

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2024.08.004
文章编号: 1005-8982 (2024) 08-0021-07

实验研究·论著

针刺对乳腺癌化疗后癌因性疲乏模型小鼠 肠-脑轴相关因子的影响*

刘瑞东¹, 王泽鹏¹, 冯晓东², 程旭锋¹, 房璐², 阮晓迪², 聂晨晨², 苏凯奇², 吕转²
(河南中医药大学第一附属医院 1. 乳腺外科, 2. 康复科, 河南 郑州 450000)

摘要: 目的 观察针刺对乳腺癌化疗后癌因性疲乏(CRF)模型小鼠肠-脑轴相关因子的影响, 探讨针刺改善乳腺癌CRF的可能机制。**方法** 将BALB/c小鼠随机分为空白组、模型组、针刺组和假针刺组, 以荷瘤加化疗的方法复制乳腺癌化疗后CRF模型小鼠。针刺足三里、三阴交、百会、关元、气海穴位, 1次/d, 30 min/次, 干预14 d。通过小鼠一般情况、强迫游泳实验、旷场实验评估小鼠体力和疲劳情况; Western blotting检测下丘脑和结肠组织中炎症因子白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 蛋白表达; 酶联免疫吸附试验检测血清HPA轴相关因子皮质醇(CORT)、促肾上腺皮质激素(ACTH)表达。**结果** 模型组模型复制后强迫游泳不动时间长于空白组($P < 0.05$)。模型组干预后强迫游泳不动时间长于针刺组($P < 0.05$), 假手术组干预后长于针刺组($P < 0.05$)。模型组模型复制后水平运动得分、垂直运动得分低于对照组($P < 0.05$)。针刺组干预后水平运动得分、垂直运动得分高于模型组、假针刺组($P < 0.05$)。模型组、假针刺组小鼠下丘脑中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白相对表达量高于空白组($P < 0.05$), 针刺组低于模型组、假针刺组($P < 0.05$)。针刺组、模型组、假针刺组结肠组织中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白相对表达量高于空白组($P < 0.05$), 针刺组低于模型组、假针刺组($P < 0.05$)。模型组、假针刺组ACTH蛋白水平高于空白组($P < 0.05$), CORT蛋白水平低于空白组($P < 0.05$); 针刺组ACTH蛋白水平低于模型组($P < 0.05$), CORT蛋白水平高于模型组($P < 0.05$); 针刺组ACTH蛋白水平低于假针刺组($P < 0.05$), CORT蛋白水平高于假针刺组($P < 0.05$)。**结论** 针刺可能通过降低乳腺癌CRF模型小鼠中枢和结肠中促炎因子的表达水平, 调节HPA轴功能紊乱状态, 进而改善乳腺癌化疗后CRF的疲乏症状, 这可能是针刺治疗CRF的作用机制之一。

关键词: 乳腺癌; 癌因性疲乏; 下丘脑; 结肠; 炎症因子; HPA轴
中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A

Effect of acupuncture on gut-brain axis-associated molecular profiles in mouse models of cancer-related fatigue after chemotherapy for breast cancer*

Liu Rui-dong¹, Wang Ze-peng¹, Feng Xiao-dong², Cheng Xu-feng¹, Fang Lu²,
Ruan Xiao-di², Nie Chen-chen², Su Kai-qi², Lv Zhuan²

(1. Department of Breast Surgery, 2. Department of Rehabilitation, The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan 450000, China)

Abstract: Objective To observe the effect of acupuncture on gut-brain axis-associated molecular profiles in mouse models of cancer-related fatigue (CRF) after chemotherapy for breast cancer, and to explore the possible mechanism underlying the improvement of CRF in breast cancer mediated by acupuncture. **Methods** BALB/c mice

收稿日期: 2023-04-10

* 基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题项目(No.2022ZY1019)

