

扶正消岩颗粒通过调控 AKT1/BAD/BCL-2 通路改善乳腺癌化疗期癌因性疲乏

孙心悦, 王宽宇, 王 钢, 代清泉, 陈 静, 孔祥定, 栾 佳

黑龙江中医药大学附属第一医院外二科, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要:目的 基于扶正祛邪理论探究扶正消岩颗粒对乳腺癌化疗期癌因性疲乏(CRF)的治疗效果及作用机制。方法 将90例正虚毒瘀型乳腺癌 CRF 患者随机分为对照组(化疗及对症治疗)、研究组(加服扶正消岩颗粒),45例/组。比较两组 Piper 疲乏量表(PFS)、Karnofsky 功能状态(KPS)量表及中医证候评分。利用多数据库分析药物活性成分、靶点及疾病相关靶点,构建 PPI 网络并富集分析,通过分子对接和动力学模拟研究主要成分槲皮素与 AKT1 等核心靶点作用情况。构建乳腺癌 CRF 小鼠模型,设正常对照组、模型组和扶正消岩颗粒灌胃治疗组,检测不同组小鼠运动功能改变、腓肠肌组织凋亡相关蛋白 AKT1、p-AKT1、BCL-2、BAD 表达及血清 IL-6、IL-1 β 水平。结果 研究组治疗后 PFS、KPS 及中医证候评分结果均优于治疗前和对照组($P<0.05$);筛选出57个药物与疾病交集靶标,确定5个关键靶点,发现主要成分槲皮素与 AKT1 等核心靶点强结合,并可能通过凋亡通路发挥作用;扶正消岩颗粒可改善小鼠运动能力,逆转腓肠肌凋亡蛋白表达异常,降低血清 IL-6、IL-1 β 水平($P<0.05$)。结论 扶正消岩颗粒可缓解乳腺癌患者化疗期癌因性疲乏,改善中医证候和生活质量,改善疲乏模型小鼠体能,可能通过调控 AKT1/BAD/BCL-2 通路抑制骨骼肌凋亡,下调 IL-6、IL-1 β 水平发挥作用。

关键词:扶正消岩颗粒;乳腺癌;癌因性疲乏;网络药理学;AKT1/BAD/BCL-2 信号通路

Fuzheng Xiaoyan Granules ameliorate cancer-related fatigue during breast cancer chemotherapy by regulating the AKT1/BAD/BCL-2 pathway

SUN Xinyue, WANG Kuanyu, WANG Gang, DAI Qingquan, CHEN Jing, KONG Xiangding, LUAN Jia

Department of Surgery II, The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To explore the therapeutic mechanism of Fuzheng Xiaoyan (FZXY) Granules for relieving cancer-related fatigue (CRF) during chemotherapy in breast cancer patients based on the traditional Chinese medicine (TCM) theory of "Fuzheng Quxie" (supporting healthy *qi* and eliminating pathogens). **Methods** Ninety CRF patients with breast cancer and Zhengxu Duyu syndrome were randomized equally into control group with chemotherapy and symptomatic treatment and study group with additional treatment with FZXY Granules, and their Piper Fatigue Scale (PFS), Karnofsky Performance Status (KPS), and TCM syndrome scores were compared. Network pharmacology analysis was used to identify the active components in FZXY Granules, the drug targets, and disease-related targets. Protein-protein interaction (PPI) network was constructed followed by enrichment analysis. Molecular docking study was conducted to explore the interactions between quercetin and the core targets. In a CRF mouse model bearing breast cancer xenograft, the effects of saline and FZXY Granule gavage were observed by assessing motor function, expressions of AKT1, p-AKT1, BCL-2, and BAD in the gastrocnemius muscle, and serum levels of IL-6 and IL-1 β . **Results** The patients receiving FZXY Granules treatment showed significantly improved PFS, KPS, and TCM syndrome scores compared with the baseline levels and those in the control group ($P<0.05$). Fifty-seven overlapping drug-disease targets were screened, and 5 core targets were identified. Quercetin exhibited strong binding to AKT1 and acted likely via the apoptosis pathways. In the CRF mouse models, FZXY Granules obviously improved motor function of the mice, reversed abnormal apoptosis-related protein expressions in the gastrocnemius muscle, and reduced serum IL-6 and IL-1 β levels. **Conclusion** FZXY Granules alleviate CRF and improve TCM symptoms and quality of life of breast cancer patients during chemotherapy possibly by suppressing skeletal muscle cell apoptosis via regulating the AKT1/BAD/BCL-2 pathway and reducing IL-6 and IL-1 β levels.

