05$ 的差异代谢物, 表征了 32 个乳腺癌联合化疗诱导疲乏的抑郁小鼠血清生物标记物 (表 5), 其中 15 个生物标记物在乳腺癌联合化疗诱导疲乏的抑郁小鼠中水平升高, 17 个生物标记物在乳腺癌联合化疗诱导疲乏的抑郁小鼠中的水平降低。

3.6.2 复方阿胶浆治疗模型小鼠代谢轮廓及对生物标记物的干预作用 药效学结果显示, 中剂量复方阿胶浆对乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠治疗效果更为明显, 故选择对照组、模型组、养正消积胶囊组和复方阿胶浆中剂量组小鼠的血清进行代谢组学分析。如图 5 所示, 经复方阿胶浆治疗后, 乳

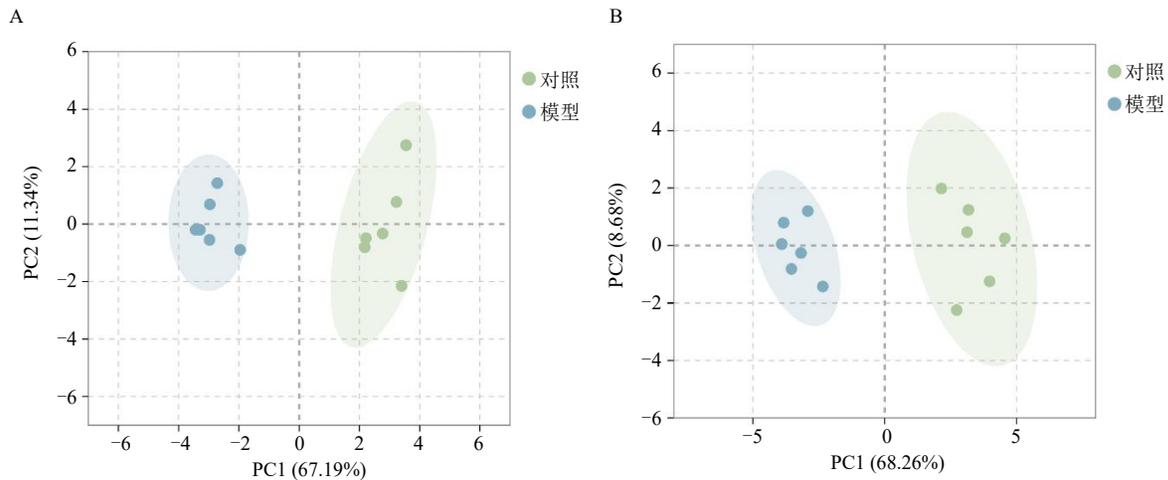
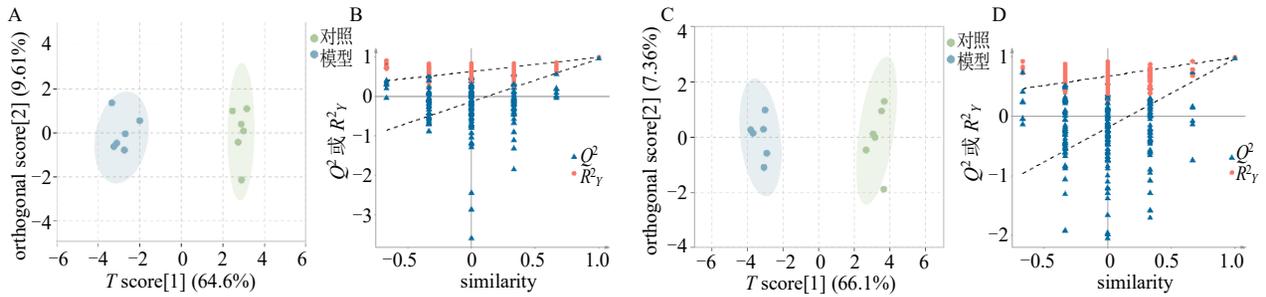


图 3 正 (A)、负 (B) 离子模式下对照组和模型组血清样本 PCA 图

Fig. 3 PCA plots of serum samples in control group and model group in positive (A) and negative (B) modes



A-正离子模式 OPLS-DA 图; B-正离子模式置换检验图; C-负离子模式 OPLS-DA 图; D-负离子模式置换检验图; 图 6 同。

A-OPLS-DA diagram in positive ion mode; B-permutation test diagram in positive ion mode; C-OPLS-DA diagram in negative ion mode; D-permutation test diagram in negative ion mode; same as Fig. 6.