[通信作者] 吕转, E-mail: zhuanlv777@163.com; Tel: 13733151727

were randomly divided into blank group, model group, acupuncture group and sham acupuncture group. The tumor-bearing mice subjected to chemotherapy were used to establish models of CRF after chemotherapy for breast cancer. Acupoints including "Zusanli", "Sanyinjiao", "Baihui", "Guanyuan", and "Qihai" were selected for acupuncture, and the mice underwent 30-minute treatment once a day for 14 days. The physical strength and fatigue of mice were evaluated through general conditions, forced swimming tests, and open field tests. Western blotting was performed to detect the protein expressions of inflammatory factors IL-1 β , IL-6, and TNF- α in hypothalamus and colon tissues. ELISA was used to determine the serum levels of CORT and ACTH associated with the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. **Results** The immobility time during the forced swimming tests in the model group was longer than that in the blank group ($P < 0.05$). Compared with the acupuncture group, the immobility time during the forced swimming tests before and after the intervention was longer in the model group ($P < 0.05$). Besides, the immobility time during the forced swimming tests in the sham operation group was longer than that in the acupuncture group ($P < 0.05$). The scores of horizontal and vertical movements in the model group were lower than those in the blank group ($P < 0.05$). The scores of horizontal and vertical movements in the acupuncture group were higher than those in the model group and the sham acupuncture group ($P < 0.05$). The relative protein expressions of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in the hypothalamus of mice in the model group and the sham acupuncture group were higher than those in the blank group ($P < 0.05$), while those in the acupuncture group were lower relative to those in the model group and the sham acupuncture group ($P < 0.05$). The relative protein expressions of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in the colon tissues of mice in the acupuncture group, model group and the sham acupuncture group were all higher than those in the blank group ($P < 0.05$), those in the acupuncture group were lower than those in the model group ($P < 0.05$), and those in the acupuncture group were lower than those in the sham acupuncture group ($P < 0.05$). The protein level of ACTH in the model group and the sham acupuncture group was higher than that in the blank group ($P < 0.05$), whereas the protein level of CORT in the model group and the sham acupuncture group was lower than that in the blank group ($P < 0.05$). The protein level of ACTH in the acupuncture group was lower than that in the model group ($P < 0.05$), whereas the protein level of CORT in the acupuncture group was higher than that in the model group ($P < 0.05$). The protein level of ACTH in the acupuncture group was lower than that in the sham acupuncture group ($P < 0.05$), whereas the protein level of CORT in the acupuncture group was higher than that in the sham acupuncture group ($P < 0.05$). **Conclusion** Acupuncture could mitigate the fatigue in mouse models of CRF after chemotherapy for breast cancer, possibly by reducing the expressions of proinflammatory factors in the central nervous system and the colon and modulating the dysfunction of the HPA axis, which may also be part of the mechanisms underlying the roles of acupuncture in treating CRF.

Keywords: breast cancer; cancer-related fatigue; hypothalamus; colon; inflammatory factors; HPA axis

乳腺癌作为目前全球发病率第一的恶性肿瘤,其疾病本身及在治疗过程中引发的疲乏、抑郁、失眠等不良反应较为常见^[1-2],而60%乳腺癌幸存者存在不同程度的癌因性疲乏(cancer-related fatigue, CRF)症状^[3]。CRF是一种由癌症或癌症治疗引起的,扰乱机体正常功能的、持续存在的主观感觉,并严重影响患者的机体功能康复和生活质量。其中接受化疗后的患者CRF发生率为70%~100%,而且患者疲乏程度较未化疗者明显加重^[4]。研究表明,肿瘤化疗可激活促炎细胞因子网络,炎症因子可通过各种途径破坏肠道屏障,引起肠道炎症以及外周血炎症反应,进而导致中枢炎症反应及下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴功能失调,从而引起CRF^[5]。大量研究证实,肿瘤化

疗可能会损伤肠道上皮组织,使更多肠道内容物暴露于隐窝中,导致肠道屏障功能的破坏以及肠道的炎症反应,使肠道中白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)等促炎因子表达水平升高。此外,有研究表明,肿瘤化疗可破坏血脑屏障功能,导致IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等中枢性促炎因子增加,进而引起皮质醇(Cortisol, CORT)、促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin-releasing hormone, CRH)、促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)等HPA轴相关因子表达紊乱,加重疲乏症状^[6]。

