

4T1 炎性乳腺癌细胞接种联合皮质酮注射诱导 乳腺癌并发抑郁症小鼠模型的研究

杨 蕙¹, 孟 盼², 杨 琴², 韩远山¹, 凌 佳², 杜 青³, 赵洪庆², 王宇红^{2*}

(1. 湖南中医药大学第一附属医院中心实验室, 长沙 410007; 2. 湖南中医药大学中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室培育基地, 长沙 410208; 3. 湖南省中医药研究院, 长沙 410006)

【摘要】 目的 研究 4T1 炎性乳腺癌细胞接种联合皮质酮注射所致 BALB/c 小鼠病理行为和核心标志物的变化。**方法** 采用 4T1 炎性乳腺癌细胞接种的方法建立乳腺癌小鼠模型, 并随机分为 2 组, 乳腺癌组和乳腺癌皮质酮组; 另将未接种乳腺癌细胞的小鼠也随机分为 2 组, 正常对照组和抑郁症组。随后给予抑郁症组和乳腺癌皮质酮组 21 d 皮质酮注射 (30 mg/kg)。实验结束后, 采用糖水消耗实验、旷场实验、新奇摄食实验观察各组小鼠的抑郁样行为。小鼠断头处死后, 测量各组小鼠乳腺肿瘤瘤重和瘤体积, 采用 ELISA 法检测小鼠肿瘤标志物肿瘤抗原 CA153、糖类抗原 CA125、癌胚抗原 (CEA)、5-羟色胺 (5-HT)、多巴胺 (DA)、去甲肾上腺素 (NE) 的含量。**结果** 乳腺癌皮质酮组小鼠瘤重和瘤体积明显增大, 血浆 CA153、CA125 和 CEA 水平显著升高, 糖水偏嗜度明显降低, 对环境的好奇探索欲望减弱, 体内 5-HT、DA、NE 含量显著降低。**结论** 乳腺癌小鼠在接受慢性皮质酮注射后, 可表现出明显的抑郁样行为、神经递质和乳腺癌标志物以及肿瘤瘤体变化, 可为乳腺癌并发抑郁症动物实验提供模型参考。

【关键词】 乳腺癌并发抑郁症; 肿瘤标志物; 单胺神经递质; 动物行为学; 小鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 11-0021-06

doi: 10. 3969/j. issn. 1671 - 7856. 2018. 11. 004

4T1 inflammatory breast cancer cell inoculation combined with corticosterone injection to establish a mouse model of breast cancer complicated with depression

YANG Hui¹, MENG Pan², YANG Qin², HAN Yuanshan¹, LING Jia², DU Qing³, ZHAO Hongqing², WANG Yuhong^{2*}

(1. Central Laboratory, the First Affiliated Hospital, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China. 2. National Key Laboratory of Chinese Materia Medica Powder and Innovation Drugs Established by Province and Ministry, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208. 3. The Hunan Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410006)

【Abstract】 Objective To investigate changes of the pathological behaviors and core markers in BALB/c mice treated by 4T1 inflammatory breast cancer cells inoculation and corticosterone injection. **Methods** Breast cancer mouse models were established by inoculation of 4T1 inflammatory breast cancer cells and randomly divided into two groups: breast cancer and breast cancer with corticosterone groups. Healthy mice were randomly divided into two groups: normal control and depression groups. Subsequently, corticosterone injections (30 mg/kg, 21 days) were administered to the