图 4 各组小鼠血清样本的 OPLS-DA 和置换检验图

Fig. 4 OPLS-DA and permutation test diagrams of serum samples in mice of each group

表 5 各组小鼠血清生物标记物

Table 5 Serum biomarkers in mice

序号	离子模式	生物标记物	化学式	m/z	对照组vs模型组	模型组vs复方阿胶浆中剂量组	模型组vs养正消积胶囊组
1	正离子	L-阿拉伯糖	C ₅ H ₁₀ O ₅	173.041 1	↑	↓#	↓
2	正离子	四氢孕酮	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	341.247 7	↑**	↓##	↓##
3	正离子	SM(d18 : 1/22 : 0)	C ₄₅ H ₉₁ N ₂ O ₆ P	787.666 9	↑**	↓	↓##
4	正离子	花生四烯酸乙醇胺	C ₂₄ H ₄₁ NO ₂	376.319 0	↑*	↓#	↓##
5	正离子	十九碳烯酸	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	319.263 5	↑**	↓	↑
6	正离子	PC(15 : 0/20 : 0)	C ₄₃ H ₈₆ NO ₈ P	798.600 7	↓**	↑#	↑#
7	正离子	胞苷2'-磷酸	C ₉ H ₁₄ N ₃ O ₈ P	647.116 7	↓**	↑#	↑
8	正离子	LysoPC[18 : 1(9Z)/0 : 0]	C ₂₆ H ₅₂ NO ₇ P	544.339 1	↓**	↑#	↑
9	正离子	D-阿拉伯糖	C ₅ H ₁₀ O ₅	151.060 8	↑**	↓##	↓
10	正离子	L-乙酰肉碱	C ₉ H ₁₇ NO ₄	204.122 7	↓**	↑#	↑
11	正离子	甜菜碱	C ₅ H ₁₂ NO ₂	259.165 2	↓*	↑##	↑
12	正离子	L-蛋氨酸	C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	150.057 5	↑**	↓##	↑
13	正离子	脱氧胆酸	C ₂₄ H ₄₀ O ₄	415.282 1	↓	↑##	↑##
14	正离子	腺苷	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	290.086 4	↑**	↓##	↓#
15	正离子	L-色氨酸	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	409.183 1	↓	↑##	↑
16	负离子	18-羟基皮质酮	C ₂₁ H ₃₀ O ₅	361.201 2	↑**	↓##	↓
17	负离子	PC[16 : 0/22 : 6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)]	C ₄₆ H ₈₀ NO ₈ P	850.559 8	↑*	↓	↓
18	负离子	L-精氨酸	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	347.219 5	↓*	↑	↓
19	负离子	PC[16 : 0/22 : 5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z)]	C ₄₆ H ₈₂ NO ₈ P	852.575 3	↓**	↑	↓
20	负离子	SM[d18 : 0/16 : 1(9Z)]	C ₃₉ H ₇₉ N ₂ O ₆ P	747.566 0	↓*	↓	↓
21	负离子	Cer[d18 : 1/24 : 1(15Z)]	C ₄₂ H ₈₁ NO ₃	692.619 5	↑**	↓##	↓##
22	负离子	PC[14 : 0/20 : 3(5Z,8Z,11Z)]	C ₄₂ H ₇₈ NO ₈ P	800.546 5	↓**	↓	↓
23	负离子	前列腺素D1	C ₂₀ H ₃₄ O ₅	353.233 0	↓*	↓	↓
24	负离子	LysoPC[20 : 4(5Z,8Z,11Z,14Z)/0 : 0]	C ₂₈ H ₅₀ NO ₇ P	588.329 9	↓**	↓	↓
25	负离子	LysoPC(16 : 0/0 : 0)	C ₂₄ H ₅₀ NO ₇ P	540.329 7	↓**	↓	↓
26	负离子	LysoPC[20 : 3(5Z,8Z,11Z)/0 : 0]	C ₂₈ H ₅₂ NO ₇ P	590.345 6	↓**	↓	↓
27	负离子	L-犬尿氨酸	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃	189.067 1	↑**	↓##	↓##
28	负离子	烯醇-苯丙酮酸	C ₉ H ₈ O ₃	209.045 3	↑**	↓##	↓##
29	负离子	L-酪氨酸	C ₉ H ₁₁ NO ₃	180.066 4	↓**	↑##	↑#
30	负离子	L-谷氨酰胺	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	145.061 4	↑**	↓##	↓##
31	负离子	L-亮氨酸	C ₆ H ₁₃ NO ₂	130.087 0	↑**	↓##	↓##
32	负离子	柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	191.019 5	↓**	↑##	↑##

“↑”表示上调，“↓”表示下调。

“↑” indicates an increase, and “↓” indicates a decrease.