针刺是将针灸针插入人体特定穴位的一种非药物治疗方法,也是一种广泛应用于临床实践的辅助和替代治疗方法。相关研究证实,针刺可通过调

节肠道炎症、中枢炎症及生理屏障功能来调节肠道菌群的紊乱,恢复体内稳态,在改善肿瘤治疗引起的不良反应中发挥重要作用^[7]。笔者前期研究发现,通过复制乳腺癌化疗后疲乏模型小鼠针刺足三里、三阴交、百会、关元、气海穴位可通过调节肠道菌群结构丰度,增加肠道有益菌、抑制致病菌、提高机体免疫力,改善乳腺癌化疗引起的疲乏症状^[8]。另有文献报道针刺可改善乳腺癌 CRF 患者的疲乏症状,提高患者生活质量^[9]。据此提出针刺可能通过肠-脑轴改善乳腺癌 CRF 的假说。本研究通过复制乳腺癌化疗后 CRF 小鼠模型,观察针刺足三里、三阴交、百会、关元、气海穴对 CRF 小鼠下丘脑和结肠的炎症因子及 HPA 轴相关激素因子的影响,从而阐明针刺治疗 CRF 的可能机制。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

雌性 SPF 级 BALB/c 小鼠[实验动物生产许可证号:SCXK(京)2016-0006,实验动物使用许可证号:SYXK(豫)2020-0004]60 只,6~8 周龄,体重 15~18 g,由北京市维通利华实验动物技术有限公司提供,饲养于河南中医药大学第一附属医院 SPF 级动物实验室。小鼠在室温 20~25 ℃,相对湿度 40%~70%,12 h/12 h 昼夜明暗交替,自由进食、饮水,适应性喂养 1 周。本研究经医院医学伦理委员会审批通过(No:YFYDW2021012)。

1.2 细胞

4T1-Luciferase 小鼠乳腺癌细胞来源于美国国立癌症研究所,由中国中医科学院广安门医院肿瘤研究室提供。细胞常规培养于 RPMI-1640 培养液中,在 37 ℃、5% 二氧化碳条件下常规培养,2~3 天传代 1 次,实验取对数生长期细胞。

1.3 药物、试剂与仪器

注射用环磷酰胺(CTX)0.2 g(德国 ASTA Medica AG 公司),RPMI-1640 培养基(北京索莱宝科技有限公司),特级胎牛血清(以色列 BI 公司),PAGE 凝胶快速制备试剂盒(上海雅酶生物科技有限公司),BCA 蛋白测定试剂盒(北京索莱宝科技有限公司),ECL 超敏发光液(上海雅酶生物科技有限公司),IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、 β -actin 一抗、二抗(武汉三鹰科技有限公司),20 \times TBST 缓冲液(北京索莱宝科技

有限公司),ACTH、CORT ELISA 试剂盒(武汉伊莱瑞特科技有限公司),一次性华佗牌无菌针灸针(苏州医疗用品厂有限公司,规格 0.2 mm \times 13 mm),Western blotting 显影仪、蛋白垂直电泳槽(美国 Bio-Rad 公司)。

1.4 分组和模型复制

首先将 60 只雌性小鼠采用随机数字表法分为空白组 10 只,模型复制组 50 只。随后进行荷瘤加化疗模型制备:将 4T1-Luciferase 小鼠乳腺癌细胞浓度调整为 2 \times 10⁶ 个/mL,分别在模型复制组小鼠的第 4 乳垫区皮下接种 0.1 mL 细胞,接种 7~10 d,当肿瘤体积约 0.5 cm \times 0.5 cm \times 0.5 cm 时,给予模型复制组腹腔注射 CTX 100 mg/(kg \cdot d),连续 3 d,以模型复制组小鼠体重下降、食欲减退、毛发稀疏、精神萎靡、行动迟缓、活动度减低、便溏等一般情况以及强迫游泳不动时间延长、旷场内的水平运动得分和垂直运动得分降低为模型复制成功标准。

1.5 干预方法

模型复制成功后于次日开始干预,共 14 d。针刺组小鼠参考《实验动物常用穴位名称与定位第 2 部分:大鼠》^[10],选取位于小鼠膝关节下方,腓骨头下 0.3 cm 处的肌沟中的“足三里”,后肢内踝尖上 0.5 cm 处的“三阴交”,脐后方 1 cm 处的“关元”,脐后方 0.5 cm 处的“气海”和顶骨正中的“百会”。在穴位处消毒后,足三里直刺 3 mm,三阴交直刺 1.5 mm,关元斜刺 1.5 mm,气海斜刺 1.5 mm,百会平刺 1 mm,留针 30 min,6 min 行针 1 次,1 次/d,6 d/周,共 14 d;假针刺组每日陪同抓取,固定,不治疗。