【基金项目】 湖南省教育厅优秀青年项目 (17B201); 湖南省自然科学基金 (2018JJ3388); 国家自然科学基金 (81403379)。

【作者简介】 杨蕙 (1987—), 女, 助理研究员, 硕士, 研究方向: 中药药理学。E-mail: philomena_yh@sina.com

【通信作者】 王宇红 (1965—), 女, 研究员, 研究方向: 中药新药研究与开发。E-mail: wyh_107@163.com

depression and breast cancer with corticosterone groups. At the end of the experiment, depression-like behaviors of mice in each group were assessed by sugared water consumption, open field, and novel feeding tests. Then, all the mice were sacrificed by decapitation, and the tumor weight and volume in each mouse were measured. The levels of tumor antigens carbohydrate antigen (CA) 153, CA125, carcinoembryonic antigen (CEA), and 5-hydroxytryptamine (5-HT), dopamine (DA), norepinephrine (NE) were detected by ELISA. **Results** In the breast cancer with corticosterone group, the tumor weight and volume were increased significantly, and the levels of CA153, CA125, and CEA were increased significantly. Furthermore, the degree of sugar-water bias was reduced significantly, and the desire to explore the environment was weakened in the breast cancer mouse with corticosterone group. The concentrations of 5-HT, DA, and NE were reduced significantly. **Conclusions** After corticosterone treatment, breast cancer-bearing mice exhibit obvious depression-like behaviors. Neurotransmitters, breast cancer markers, and tumors are also changed. Based on the above indicators, this method of 4T1 inflammatory breast cancer cell inoculation combined with corticosterone injection can generate mouse model of breast cancer complicated with depression, which provides a reference for animal depression experiments.

【Keywords】 breast cancer complicated with depression; tumor marker; monoamine neurotransmitter; animal behavior; mouse

乳腺癌是世界范围内最常见的女性恶性肿瘤^[1],且比其他类型的癌症更加能影响患者的精神与情绪^[2]。Shakeri 等^[3]对乳腺癌患者测评后发现,高达有 69.4% 的患者表现出了重度抑郁症。而在中国,调查显示乳腺癌术后发生抑郁症的比例为 23.4%,其中重度抑郁症比例达 25%^[4]。抑郁症可严重影响乳腺癌的治疗及预后^[5],开展乳腺癌并发抑郁症(breast cancer related depression,BCRD)的防治研究已迫在眉睫。但是文献调研后发现,目前有关 BCRD 的研究主要集中在临床,而动物实验研究少见,严重阻碍了 BCRD 相关研究的进展。本实验拟采用 4T1 炎性乳腺癌细胞接种联合 21 d 皮质酮注射,建立乳腺癌并发抑郁症小鼠模型。并通过对比抑郁症小鼠和乳腺癌小鼠,从行为学、瘤形态和标记物含量等角度,对该模型进行初步评价,以期对乳腺癌并发抑郁症实验研究提供可靠的动物模型参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 BALB/c 雌性小鼠 40 只,4~6 周龄,18~22 g,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,合格证号:43004700025656。动物自购买之日起即饲养于湖南中医药大学第一附属医院 SPF 动物房内[SYXK(湘)2015-0003],并在光暗周期为 12 h/12 h 环境中适应性喂养 5 d,温度为 20℃~26℃,湿度为 40%~70%,自由获取食物与水。

1.2 主要试剂与仪器

皮质酮购自索莱宝生物公司;RPMI 培养基、胰酶

购自 HyClone;胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司;DMSO 购自上海蓝润化学有限公司;肿瘤抗原 CA153、糖类抗原 CA125、癌胚抗原(CEA)、5-羟色胺(5-HT)、多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)的 ELISA 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。自动双重水蒸馏器购自上海健强玻璃仪器有限公司;MK3 型酶标仪购自美国 Thermo 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 4T1 炎性乳腺癌细胞的培养

4T1 炎性乳腺癌元代细胞株购买于上海科学院细胞库,在显微镜下观察细胞生长状态,用 0.22 μm 过滤器过滤细胞,弃掉培养液,加入适量 PBS 轻轻吹打细胞,1500 r/min,8 min 离心,加入含有 RPMI 培养液(内含 10% 胎牛血清,1% 双抗)10 mL,转移至 25 cm² 培养瓶中,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 2 mL 胰酶,使其与培养板细胞充分接触,培养箱中消化 2 min 后,显微镜下观察细胞消化情况,若大部分细胞未变圆,用移液枪轻轻吹打细胞,使 80%~90% 细胞消化,加入 2 倍胰酶体积的培养液终止消化,将细胞转移至 5 mL 离心管中,1500 r/min,8 min,4℃ 离心,弃去培养液,加入适量 PBS 轻轻吹打细胞,使其完全成细胞悬浮状态,1500 r/min,8 min,4℃ 离心,弃 PBS,加入培养液,将细胞浓度调整为 10⁶ 个/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 10⁷ 个/mL。