Keywords: Fuzheng Xiaoyan Granules; breast cancer; cancer-related fatigue; network pharmacology; AKT1/BAD/BCL-2 signaling pathway

癌症相关性疲乏(CRF)为肿瘤治疗过程中的常见并发症,探究其有效临床干预方法及发生机制已成为现

代医学研究的重要课题^[1]。该病症以持续性体力不佳和主观疲劳感为特征,表现为与活动强度不匹配且无法通过休息改善的病理状态,典型症状包括持续超过2周的倦怠感,常合并认知功能损害及情感障碍,严重影响患者生活质量^[2]。临床数据显示,65%~100%接受化疗的患者群体可发生 CRF^[3]。一项大型队列研究证实 CRF 程度与乳腺癌患者无复发生存期及总体生存期呈负相关^[4],由于 CRF 的病理生理机制尚未完全阐明,西药尚存一定副作用,通常不被推荐^[5]。因此,寻找有效的

收稿日期:2025-06-01

基金项目:黑龙江省自然科学基金(H2018054);黑龙江省博士后资助项目(LBH-Z24292);黑龙江省级名中医专家传承工作室建设项目[2020]55号;黑龙江省卫生健康委科研课题(20220404010995);黑龙江省中医药科研项目(ZHY2022-002)

作者简介:孙心悦,主治医师,博士,E-mail: 429050968@qq.com

通信作者:王宽宇,教授,博士生导师,E-mail: wangkuanyu_1964@163.com

替代治疗方法具有重要的临床意义。

中医药治疗CRF具有一定疗效且无明显不良反应^[6-8],是CRF的潜在替代疗法^[9]。化疗期乳腺癌CRF以正气亏虚为本,药毒瘀血为标,应攻补兼施,扶正祛邪。有学者应用此法治疗乳腺癌CRF取得了良好的临床效果^[10]。扶正消岩颗粒是黑龙江省名中医王宽宇教授科研及经验方,具有扶正祛邪的功效,前期研究证实该方可明显改善乳腺癌术后生存质量,具有调节肿瘤微环境、抑制乳腺癌细胞增殖、迁移等作用^[11-13]。但针对其治疗化疗期乳腺癌CRF尚缺乏相关临床数据及机制研究。基于此,本研究通过临床对照探究扶正消岩颗粒治疗化疗期乳腺癌CRF的临床疗效,运用网络药理学学生信技术分析其潜在机制,并以动物实验进行验证,现报道如下。

1 资料和方法

1.1 扶正消岩颗粒临床研究

1.1.1 一般资料 选取2023年4月~2025年6月于本院就诊的化疗期正虚毒瘀型乳腺癌CRF的患者共90例,采用随机数字表法将患者分为对照组、研究组,45例/组,本研究已通过医院伦理委员会审批(伦理批号:HZYLLKT202319201)。

1.1.2 诊断标准 乳腺癌诊断标准参照《中国临床肿瘤学会(CSCO)乳腺癌诊疗指南(2020版)》^[14];CRF诊断标准参照国际疾病分类标准第10版(ICD-10)^[15]。

1.1.3 辨证标准 参照《中华人民共和国国家标准中医临床诊疗术语》^[16]及《癌症相关性疲乏诊断与治疗中国专家共识(2020版)》^[17]辨证为正虚毒瘀型。主症:神疲乏力、气短懒言、食少纳呆、恶心呕吐、头晕眼花、面色淡白或萎黄;次症:心悸失眠、手足麻木、月经延期、月经量少色淡或闭经,焦虑、潮热、少气懒言、声音低微、心烦、口燥、咽干。舌脉:舌淡黯或有瘀点、脉细涩或沉细无力。符合舌脉表现且主症2项或主症1项伴次症2项及以上即符合正虚毒瘀型。