1.6 小鼠一般情况、体力和疲劳情况评估

分别于模型复制后次日和干预 14 d 后观察各组小鼠的体重、精神状态、活动度、饮食、毛发及大便性状等。分别于模型复制后次日和干预 14 d 后采用强迫游泳实验和旷场实验检测小鼠疲乏状况。强迫游泳实验即在光线较暗的环境中将小鼠放入直径 10 cm,高度 25 cm 的圆柱形透明水桶中,保持桶中的水深 10~15 cm,水温在 23~25 ℃,用摄像系统记录 6 min 小鼠游泳时间,统计后 4 min 小鼠的不动时间,以此评估小鼠的体力和疲劳情况;旷场实验是在光线较暗的环境中将小鼠放置在敞箱底面的中心方格内,箱上方安置摄像系统,记录分析小鼠在箱内 3 min 的水平运动得分(小鼠穿越底面块

数,穿越 1 块计 1 分)和垂直运动得分(小鼠后腿直立次数,每次计 1 分),以此评估小鼠在陌生环境中的自发运动能力。

1.7 酶联免疫吸附试验检测小鼠血清 ACTH、CORT 的含量

小鼠治疗后,眼眶取血,于 4 ℃、3 000 r/min 离心 15 min,提取上清液,置于-80 ℃冰箱保存待测。根据酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒操作说明测定血清 ACTH、CORT 的含量。

1.8 Western blotting 检测下丘脑和结肠中炎症因子的表达

小鼠干预 14 d 后,处死,开颅取脑,分离下丘脑组织,同时剖腹取结肠组织,放置在冻存管中,置入-80 ℃备用。取下丘脑和结肠组织称重后匀浆机匀浆,然后加入 RIPA 裂解液获取总蛋白,按照 BCA 蛋白定量试剂盒说明书测定蛋白含量;根据蛋白浓度上样,12.5% PAGE-SDS 电泳 80 V 30 min、120 V 60 min,转膜 250 mA 30 min、脱脂奶粉封闭 1 h,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 一抗孵育过夜后弃掉一抗,洗涤液洗板后,加入二抗室温孵育 1 h。用 ECL 发光液和显影定影试剂发光显色,Image J 软件系统分析灰度值,以目的蛋白与内参蛋白条带灰度值的比值作为目的蛋白相对表达量。

1.9 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用 t 检验或方差分析,两两比较用 LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌化疗后 CRF 模型评价

本实验共使用 50 只小鼠复制乳腺癌化疗后 CRF 模型,其中 5 只小鼠模型复制过程中死亡;根据强迫游泳和旷场行为学实验进行模型复制后的行为学观察,剔除不疲乏小鼠 6 只,将剩余的 39 只模型复制小鼠随机分为模型组、针刺组、假针刺组,每组 13 只。在干预过程中,各组均死亡 3 只、部分数据不合格剔除 2 只,最终 3 组均剩余 8 只完成整个实验。

2.2 各组小鼠体重及一般情况观察

与空白组小鼠比较,模型组小鼠毛发稀疏、精神萎靡、摄食饮水减少、行动迟缓、大便稀黏等表现。在针刺干预 2 周后,与模型组比较,针刺组小鼠精神状态、摄食饮水、活动度、毛发情况恢复较好,接近空白组小鼠状态;而假针刺组与其比较无明显变化。

2.3 各组小鼠行为学比较

各组小鼠模型复制前强迫游泳不动时间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组小鼠模型复制后强迫游泳不动时间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),模型组长于空白组。各组小鼠干预前和干预后强迫游泳不动时间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),模型组干预后长于针刺组($P < 0.05$),假手术组干预后长于针刺组($P < 0.05$)。见表 1。

模型组与空白组小鼠模型复制前水平运动得分、垂直运动得分比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。模型组与空白组小鼠模型复制后水平运动得分、垂直运动得分比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),模型组低于空白组($P < 0.05$)。见表 2。

模型组、假针刺组、针刺组小鼠干预前水平运动得分、垂直运动得分比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。模型组、假针刺组、针刺组小鼠干预后水平运动得分、垂直运动得分比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),针刺组高于模型组、假针刺组($P < 0.05$)。见表 3。