1.3.2 动物模型制备

以 BALB/c 小鼠为造模对象,在其腋下接种 0.1

mL 的 10^7 个/mL 4T1 炎性乳腺癌细胞,用以建立乳腺癌小鼠模型。采用背部皮下注射皮质酮混悬液 30 mg/kg(每 300 mg 皮质酮用 5 mL DMSO 预溶解,随后加入 95 mL 生理盐水),连续注射 21 d,用以制备抑郁症小鼠模型。而乳腺癌并发抑郁症小鼠模型则是在接种 4T1 炎性乳腺癌细胞 7 d 后,在其背部皮下注射皮质酮混悬液,连续注射 21 d。实验中全程按照实验动物使用 3R 原则给予人道主义关怀,IACUC 号:HN-LL-KY-2016-004-01。

1.3.3 动物分组

小鼠适应性喂养 5 d 后,将动物按体重随机分为 2 组:一组腋下接种 4T1 炎性乳腺癌细胞,成模的小鼠按糖水消耗随机分为 2 组:乳腺癌组和乳腺癌并发抑郁症组,未注射 4T1 炎性乳腺癌细胞的小鼠按糖水消耗分为 2 组:空白组和抑郁症组,每组 10 只。

1.3.4 瘤重、瘤体积指标检测

小鼠禁食禁水 24 h 后处死,将乳腺肿瘤剥离下来,并去除多余的毛发,称量其瘤重,抑瘤率 = (对照组平均质量 - 实验组平均质量) / 对照组平均质量 $\times 100\%$ 。并用游标卡尺量取其长、宽、高三径,计算体积 $V = (\text{长} \times \text{宽}^2) / 2$ 。

1.3.5 行为学检测

(1)糖水偏好:糖水偏好度反应了抑郁动物快感缺失的症状。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% 蔗糖水和蒸馏水各一瓶,1 h 后取出水瓶,称量出剩余的蔗糖水与蒸馏水的重量。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 + 糖水消耗量) $\times 100\%$ 。

(2)旷场实验:小鼠禁食不禁水 24 h 后,将动物放入箱内底面中心,实验箱规格为 50 cm $\times$ 50 cm $\times$ 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)。实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。

(3)新奇摄食实验:小鼠禁食不禁水 24 h 后,将动物面向箱壁从同一位置放入实验箱中,实验箱规格为 50 cm $\times$ 50 cm $\times$ 40 cm,箱中心放入适量等体积食物,适应 30 s 后,观察并记录小鼠 5 min 内首次咀嚼食物的时间。实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。

1.3.6 肿瘤标志物、单胺类神经递质含量的检测

小鼠禁食禁水 24 h 后取血,4℃ 静置 2 h 后,3000 r/min,10 min 离心,取上清液,置于液氮中速冻,后转移至超低温保存箱备用。将保存备用的血清或血浆样本在室温下解冻,严格按 CA153、CA125、CEA、5-HT、DA、NE 的 ELISA 试剂盒操作检测血中各指标的含量。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计,计量数据使用平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 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。

2 结果

2.1 乳腺肿瘤瘤重和瘤体积的变化

肿瘤离体后可见,乳腺肿瘤呈不规则的长椭圆形、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。肉眼观看可见,乳腺癌皮质酮组小鼠的肿瘤大于或基本等于乳腺癌组小鼠的肿瘤。结果见图 1。通过数据统计分析可知,与乳腺癌组比较,乳腺癌皮质酮组瘤重、瘤体积均升高,差异有显著性($P < 0.05$)。结果见表 1。