腺癌联合化疗诱导疲乏的抑郁模型小鼠血清代谢轮廓趋近于对照组,表明复方阿胶浆调节乳腺癌联合化疗诱导疲乏的抑郁模型小鼠异常代谢,使其趋近于正常小鼠的代谢轮廓。采用 OPLS-DA 增强组间差异可视化,进一步探索组间差异,成对分析 OPLS-DA 得分图及置换检验图(图 6)显示,在正、负离子模式下,所有比较组的 Q^2 均 >0.780 , Q^2 点的回归线与纵轴交点均在原点以下,证明模型不存在过拟合、具有较高可靠性和较强可预测性。

如表 5 所示,给予养正消积胶囊治疗后,表征的 32 个生物标记物中有 22 个生物标记物发生回调,其中 13 个生物标记物回调存在显著差异 ($P <$

0.05、0.01); 给予复方阿胶浆治疗后,表征的 32 个生物标记物中有 26 个生物标记物发生回调,其中 21 个生物标记物回调存在显著差异 ($P < 0.05$ 、0.01)。将以上 26 种小鼠血清效应标记物导入 Metware Cloud 在线分析网站,绘制各组间每种效应标记物热图(图 7),该热图可较直观地呈现其变化趋势。

3.6.3 复方阿胶浆治疗模型小鼠抑郁情绪的差异代谢物通路富集与分析 应用 KEGG 数据库以及 Metaboanalyst 6.0 软件对复方阿胶浆回调的生物标记物进行代谢通路富集分析(表 6),发现复方阿胶浆主要通过苯丙氨酸代谢、精氨酸生物合成、色氨酸

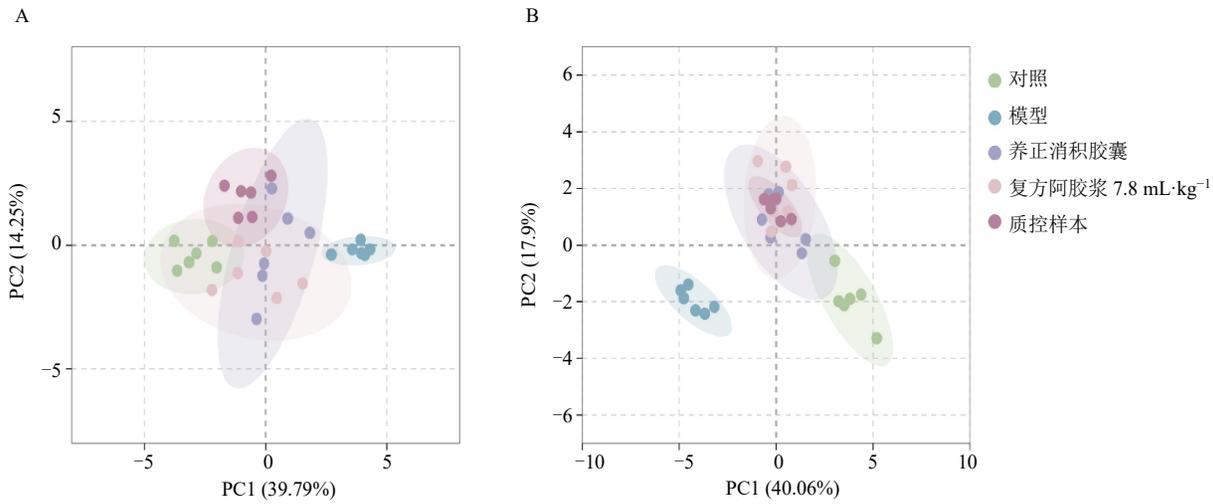


图 5 正 (A)、负 (B) 离子模式下各组血清样本 PCA 图

Fig. 5 PCA plots of serum samples in each group in positive (A) and negative (B) modes