表 1 各组小鼠不同时间点强迫游泳不动时间比较
($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	强迫游泳不动时间		强迫游泳不动时间	
	模型复制前	模型复制后	干预前	干预后
模型组	27.5 \pm 10.9	181.8 \pm 23.6	181.8 \pm 23.6	180.9 \pm 21.8
假针刺组	27.8 \pm 10.7	124.5 \pm 10.5	124.5 \pm 10.5	173.6 \pm 16.4
针刺组	25.6 \pm 8.7	124.9 \pm 9.8	124.9 \pm 9.8	123.6 \pm 9.8
空白组	25.9 \pm 11.3	30.7 \pm 11.8	-	-
F 值	0.101	158.916	38.484	31.085
P 值	0.959	0.000	0.000	0.000

2.4 各组小鼠小鼠下丘脑组织 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白相对表达量比较

各组小鼠下丘脑 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白相对表达量比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。模型组、假针刺组高于空白组($P < 0.05$),针刺组低于模

表 2 模型组与空白组小鼠模型复制前后水平运动得分、垂直运动得分比较 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

组别	水平运动得分		垂直运动得分	
	模型复制前	模型复制后	模型复制前	模型复制后
模型组	108.6 ± 7.1	48.0 ± 8.3	24.8 ± 8.3	11.4 ± 1.5
空白组	110.0 ± 6.5	95.6 ± 3.6	25.1 ± 7.0	26.2 ± 7.2
F 值	0.625	83.872	0.264	21.657
P 值	0.532	0.000	0.792	0.000

表 3 各组小鼠干预前后水平运动得分、垂直运动得分比较 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

组别	水平运动得分		垂直运动得分	
	干预前	干预后	干预前	干预后
模型组	41.3 ± 9.4	30.3 ± 5.9	13.0 ± 11.0	6.8 ± 1.9
假针刺组	43.3 ± 9.5	29.5 ± 4.9	11.4 ± 3.5	7.2 ± 2.9
针刺组	45.3 ± 9.7	41.2 ± 8.8	13.1 ± 4.0	11.6 ± 3.7
F 值	0.212	4.673	0.304	4.305
P 值	0.812	0.032	0.743	0.039

型组、假针刺组 (P < 0.05)。见表 4 和图 1。

表 4 各组小鼠下丘脑组织 IL-1β、IL-6、TNF-α 蛋白相对表达量比较 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-1β	TNF-α	IL-6
空白组	0.24 ± 0.07	0.41 ± 0.01	0.32 ± 0.03
针刺组	0.41 ± 0.06	0.49 ± 0.01	0.44 ± 0.05
模型组	0.84 ± 0.08	0.74 ± 0.02	0.78 ± 0.01
假针刺组	0.82 ± 0.05	0.79 ± 0.02	0.79 ± 0.02
F 值	276.207	30.976	191.512
P 值	0.000	0.000	0.000

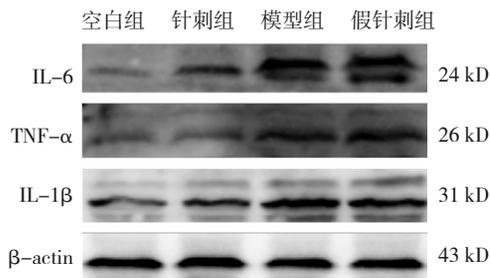


图 1 各组下丘脑组织炎症因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 蛋白条带图

2.5 各组小鼠结肠组织 IL-1β、IL-6、TNF-α 蛋白相对表达量比较

各组小鼠结肠组织 IL-1β、IL-6、TNF-α 蛋白相

对表达量比较, 差异均有统计学意义 (P < 0.05)。针刺组、模型组、假针刺组高于空白组 (P < 0.05), 针刺组低于模型组、假针刺组 (P < 0.05)。见表 5 和图 2。

表 5 各组小鼠结肠组织 IL-1β、IL-6、TNF-α 蛋白相对表达量比较 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-1β	TNF-α	IL-6
空白组	0.33 ± 0.04	0.36 ± 0.07	0.34 ± 0.10
针刺组	0.42 ± 0.03	0.46 ± 0.10	0.44 ± 0.12
模型组	0.80 ± 0.01	0.82 ± 0.04	0.73 ± 0.08
假针刺组	0.82 ± 0.02	0.81 ± 0.07	0.75 ± 0.06
F 值	59.055	453.071	114.745
P 值	0.000	0.000	0.000