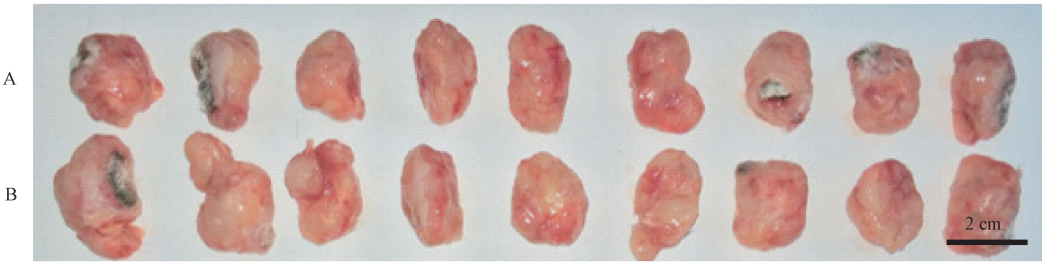
2.2 肿瘤标志物含量变化

与正常对照组比较,抑郁症组肿瘤标志物 CA153、乳腺癌组 CA153 和 CA125、乳腺癌皮质酮组小鼠肿瘤标志物 CA153、CA125 和 CEA 均明显上升($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与抑郁症组比较,乳腺癌皮质酮组 CA153、CA125 和 CEA 明显升高($P < 0.01$)。与乳腺癌组比较,乳腺癌皮质酮组 CA153、CA125 和 CEA 表达差异无显著性。结果见表 2。

2.3 行为学变化

2.3.1 小鼠快感缺乏的变化

与正常对照组比较,造模第二周抑郁症组和乳腺癌皮质酮组糖水消耗明显降低,差异有显著性($P < 0.05$);第三周时,抑郁症组、乳腺癌组和乳腺癌皮质酮组糖水消耗明显下降($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与乳腺癌组比较,乳腺癌皮质酮组造模第三周的糖水消耗显著减少($P < 0.05$)。结果提示,乳腺癌小鼠在接受了 21 d 皮质酮注射后,明显存在快感缺乏症状。结果见表 3。



注:A:乳腺癌组;B:乳腺癌皮质酮组。

图 1 各组小鼠乳腺肿瘤肉眼形态特征

Note. A: Breast cancer group; B: Breast cancer with corticosterone group.

Figure 1 Morphological characteristics of mammary gland tumors in each group of mice

表 1 各组小鼠乳腺肿瘤重、瘤体积的变化($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Changes in tumor weight and volume of the mice in each group

组别 Groups	瘤重(g) Tumor weight	瘤体积(mm ³) Tumor volume
正常对照组 Control group	0	0
乳腺癌组 Breast cancer group	0. 919 ± 0. 43	96. 93 ± 479. 64
乳腺癌皮质酮组 Breast cancer with corticosterone group	1. 12 ± 0. 38 [#]	1204. 16 ± 619. 60 [#]

注:与乳腺癌组比较,[#] $P < 0. 05$ 。

Note. Compared with the breast cancer group, [#] $P < 0. 05$.

表 2 各组小鼠血浆乳腺癌相关标志物的含量($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Plasma levels of breast cancer-associated markers in each group of mice

组别 Groups	CA153(U/mL)	CA125(U/mL)	CEA(pg/mL)
回归方程 Regression equation	$y = 0. 0043x + 0. 503$	$y = 0. 0027x + 0. 2047$	$y = 0. 001x + 0. 3229$
正常对照组 Control group	40. 49 ± 5. 51	181. 37 ± 108. 35	482. 76 ± 44. 83
抑郁症组 Depression group	41. 74 ± 14. 01 [*]	218. 35 ± 56. 48	513. 50 ± 39. 03
乳腺癌组 Breast cancer group	63. 71 ± 3. 35 ^{**}	248. 07 ± 69. 73 ^{**}	1059. 29 ± 44. 65
乳腺癌皮质酮组 Breast cancer with corticosterone group	112. 59 ± 10. 55 ^{**##}	335. 73 ± 70. 84 ^{**##}	1141. 65 ± 83. 73 ^{**##}

注:与正常对照组比较,^{*} $P < 0. 05$,^{**} $P < 0. 01$;与抑郁症组比较,^{##} $P < 0. 01$ 。

Note. Compared with the control group, ^{*} $P < 0. 05$, ^{**} $P < 0. 01$. Compared with the depression group, ^{##} $P < 0. 01$.