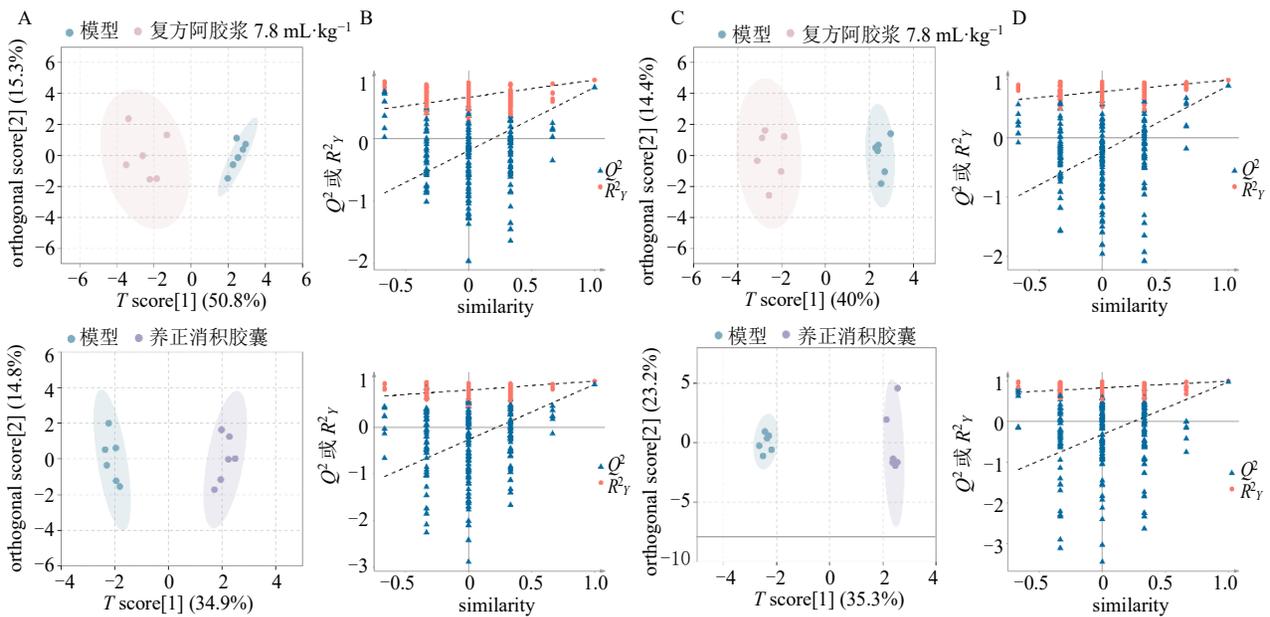


图 6 各组小鼠血清样本的 OPLS-DA 和置换检验图

Fig. 6 OPLS-DA and permutation test diagrams of serum samples in mice of each group

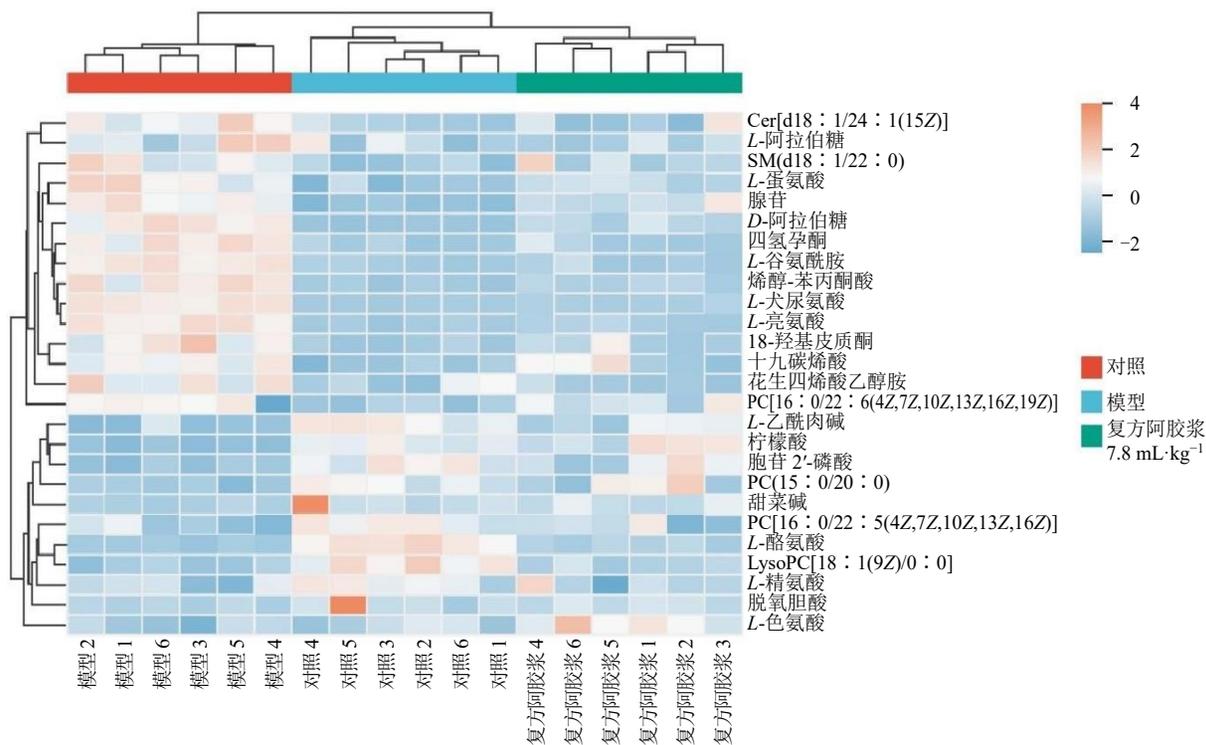


图 7 复方阿胶浆治疗乳腺癌联合化疗诱导疲劳小鼠的效应标记物热图

Fig. 7 Heatmap of effect markers for treatment of fatigue mice induced with breast cancer combined with chemotherapy by Fufang E'jiao Jiang