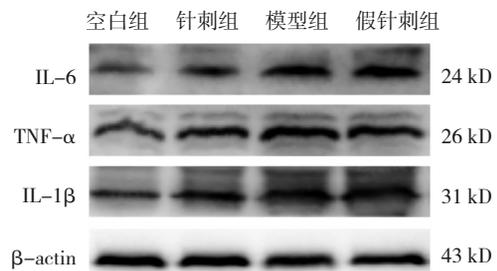


图 2 各组小鼠结肠组织 IL-1β、IL-6、TNF-α 蛋白条带图

2.6 各组小鼠血清 ACTH、CORT 蛋白水平比较

各组小鼠血清 ACTH、CORT 蛋白水平比较, 差异均有统计学意义 (P < 0.05)。模型组、假针刺组 ACTH 蛋白水平高于空白组 (P < 0.05), CORT 蛋白水平低于空白组 (P < 0.05); 针刺组 ACTH 蛋白水平低于模型组 (P < 0.05), CORT 蛋白水平高于模型组 (P < 0.05); 针刺组 ACTH 蛋白水平低于假针刺组 (P < 0.05), CORT 蛋白水平高于假针刺组 (P < 0.05)。见表 6。

表 6 各组小鼠血清 ACTH、CORT 蛋白水平比较 (n=8, pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	ACTH	CORT
空白组	82.47 ± 3.17	666.39 ± 109.34
针刺组	88.69 ± 6.11	386.04 ± 69.57
模型组	135.72 ± 12.92	107.12 ± 39.01
假针刺组	135.57 ± 17.37	113.05 ± 36.41
F 值	52.204	15.848
P 值	0.000	0.000

3 讨论

CRF属于中医“虚劳”范畴,主要病机为脏腑气血阴阳的亏虚^[11]。化疗如“药毒”,耗伤机体脾胃气阴,脾胃乃气血生化之源,脾胃虚则气血生化无源,则有疲劳、乏力、纳差等症状,故化疗后引起的CRF基本病机为“虚”,脾胃受损为主,并兼气血阴阳亏虚^[12]。中医传统针刺疗法治疗CRF有其独特优势,其可通过毫针刺刺激穴位,并施以补泻手法,激发经气,起到疏通经络、调节脏腑、运行气血、扶正祛邪的作用。足三里为足阳明胃经合穴,具有补益气血之功;三阴交属足太阴脾经,又与肝经、肾经相交通,有滋阴养脾、补益肝肾之功效;百会为诸阳之会,是人体阳气最强盛的地方,一穴补诸阳;关元、气海可起到激发正气,补益中气之功效^[13]。李文涛等^[14]研究发现调益三焦针法可缓解肺癌CRF患者的疲劳状态,增强患者免疫功能,改善生活质量;另一项研究证实针刺百会、内关、气海、足三里、三阴交治疗后,乳腺癌康复期患者的疲乏程度明显低于假穴浅刺组,生活质量得到明显提高^[9];同时根据另一项Meta分析结果发现,针刺治疗CRF穴位使用频次较多的为足三里、关元、气海、三阴交、合谷、百会穴^[15]。因此,本研究选用针刺足三里、三阴交、关元、气海、百会五个穴位,起到补益气血阴阳,滋养脾肾的功效。

本研究通过复制乳腺癌化疗后CRF小鼠模型,结合小鼠一般情况及强迫游泳实验、旷场实验,发现乳腺癌化疗后CRF小鼠行动迟缓、精神萎靡、毛发稀疏、大便稀黏、体重明显下降,强迫游泳不动时间明显延长,旷场内的水平运动得分和垂直运动得分均出现下降,证实荷瘤加化疗治疗的方法可以引起小鼠疲乏症状。针刺治疗后,小鼠精神状态明显好转,强迫游泳不动时间明显缩短,旷场内的水平运动得分和垂直运动得分均升高,提示治疗组小鼠疲乏程度有所减轻。结果证实针刺治疗可改善乳腺癌化疗后CRF小鼠的疲乏症状。