1.1.4 纳入标准 符合乳腺癌诊断标准;癌因性疲乏筛查量表符合中重度;预估生存期6个月以上;患者年龄18~75岁,女性;已接受化疗至少1个疗程;患者及家属对该研究均知情,签署书面知情同意书。

1.1.5 排除标准 合并其他器官恶性肿瘤;合并严重心、肺、肝、肾功能异常;服用其他中药或者保健品;有精神疾病史或智能障碍者;存在药物、酒精、毒品依赖者;与疲劳症状产生相关疾病(如甲状腺功能减退、自身免疫性疾病、炎症、血液系统疾病等)。

1.1.6 治疗方法 对照组予以化疗及相应对症治疗,研究组于对照组基础上加服扶正消岩颗粒治疗。配方组成:党参20g、白术15g、茯苓10g、当归15g、白芍10g、

枸杞子15g、山萸肉15g、女贞子15g、半枝莲10g、莪术5g、陈皮15g、半夏10g,由本院配方颗粒药房提供,1剂/d,2次/d开水冲服,从化疗第1天开始服用,连服2周。

1.1.7 观察指标 利用Piper疲乏量表评价疲乏状况,每个条目采取0~10视觉模拟评分,量表各条目得分相加除以条目个数即为量表得分;采用卡氏评分评价生活质量^[18];中医证候评分:神疲乏力、恶心呕吐、头晕眼花、心悸失眠等症状按照无、轻、中、重分计0、1、2、3分,记录各项症状评分。

1.1.8 观察节点 分别于治疗前、治疗2周后进行。

1.2 网络药理学、分子对接及分子动力学模拟研究方法

1.2.1 扶正消岩汤活性成分-疾病交集靶点的获取 在TCMSP数据库以OB \geq 30%,DL \geq 0.18筛选12味中药活性成分及靶点,Uniport数据库规范靶点为gene name;GeneCards、OMIM数据库收集“breast cancer”和“cancer-related fatigue”疾病靶点;Venny 2.1在线网站取药物与疾病靶点交集并绘制韦恩图。

1.2.2 成分-靶点-疾病网络图的绘制 Cytoscape3.9.1软件导入药物活性成分、靶点和交集基因构建网络图,Centi ScaPe 2.2插件计算degree筛选核心活性成分。

1.2.3 蛋白互作网络(PPI)的构建 STRING在线网站输入交集基因,设人源物种、0.7高置信度评分并隐藏脱离靶点,下载PPI数据导入Cytoscape 3.9.1可视化;Centi ScaPe 2.2插件筛选核心靶点,设置节点与边缘可视化参数,构建PPI网络图。

1.2.4 GO和KEGG通路富集分析 DAVID数据库对交集靶点进行GO注释和KEGG富集分析,以 $P < 0.05$ 为显著条件;微生信在线平台绘制GO注释前10条目和KEGG前20通路气泡图与柱状图。

1.2.5 分子对接 应用PDB数据库下载蛋白3D结构,PyMOL 2.3.0检查;PubChem下载Quercetin 3D结构,OpenBabel3.1.1优化;AutoDock Tools1.5.6处理蛋白和小分子为pdbqt文件,Grid板块设对接参数,半柔性对接,exhaustiveness为25,拉马克遗传算法,Auto Dock Vina 1.2.0运行对接。

1.2.6 分子动力学模拟 利用Gromacs2024.4软件对AKT1蛋白与Quercetin复合物模拟,选Amber14sb蛋白力场、Gaff2配体力场,TIP4P水模型添加溶剂建水盒子,PME计算静电,蒙特卡罗法中和电荷;经能量最小化、两步预平衡后,2fs步长100ns模拟,10ps保存坐标;分子动力学模拟分析RMSD、RMSF等多项指标及MM/GBSA计算平均结合自由能。