表 6 复方阿胶浆治疗模型小鼠抑郁情绪的差异代谢物通路富集

Table 6 Differential metabolite pathway enrichment of Fufang E'jiao Jiang for treatment of model mice

序号	代谢通路	参与代谢数目 (B/A)	P	-log ₂ P	通路影响值
1	苯丙氨酸代谢	2/8	0.003	2.488	0.133
2	精氨酸生物合成	2/14	0.010	1.994	0.080
3	丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢	2/28	0.384	1.416	0.114
4	苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成	1/4	0.045	1.352	0.500
5	乙醛酸酯和二羧酸盐代谢	2/32	0.049	1.310	0.080
6	鞘脂代谢	2/32	0.049	1.396	0.216
7	亚油酸代谢	1/5	0.055	1.257	0.000
8	甘油磷脂代谢	2/36	0.061	1.217	0.112
9	氮代谢	1/6	0.066	1.180	0.000
10	色氨酸代谢	2/41	0.076	1.117	0.237

参与代谢数目 (B/A) 中 A 表示相应代谢通路涉及代谢产物总数, B 表示本研究中参与相应代谢通路的代谢产物数。

In number of metabolites involved (B/A), A represents total number of metabolites involved in corresponding metabolic pathway, and B represents number of metabolites involved in corresponding metabolic pathway in this study.

酸代谢以及鞘脂代谢治疗乳腺癌联合化疗诱导疲劳小鼠的抑郁情绪, 回调的核心生物标记物是苯丙氨酸代谢通路中的 L-酪氨酸, 精氨酸生物合成通路中的 L-精氨酸、L-谷氨酰胺, 色氨酸代谢通路中的 L-色氨酸、L-犬尿氨酸以及鞘脂代谢通路中的鞘磷脂。

4 讨论

研究表明, 相比其他症状, 乳腺癌患者化疗期

间抑郁情绪明显, 对患者的诊疗和预后造成多方面的负面影响。越来越多的证据表明促炎状态与疲劳小鼠的抑郁情绪有关^[20], 肿瘤环境下释放大量促炎因子, 诱导 T 细胞凋亡, 导致免疫抑制, 同时化疗药紫杉醇可以通过结合微管蛋白, 无差别杀伤快速分裂的免疫细胞, 诱导肿瘤细胞释放更多的促炎因子, 加重免疫抑制^[21], 形成慢性炎症环境, 可透过血脑屏障, 损伤脑内神经元^[22-23], 从而导致抑郁情

绪的发生。

本研究于小鼠第 3 对乳房垫下注射 4T1 细胞构建乳腺癌模型，并于成瘤后给予紫杉醇注射液，模拟乳腺癌患者肿瘤生长及使用化疗药物共同诱发疲乏证候群的情况。悬尾、强迫游泳等行为学实验中不动时间可以体现小鼠耐力与疲乏状态，结果显示，模型组小鼠的不动时间显著高于对照组；HE 及尼氏染色结果显示，模型组神经元细胞结构不完整且排列散乱，尼氏小体数量减少，表明乳腺癌联合化疗疲乏小鼠模型构建成功。且悬尾、强迫游泳实验亦可提示小鼠行为绝望状态，结合糖水实验观察其快感缺失，结果显示模型组小鼠的糖水偏好率显著低于对照组，说明乳腺癌联合化疗疲乏小鼠抑郁情绪明显。

给予复方阿胶浆后，小鼠糖水偏好率显著增加，悬尾实验和强迫游泳实验中的不动时间显著降低，表明复方阿胶浆可以改善乳腺癌联合化疗疲乏小鼠的快感缺失及行为绝望等抑郁样行为。炎症是导致抑郁情绪发生的主要原因，肿瘤环境下释放大量炎症因子（主要包括 IL-6、IL-1 β 、TNF- α ），但 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞能够分泌抗炎因子，CD8⁺ T 细胞还可以抑制促炎因子的产生，从而减轻炎症反应。通过对小鼠外周血中炎症因子水平以及免疫细胞的占比进行检测，发现模型小鼠外周血中炎症因子水平升高，免疫细胞占比降低；给予复方阿胶浆治疗后上述指标得到明显回调，模型小鼠炎症反应减轻，免疫功能增强。进一步对脑内炎症因子进行检测，发现复方阿胶浆给药后，脑内炎症反应也显著降低，提示神经元损伤减轻，与病理结果相符。为了阐明复方阿胶浆在模型小鼠中的抗抑郁作用机制，采用 UPLC-QTOF-MS/MS 技术进行了血清代谢组学研究，得到其代谢物谱的变化，由下游的小分子差异代谢物反向绘制出复方阿胶浆调控的代谢通路，主要涉及苯丙氨酸代谢、色氨酸代谢、精氨酸生物合成及鞘脂代谢等途径。