表 3 乳腺癌并发抑郁症小鼠糖水消耗的变化($\bar{x} \pm s$, $n = 10$, %)

Table 3 Changes in sugar consumption of the mice with breast cancer complicated with depression

组别 Groups	造模前 Before modeling	造模第一周 First week after modeling	造模第二周 Second week after modeling	造模第三周 Third week after modeling
正常对照组 Control group	55. 31 ± 6. 63	66. 77 ± 11. 11	67. 34 ± 7. 42	70. 43 ± 9. 40
抑郁症组 Depression group	53. 87 ± 5. 85	52. 96 ± 18. 50	53. 85 ± 16. 84 [*]	52. 89 ± 7. 17 ^{**}
乳腺癌组 Breast cancer group	54. 76 ± 5. 55	55. 24 ± 17. 38	54. 76 ± 19. 20	54. 63 ± 16. 50 [*]
乳腺癌皮质酮组 Breast cancer with corticosterone group	55. 68 ± 5. 79	55. 19 ± 17. 42	52. 58 ± 19. 07 [*]	47. 48 ± 14. 44 ^{**▲}

注:与正常对照组比较,^{*} $P < 0. 05$,^{**} $P < 0. 01$;与乳腺癌组比较,[▲] $P < 0. 05$ 。

Note. Compared with the control group, ^{*} $P < 0. 05$, ^{**} $P < 0. 01$. Compared with the breast cancer group, [▲] $P < 0. 05$.

2.3.2 小鼠自主行为、探究和环境恐惧意识的变化

与正常对照组比较,抑郁组、乳腺癌皮质酮组小鼠经过格子数、直立次数明显下降($P < 0.05$),乳腺癌组仅经过格子数明显下降,差异有显著性($P < 0.05$);抑郁组、乳腺癌组、乳腺癌皮质酮组小鼠首次摄食所耗时间明显上升,差异有显著性($P < 0.05$)。与抑郁组比较,乳腺癌皮质酮组小鼠旷场实验经过格子数和直立次数均下降,差异有显著性($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与乳腺癌组比较,给予皮质酮后癌症小鼠经过格子数、直立次数明显降低,首次摄食所耗时间明显上升,差异有显著性($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。提示,乳腺癌小鼠在接受皮质酮造模后,缺乏在新奇环境中的自主行为、探索与摄食欲望,存在饥饿与对新环境恐惧的矛盾冲突。结果见表4。

2.4 单胺类神经递质含量的变化

与正常对照组比较,抑郁组和乳腺癌皮质酮组小鼠血液中单胺类神经递质 NE、DA 和 5-HT 均明显下降,差异有显著性($P < 0.01$),乳腺癌组单胺类神经递质无明显变化;与抑郁组比较,乳腺癌皮质酮组 NE、DA 和 5-HT 明显降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);与乳腺癌组比较,乳腺

癌皮质酮组仅 NE、DA 明显降低($P < 0.01$)。结果见表5。

3 讨论

2015 年中国 30 ~ 59 岁女性的乳腺癌患病率位居癌症首位^[6]。抑郁是乳腺癌病人普遍存在的一种心理状态,手术方式、家庭支持、收入水平、婚姻状况和受教育程度等因素均会影响乳腺癌患者抑郁的发生^[7]。但是,目前乳腺癌并发抑郁症的针对性治疗明显不足,其并发机制也尚未见阐明。因此,建立一种乳腺癌并发抑郁症小鼠模型将有利于疾病防治的开展。

首先,本实验选用了经典的 BABL/c 小鼠 4T1 炎性乳腺癌细胞接种的方式建立了乳腺癌模型,该模型被认为与人类乳腺癌具有相似的生物学特性,是研究乳腺癌的理想模型^[8]。其次,经典的抑郁症造模方法有应激造模、手术造模以及遗传性造模等,由于本实验已经选定了 BABL/c 小鼠,并进行了乳腺癌细胞接种,为了避免造模过程中物理性损伤乳腺癌瘤体,并减少动物的死亡率,故实验选用慢性注射皮质酮进行抑郁造模^[9]。