研究表明,CRF的发生与肿瘤本身、针对肿瘤的治疗措施、肿瘤合并症及与这些相关的社会心理等因素有关,但其具体的发病原因和机制尚不完全清楚,可能与炎性介质学说、HPA轴改变等诸多因素有相关性^[5,16]。姜萍岚等^[17]研究证实肿瘤及其治疗均可以激活促炎细胞因子网络,特别是在放化疗

期间会产生IL-6、IL-8、IL-1 β 、TNF- α 、CRP等促炎细胞因子,这些炎症因子可通过破坏的肠道屏障、血脑屏障等各种途径进入大脑,引起中枢炎症反应,破坏HPA轴,减少皮质醇合成和释放,引起疲乏。SCHREPF等^[18]发现在肿瘤治疗完成后1年内疲乏症状得到改善的卵巢癌患者血浆中IL-6水平也随之降低。另有研究者发现,TNF- α 的表达水平与肺癌CRF有关,疲乏组表达水平高于对照组^[19]。本研究结果表明,与正常组小鼠比较,模型组、假针刺组小鼠下丘脑组织和结肠组织中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著升高,经针刺治疗后,上述细胞因子均显著降低,表明乳腺癌化疗后CRF小鼠中肠道和中枢炎症水平较高,而通过针刺治疗可明显抑制下丘脑和结肠的促炎因子分泌,改善中枢和肠道的炎症反应。

HPA轴包括CORT、CRH、ACTH等。有研究表明,HPA轴的改变在疲乏的发生、发展中充当重要角色^[20]。一项随机对照试验发现,CRF组患者血清ACTH水平显著高于非疲乏组,且ACTH与CRF呈高度正相关^[21];WEINRIB等^[22]研究发现,卵巢癌患者血清CRH的变化与CRF呈负相关;MCEWEN等^[23]指出,HPA轴可通过调节糖皮质激素而调节促炎症细胞因子的水平。CORT是糖皮质激素,主要受促肾上腺皮质激素调节,同时CORT又可以对促肾上腺皮质激素水平起反馈调节,而抗肿瘤治疗可以扰乱这种反馈调节机能,使皮质醇水平调节紊乱,从而导致CRF的发生^[24]。本研究结果表明,与正常组比较,模型组、假针刺组小鼠CORT水平明显降低、ACTH水平明显升高;经针刺治疗后,针刺组CORT水平显著升高,ACTH水平明显下降,表明乳腺癌化疗后CRF小鼠中存在下丘脑相关激素水平紊乱,而通过针刺治疗可明显调节下丘脑相关激素水平变化,改善HPA轴功能紊乱状态。

综上所述,本研究证明针刺可降低乳腺癌化疗后CRF模型小鼠下丘脑、结肠组织中促炎因子水平,改善中枢和肠道的炎症反应,使进入大脑的炎症因子减少,进而提升血清CORT水平,降低ACTH水平,调节HPA轴功能紊乱状态,从而减轻乳腺癌CRF的疲乏症状,这可能是针刺治疗CRF的作用机制之一。同时本研究也存在一定的局限性,对肠-脑轴中生理屏障、全身炎症及中枢其他部分炎症等

相关研究并未深入探讨,因此实验后续将在前期研究基础上探讨肠-脑轴更多相关指标的研究,为针刺通过调节肠道微生物-肠-脑轴治疗CRF的作用机制提供更多理论依据。

参 考 文 献 :