色氨酸是人体重要神经递质 5-羟色胺的前体，色氨酸代谢紊乱会导致慢性炎症的发生^[24]。其代谢主要通过犬尿氨酸途径进行，其中吲哚胺 2,3-双加氧酶（indoleamine-2,3-dioxygenase, IDO）和色氨酸 2,3-双加氧酶（tryptophan-2,3-dioxygenase, TDO）是关键限速酶^[25]。本研究发现模型小鼠血清中色氨酸含量减少，犬尿氨酸水平显著增加，推测是由于肿瘤微环境分泌大量炎症因子（如 IL-6、TNF- α ），

体内炎症因子升高显著上调 IDO 活性，导致色氨酸被大量降解为犬尿氨酸，高浓度犬尿氨酸诱导 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞凋亡，进一步削弱机体抗肿瘤免疫应答，进而加剧炎症反应，使得小鼠抑郁加重^[26]。同时，色氨酸代谢产物亦可通过血脑屏障影响中枢神经系统，干扰神经递质（如 5-羟色胺）的合成，引发小鼠抑郁症状^[27]。

IDO 不仅代谢色氨酸，也可能影响苯丙氨酸的代谢。既往研究显示，色氨酸耗竭可能通过细胞应激信号触发氨基酸代谢重编程，影响苯丙氨酸羟化酶（phenylalanine-4-hydroxylase, PAH）活性，导致苯丙氨酸向酪氨酸的转化效率降低^[28]。且由于 CRF 化疗小鼠体内炎症因子抑制 PAH 活性^[29]，苯丙氨酸转化为酪氨酸减少，形成苯丙氨酸与酪氨酸比值升高的特征性代谢状态，使得模型小鼠血液中苯丙氨酸水平显著升高，苯丙氨酸代谢产物增加，通过激活一般性调控阻遏蛋白激酶 2（general control nonderepressible 2, GCN2）-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin, mTOR）通路，阻断 CD8⁺ T 细胞的蛋白质合成和能量代谢，诱导 CD8⁺ T 细胞凋亡^[30]；同时苯丙氨酸的增加又可通过激活 NF- κ B 通路，促进促炎因子释放，进一步抑制 PAH 活性，形成代谢-炎症恶性循环^[29]，加剧疲乏。而血液中苯丙氨酸积累会导致酪氨酸减少，影响多巴胺、去甲肾上腺素等神经递质的合成，干扰中枢神经系统对免疫功能的调控，从而加剧小鼠的疲劳和抑郁症状^[29]；其代谢产物（如苯乙酸）可通过血脑屏障，激活小胶质细胞并释放促炎因子，进一步导致小鼠抑郁情绪加重^[31]。给予复方阿胶浆治疗后小鼠血液中色氨酸、犬尿氨酸、酪氨酸等氨基酸水平得到显著回调，小鼠抑郁情绪减轻。

本研究结果显示，模型小鼠血清中精氨酸含量显著降低。研究显示，由于肿瘤细胞必须扩大营养需求（包括氨基酸）以满足密集生长^[32]，所以高表达精氨酸酶，使精氨酸过度消耗并转化为鸟氨酸和尿素^[33]。精氨酸酶通过消耗微环境中的精氨酸，限制 T 细胞功能，使得 T 细胞周期停滞及 CD8⁺ T 细胞功能耗竭^[34]。而精氨酸代谢产物精胺通过激活 p53-胸腺嘧啶二聚体 DNA 糖苷酶（thymine-DNA glycosylase, TDG）-过氧化物酶体增殖物启动受体 γ （peroxisome proliferators-activated receptor γ , PPAR γ ）轴，驱动巨噬细胞 M2 极化，分泌抗炎因子^[35]。且精氨酸缺乏还会通过抑制 mTOR 通路，阻

断 T 细胞的糖酵解和线粒体呼吸, 导致其能量代谢障碍及凋亡。同时导致一氧化氮生成减少, 影响血管舒张和神经传导, 导致神经递质合成异常, 加剧 CRF 患者的疲劳感和抑郁情绪, 其代谢产物可通过血脑屏障激活小胶质细胞, 释放 IL-1 β 和 TNF- α , 进一步抑制中枢神经系统功能并诱发抑郁^[36]。

鞘脂代谢产物(如神经酰胺)可通过血脑屏障激活小胶质细胞, 释放 IL-1 β 和 TNF- α , 进一步抑制中枢神经系统功能并诱发疲劳及抑郁, 鞘氨醇-1-磷酸通过调节紧密连接蛋白的表达, 破坏血脑屏障完整性, 加剧中枢炎症反应^[37]; 同时, 炎症因子的增加会导致机体血液中大量炎症因子损伤血脑屏障, 使其通透性增加, 从而进入脑内导致脑内神经元损伤, 引发抑郁情绪。L-棕榈酰肉碱是一种长链酰基肉碱, 可以促进乙酰胆碱的产生并减少炎症。给予复方阿胶浆治疗后, 小鼠血清中鞘脂代谢产物显著减少, 有效抑制了炎症因子的释放, 减轻了小鼠的抑郁症状。