表4 乳腺癌并发抑郁症小鼠旷场实验、新奇摄食实验的变化($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Changes in open field and novel feeding tests of the mice with breast cancer complicated with depression			
组别 Groups	旷场实验 Open field experiment		新奇摄食实验(s) Novel feeding experiment
	水平运动(次) Horizontal movement (times)	垂直运动(次) Vertical movement (times)	
正常对照组 Control group	120.67 ± 23.47	39.83 ± 18.85	136.92 ± 22.40
抑郁组 Depression group	65.06 ± 8.85 *	23.83 ± 7.74 *	216.50 ± 69.27 *
乳腺癌组 Breast cancer group	81.50 ± 20.17 *	28.50 ± 9.77	199.33 ± 53.08 *
乳腺癌皮质酮组 Breast cancer with corticosterone group	59.50 ± 8.85 * ^{###}	17.50 ± 4.55 * ^{###}	217.50 ± 51.57 * [▲]

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与抑郁组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与乳腺癌组比较,[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$ 。
Note. Compared with the control group,* $P < 0.05$,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$. Compared with the breast cancer group,[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$.

表5 各组小鼠血清中单胺类神经递质的含量($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Contents of monoamine neurotransmitters in serum of the mice in each group			
组别 Groups	NE(pg/mL)	DA(pg/mL)	5-HT(pg/mL)
回归方程 Regression equation	y = 0.009x + 0.456	y = 0.0054x + 0.3935	y = 0.001x + 0.4289
正常对照组 Control group	167.49 ± 28.49	458.41 ± 45.94	238.31 ± 13.73
抑郁组 Depression group	116.26 ± 17.74 **	314.90 ± 19.67 **	188.23 ± 17.52 **
乳腺癌组 Breast cancer group	164.58 ± 28.02	433.36 ± 32.59	225.73 ± 14.34
乳腺癌皮质酮组 Breast cancer with corticosterone group	85.57 ± 2.56 ** ^{###}	178.09 ± 28.22 ** ^{###}	63.18 ± 15.49 ** [#]

注:与正常对照组比较,** $P < 0.01$;与抑郁组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与乳腺癌组比较,[▲] $P < 0.01$ 。
Note. Compared with the control group,** $P < 0.01$. Compared with the depression group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$. Compared with the breast cancer group,[▲] $P < 0.01$.

CA153 是临床上应用于乳腺癌的特异血清肿瘤标志物,在乳腺癌的诊断、疗效检测及预后判断等方面应用比较广泛。CA153 作为一种糖抗原,可在乳腺癌发生时,从癌细胞膜上分离出来,并释放到血液中。而 CA125 作为一种跨膜糖蛋白,在机体正常的情况下,是无法进入到血清中的,只有当浸润性肿瘤细胞破坏组织结构时,其才会释放入血。皮亚平等^[10]认为,CA125 和 CA153 的联合检查在乳腺癌的确诊过程中具有重要的角色,可大大提高疾病诊断的准确率。此外,CEA 是一种具有人类胚胎抗原决定簇的酸性糖蛋白,其在晚期乳腺癌和发生转移的患者中阳性率较高。刘珍等^[11]通过临床研究发现,IV 期乳腺癌患者血清中 CEA 和 CA153 水平明显高于 III 期,且以上两者表达阴性组化疗有效率和存活率均明显高于阳性组。由此可见,CA125、CA153、CEA 在乳腺癌的诊断、治疗效果、预后评估等方面均可作为重要参考依据。因此,本实验采用以上三者作为乳腺癌并发抑郁症小鼠模型的评价指标,结果可见,给予乳腺癌小鼠皮质酮后,小鼠血浆中 CA125、CA153、CEA 均显著增加。此外,通过对乳腺肿瘤的瘤重和瘤体积分分析可知,乳腺癌皮质酮组小鼠的瘤重和瘤体积比乳腺癌小鼠显著增加,故推测抑郁可能会加重乳腺癌的发生发展。