- [1] KATSURA C, OGUNMWONYI I, KANKAM H K, et al. Breast cancer: presentation, investigation and management[J]. *Br J Hosp Med (Lond)*, 2022, 83(2): 1-7.
- [2] 江泽飞,李健斌.乳腺癌诊疗指南和临床实践历程[J].*中华外科杂志*, 2020, 58(2): 85-90.
- [3] 蒋树云,马德寿,马志军. R-spondins与乳腺癌的相关性研究进展[J].*中国现代医学杂志*, 2023, 33(5): 43-49.
- [4] THONG M S Y, van NOORDEN C J F, STEINDORF K, et al. Cancer-related fatigue: causes and current treatment options[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2020, 21(2): 17.
- [5] 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.
- [6] BOWER J E. The role of neuro-immune interactions in cancer-related fatigue: biobehavioral risk factors and mechanisms[J]. *Cancer*, 2019, 125(3): 353-364.
- [7] 高宠,杨国旺,张佳慧,等. 中医药治疗乳腺癌癌因性疲乏临床研究进展[J].*北京中医药*, 2022, 41(5): 585-588.
- [8] 吕转,刘瑞东,苏凯奇,等. 针刺对乳腺癌癌因性疲乏模型小鼠肠道菌群的调节作用 [J].*世界科学技术-中医药现代化*, 2023, 1-10.
- [9] 吴雨. 针灸联合药物治疗癌因性疲乏的系统评价与荟萃分析[D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
- [10] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位第2部分: 大鼠[J].*针刺研究*, 2021, 46(4): 351-352.
- [11] 王泽坤,陈晓琦,陈召起,等. 癌因性疲乏的中西医研究进展[J].*中华中医药杂志*, 2023, 38(3): 1185-1189.
- [12] 熊家青,李逵,吴泳蓉,等. 癌因性疲乏中医辨证治疗概述[J].*中华中医药杂志*, 2021, 36(2): 986-989.
- [13] 车文文,杨静雯,夏小军,等. 针灸防治癌因性疲乏临床实践指南研究[J].*世界中医药*, 2021, 16(10): 1594-1598.
- [14] 李文涛,刘云鹤,潘攀,等. 调益三焦针灸法对中晚期非小细胞肺癌癌因性疲乏的疗效及免疫功能的影响[J].*针刺研究*, 2020, 45(12): 1000-1005.
- [15] 李晓霞,王亚军. 针灸治疗癌因性疲乏特点分析[J].*中医肿瘤*

学杂志, 2020, 2(2): 58-62.

- [16] 胡勃,李梦倩,刘兰芳,等. 基于结构方程模型的晚期癌症患者照料者疲劳感影响因素分析[J].*中国现代医学杂志*, 2018, 28(5): 58-67.
- [17] 姜萍岚,王曙红,蒋冬梅,等. 乳腺癌患者癌因性疲乏与疾病特征的研究[J].*中国现代医学杂志*, 2011, 21(35): 4443-4449.
- [18] SCHREPF A, CLEVINGER L, CHRISTENSEN D, et al. Cortisol and inflammatory processes in ovarian cancer patients following primary treatment: relationships with depression, fatigue, and disability[J]. *Brain Behav Immun*, 2013, 30 Suppl: S126-S134.
- [19] COURTIER N, GAMBLING T, BARRETT-LEE P, et al. Soluble interleukin-6 receptor mediated fatigue highlights immunological heterogeneity of patients with early breast cancer who undergo radiation therapy[J]. *Adv Radiat Oncol*, 2018, 3(4): 552-558.
- [20] 康盈盈,陈茹萍,周慧娟. 不同强度有氧运动对脑胶质瘤术后化疗患者癌因性疲乏及HPA轴功能的影响[J].*实用癌症杂志*, 2022, 37(1): 157-159.
- [21] 姜爱萍,仲巧玲,杭燕. 补中益气汤治疗肺癌康复期癌因性疲乏[J].*吉林中医药*, 2022, 42(11): 1294-1297.
- [22] WEINRIB A Z, SEPHTON S E, DEGEEST K, et al. Diurnal cortisol dysregulation, functional disability, and depression in women with ovarian cancer[J]. *Cancer*, 2010, 116(18): 4410-4419.
- [23] MCEWEN B S, BIRON C A, BRUNSON K W, et al. The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine and immune interactions[J]. *Brain Res Brain Res Rev*, 1997, 23(1-2): 79-133.
- [24] 韩凤娟,刘芳媛,张景欣. 基于"劳者温之"探讨HPA轴在癌因相关性疲乏中的作用[J].*中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(5): 216-222.

(李科 编辑)

本文引用格式: 刘瑞东,王泽鹏,冯晓东,等. 针刺对乳腺癌化疗后癌因性疲乏模型小鼠肠-脑轴相关因子的影响[J].*中国现代医学杂志*, 2024, 34(8): 21-27.

Cite this article as: LIU R D, WANG Z P, FENG X D, et al. Effect of acupuncture on gut-brain axis-associated molecular profiles in mouse models of cancer-related fatigue after chemotherapy for breast cancer[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2024, 34(8): 21-27.