综上, 本研究采用行为学、病理学、非靶向代谢组学相结合的方法, 从整体水平研究复方阿胶浆与机体代谢物之间的关联, 发现复方阿胶浆可能通过降低模型小鼠血液中炎症因子水平, 使得免疫细胞占比增加, 减轻免疫抑制, 增强免疫功能, 并分泌抗炎因子, 减轻炎症反应, 同时回调色氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、精氨酸代谢及鞘脂代谢异常, 从而发挥改善乳腺癌联合化疗诱导疲乏小鼠抑郁情绪的作用, 阐明了复方阿胶浆治疗其潜在作用机制, 为其进一步研究提供重要理论依据。

复方阿胶浆对模型小鼠行为学、血清及脑组织中炎症因子水平、血清代谢物回调情况等大部分均优于阳性对照药养正消积胶囊(根据《中国癌症相关性疲乏临床实践诊疗指南》选择^[38]), 可能是因为复方阿胶浆中含有独特动物药阿胶具备优越的免疫活性, 并与其余植物药精密配伍, 可能从多个角度针对疲乏等证候群进行改善。但本研究仅从外周免疫角度出发, 对复方阿胶浆在乳腺癌化疗诱导疲乏小鼠的抗抑郁作用进行研究, 而复方阿胶浆作为中药复方, 具有多成分、多靶点的优秀治疗效应, 在其他角度的治疗作用及其化学成分、药效物质基础等尚未明确, 且本研究中血清代谢组学分析得到的差异代谢物可能也与乳腺癌化疗小鼠疲乏或疲乏下其他症状有关, 上述问题将在未来进行深入研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 殷九旭, 李鑫, 周羚玲, 等. 癌因性疲乏的发病机制及中西医治疗研究进展 [J/OL]. 中医学报, (2025-05-06) [2025-06-17]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/41.1411.R.20250506.1537.002.html>.
- [2] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [3] Sun L N, Zuo C L, Ma B N, et al. Intratumoral injection of two dosage forms of paclitaxel nanoparticles combined with photothermal therapy for breast cancer [J]. *Chin Herb Med*, 2025, 17(1): 156-165.
- [4] 马贞, 于明薇, 徐雯洁, 等. 乳腺癌患者癌因性疲乏与抑郁、焦虑情绪的调查 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2012, 17(11): 984-987.
- [5] Monteran L, Ershaid N, Doron H, et al. Chemotherapy-induced complement signaling modulates immunosuppression and metastatic relapse in breast cancer [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 5797.
- [6] Yang S W, Chu S F, Gao Y, et al. A narrative review of cancer-related fatigue (CRF) and its possible pathogenesis [J]. *Cells*, 2019, 8(7): 738.
- [7] Inglis J E, Kleckner A S, Lin P J, et al. Excess body weight and cancer-related fatigue, systemic inflammation, and serum lipids in breast cancer survivors [J]. *Nutr Cancer*, 2021, 73(9): 1676-1686.
- [8] Kurzrock R. The role of cytokines in cancer-related fatigue [J]. *Cancer*, 2001, 92(S6): 1684-1688.
- [9] Myers J S. Proinflammatory cytokines and sickness behavior: Implications for depression and cancer-related symptoms [J]. *Oncol Nurs Forum*, 2008, 35(5): 802-807.
- [10] 卿鹏, 赵建夫, 赵仓焕, 等. 针刺干预癌症相关性疲劳及对患者血清 CRP、IL-6、TNF- α 及 s TNF-R1 水平的影响 [J]. 中国针灸, 2020, 40(5): 505-509.
- [11] Xiao C, Miller A H, Felger J, et al. Depressive symptoms and inflammation are independent risk factors of fatigue in breast cancer survivors [J]. *Psychol Med*, 2017, 47(10): 1733-1743.
- [12] Lacourt T E, Heijnen C J. Mechanisms of neurotoxic symptoms as a result of breast cancer and its treatment: Considerations on the contribution of stress, inflammation, and cellular bioenergetics [J]. *Curr Breast Cancer Rep*, 2017, 9(2): 70-81.
- [13] Kumar N B, Fink A, Levis S, et al. Thyroid function in the etiology of fatigue in breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(39): 25723-25737.