目前,针对啮齿类动物的行为学研究已经发展的比较成熟,常见的行为学检测方法也是围绕奖赏、探索、绝望等多个角度展开。其中,奖赏方面主要包括糖水偏好行为检测、颅内自我刺激实验等,而探索方面主要包括新奇摄食实验、旷场实验、高架十字迷宫实验等,绝望方面则是强迫游泳实验和悬尾实验等^[12]。由于模型小鼠腋下靠近背部有一个明显的瘤体,且每个小鼠瘤的大小并不一致,对小鼠的游泳和悬尾等行为有明显干扰,会导致相应的实验结果误差较大。故本实验主要针对模型小鼠奖赏和探索两个方面进行了研究,选择了糖水消耗实验、旷场实验和新奇摄食实验。与此同时,本实验还选取了抑郁症发生的典型指标,单胺类神经递质 5-HT、NE、DA,与行为学指标一些,协同评价各组大鼠的抑郁状态。结果发现,乳腺癌小鼠在造模第 3 周开始表现出快感缺失,其对于环境的探索欲望下降,但体内单胺神经递质含量没有显著下降,即抑郁程度弱于抑郁症组小鼠。而乳腺癌小鼠在接受了慢性皮质酮注射后,其奖赏行为和探索行为均表现出明显变化,体内单胺神经递质显著减少,抑郁程度较抑郁组小鼠更为严重。故实验推

测,乳腺癌小鼠在没有接受抑郁造模时,虽然表现出了部分抑郁样行为,但此时个体差异较大,很难开展乳腺癌并发抑郁症的研究工作。只有对其施加一定的应激措施,诱使其发展为乳腺癌并发抑郁症小鼠后,其有关抑郁的行为学表现和神经递质水平才会比较稳定,更适合进行下一步的研究工作。

4T1 炎性乳腺癌细胞接种联合皮质酮注射诱导的乳腺癌并发抑郁症小鼠不仅具备了典型的抑郁样症状和明显的神经递质变化,而且在乳腺癌标志物方面表现出明显异常,可作为一种乳腺癌并发抑郁症动物模型,被用于该疾病的发病机制研究或是药物防治研究,具有较好的参考价值。

参考文献:

- [1] Harbeck N, Gnant M. Breast cancer [J]. Lancet, 2017, 389 (10074): 1134 - 1150.
- [2] Sharif Nia H, Pahlevan Sharif S, Lehto RH, et al. Development and psychometric evaluation of a Persian version of the death depression scale-revised; a cross-cultural adaptation for patients with advanced cancer [J]. Jpn J Clin Oncol, 2017, 47 (8): 713 - 719.
- [3] Shakeri J, Golshani S, Jalilian E, et al. Studying the amount of depression and its role in predicting the quality of life of women with breast cancer [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 17 (2): 643 - 646.
- [4] 许楠, 张鹏彦, 周冬仙, 等. 乳腺癌病人术后抑郁状况调查及危险因素分析 [J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25 (34): 68 - 72.
- [5] Zong JC, Wang X, Zhou X, et al. Gut-derived serotonin induced by depression promotes breast cancer bone metastasis through the RUNX2/PTHrP/RANKL pathway in mice [J]. Oncol Rep, 2016, 35 (2): 739 - 748.
- [6] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66 (2): 115 - 132.
- [7] 谢亚兰, 何彩云. 乳腺癌病人合并抑郁症的发病率及影响因素 [J]. 全科护理, 2017, 15 (3): 279 - 281.
- [8] Welch DR. Technical considerations for studying cancer metastasis *in vivo* [J]. Clin Exp Metastasis, 1997, 15 (3): 272 - 306.
- [9] Bai Y, Song L, Dai G, et al. Antidepressant effects of magnolol in a mouse model of depression induced by chronic corticosterone injection [J]. Steroids, 2018, 135: 73 - 78.
- [10] 皮亚平, 田柳. 肿瘤标志物 CA153、CA125 联合检查对乳腺癌诊断的价值分析 [J]. 实用癌症杂志, 2017, 32 (8): 1351 - 1353.
- [11] 刘珍, 胡科. 血清 CEA 和 CA153 水平对乳腺癌化疗疗效及预后评估的价值分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38 (18): 2537 - 2539.
- [12] 牛晨旭, 郝瀚, 张海林. 啮齿类动物抑郁症模型的行为学检测方法 [J]. 河北医科大学学报, 2015, 36 (3): 370 - 372.