- [14] Inglis J E, Lin P J, Kerns S L, *et al.* Nutritional interventions for treating cancer-related fatigue: A qualitative review [J]. *Nutr Cancer*, 2019, 71(1): 21-40.
- [15] Shi W B, Wang Z X, Liu H B, *et al.* Study on the mechanism of Fufang E'jiao Jiang on precancerous lesions of gastric cancer based on network pharmacology and metabolomics [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 304: 116030.
- [16] Saxena R N, Pendse V K, Khanna N K. Anti-inflammatory and analgesic properties of four amino-acids [J]. *Indian J Physiol Pharmacol*, 1984, 28(4): 299-305.
- [17] Wang J, Zeng L, Zhang Y, *et al.* Pharmacological properties, molecular mechanisms and therapeutic potential of ginsenoside Rg₃ as an antioxidant and anti-inflammatory agent [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 975784.
- [18] Vinolo M A R, Rodrigues H G, Nachbar R T, *et al.* Regulation of inflammation by short chain fatty acids [J]. *Nutrients*, 2011, 3(10): 858-876.
- [19] 常佳东, 吴江, 韩瑞, 等. 整合脑组织代谢组学和肠道菌群测序分析研究酸枣仁汤抗抑郁的作用机制 [J]. *中草药*, 2025, 56(3): 905-918.
- [20] Karshikoff B, Sundelin T, Lasselin J. Role of inflammation in human fatigue: Relevance of multidimensional assessments and potential neuronal mechanisms [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 21.
- [21] Kundu M, Butti R, Panda V K, *et al.* Modulation of the tumor microenvironment and mechanism of immunotherapy-based drug resistance in breast cancer [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 92.
- [22] Bower J E. Cancer-related fatigue: Mechanisms, risk factors, and treatments [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2014, 11(10): 597-609.
- [23] Kim S, Miller B J, Stefanek M E, *et al.* Inflammation-induced activation of the indoleamine 2,3-dioxygenase pathway: Relevance to cancer-related fatigue [J]. *Cancer*, 2015, 121(13): 2129-2136.
- [24] Harris D M M, Szymczak S, Schuchardt S, *et al.* Tryptophan degradation as a systems phenomenon in inflammation-an analysis across 13 chronic inflammatory diseases [J]. *EBioMedicine*, 2024, 102: 105056.
- [25] Stone T W, Williams R O. Modulation of T cells by tryptophan metabolites in the kynurenine pathway [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2023, 44(7): 442-456.
- [26] Lanser L, Kink P, Egger E M, *et al.* Inflammation-induced tryptophan breakdown is related with anemia, fatigue, and depression in cancer [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 249.
- [27] Xue C, Li G L, Zheng Q X, *et al.* Tryptophan metabolism in health and disease [J]. *Cell Metab*, 2023, 35(8): 1304-1326.
- [28] 叶森, 王宏宾, 付永. 吲哚胺 2,3-双加氧酶: 多种肝病中发挥双刃剑作用的重要介质 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2022, 38(6): 1440-1444.
- [29] Neurauter G, Grahmann A V, Klieber M, *et al.* Serum phenylalanine concentrations in patients with ovarian carcinoma correlate with concentrations of immune activation markers and of isoprostane-8 [J]. *Cancer Lett*, 2008, 272(1): 141-147.
- [30] Bradley D M, Mahler R F. Effect of phenylalanine and its metabolites on the metabolism of leucocytes and lymphocytes [J]. *Clin Sci Mol Med*, 1975, 49(4): 343-351.
- [31] Lv Z, Liu R D, Su K Q, *et al.* Acupuncture ameliorates breast cancer-related fatigue by regulating the gut microbiota-gut-brain axis [J]. *Front Endocrinol*, 2022, 13: 921119.
- [32] Sullivan L B, Gui D Y, Vander Heiden M G. Altered metabolite levels in cancer: Implications for tumour biology and cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(11): 680-693.
- [33] Zou S Y, Wang X M, Liu P, *et al.* Arginine metabolism and deprivation in cancer therapy [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109210.
- [34] Canè S, Geiger R, Bronte V. The roles of arginases and arginine in immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2025, 25: 266-284.
- [35] Zhu Y H, Zhou Z W, Du X, *et al.* Cancer cell-derived arginine fuels polyamine biosynthesis in tumor-associated macrophages to promote immune evasion [J]. *Cancer Cell*, 2025, 43(6): 1045-1060.
- [36] Mossmann D, Müller C, Park S, *et al.* Arginine reprograms metabolism in liver cancer via RBM39 [J]. *Cell*, 2023, 186(23): 5068-5083.
- [37] Soula M, Unlu G, Welch R, *et al.* Glycosphingolipid synthesis mediates immune evasion in KRAS-driven cancer [J]. *Nature*, 2024, 633(8029): 451-458.
- [38] 张剑军, 钱建新. 中国癌症相关性疲乏临床实践诊疗指南 (2021 年版) [J]. *中国癌症杂志*, 2021, 31(9): 852-872.