1.3 动物实验

1.3.1 动物 雌性SPF级BALB/c小鼠40只,7~8周龄,体质量15~25g,由本校实验动物中心提供,饲养于SPF

级动物实验室。小鼠在室温 20~25 °C,相对湿度 50%~60%,12 h 光照/黑夜循环,自由进食、饮水,适应性喂养 1 周。本研究实验动物管理及福利伦理已审批通过[实验动物使用许可证号:SYXK(黑)2021-010;实验动物生产许可证号:SCXK(黑)2023-001]。

1.3.2 实验细胞 4T1-Luciferase 小鼠乳腺癌细胞购自广州德为生物科技有限公司。细胞常规培养于 RPMI 1640 培养液中,在 37 °C、5% 二氧化碳条件下常规培养,2~3 d 传代 1 次,实验取对数生长期细胞。

1.3.3 药物、试剂与仪器 注射用阿霉素(ASTA Medica AG),RPMI 1640 培养基(Solarbio),特级胎牛血清(Procell system),辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG(H+L) A0208、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG(H+L) A0216(Beyotime),p-AKT1 WL02908、AKT1 WL0003b、BAD WL02140、Bcl-2 WL01556(Wan lei bio),GAPDH 60004-1-Ig(Proteintech),Western blotting 显影仪、蛋白垂直电泳槽(BioRad)。

1.3.4 分组、造模和给药 选取 40 只小鼠,将小鼠置于高 30 cm、直径 30 cm 游泳桶,在 25±1 °C 水温下适应性游泳训练 2 d,5 min/d。剔除游泳时间过长或者过短及行为状态过兴奋或过安静的小鼠(剔除 4 只)。最终将 36 只小鼠分为正常对照组($n=9$)、乳腺癌 CRF 模型组(荷瘤加化疗模型制备, $n=27$)。对于乳腺癌 CRF 模型组给予各小鼠第 4 乳垫区皮下接种 0.1 mL 4T1 乳腺癌细胞(浓度为 2×10^6 /mL),7~10 d 后,当肿瘤体积约 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 时,将阿霉素(Henry Schein, Melville, NY)用无菌盐水(0.9%)稀释至浓度 1 mg/4 mL。在第 1~3 天和第 10~12 天腹腔注射阿霉素(2.5 mg/kg),致阿霉素组的累积剂量为 15 mg/kg^[19,20],对照组同时给予等量生理盐水,以次日观察乳腺癌 CRF 模型组小鼠一般状态欠佳,力竭游泳实验中游泳时间缩短为模型成功标准。将造模成功的 18 只小鼠(死亡 9 只)随机分为模型组(CRF 组)和扶正消岩颗粒灌胃治疗组(FZXY 治疗组),9 只/组。根据《药理实验方法学》^[21]人与动物体表面积比值剂量表换算每只小鼠扶正消岩颗粒剂给药剂量。造模成功后于次日开始给药,共 2 周,每次给予扶正消岩颗粒剂(溶于水)等效剂量灌胃,2 次/d,CRF 组与对照组小鼠给予相同体积的生理盐水灌胃。

1.3.5 实验方法及观察指标

1.3.5.1 取材 最后 1 次给药后 1 h,随机抽取 3 只/组小鼠,ELISA 法检测小鼠血清中 IL-1 β 、IL-6 水平,取腓肠肌称质量并进行 Western blotting 检测。

1.3.5.2 ELISA 麻醉后采用眼球摘除法采集血液,室温静置后于 3000 r/min 离心 10 min,使用酶标仪读取吸光度值 $A_{450\text{nm}}$,根据试剂盒提供的标准品测定值绘制标准曲线,据此计算样品中目标细胞因子的含量。

1.3.5.3 Western blotting 取腓肠肌组织称质量,按比例加入 RIPA 裂解液提取总蛋白并调平蛋白样品浓度,Western blotting 法检测凋亡相关蛋白(AKT1、p-AKT1、BAD、BCL-2)表达,GAPDH 条带作为内参。

1.3.5.4 小鼠行为学 力竭游泳实验(EST):于最后 1 次给阿霉素后次日进行,每组剩余 6 只小鼠在之前相同条件游泳环境进行游泳实验,小鼠尾中部固定一小鼠体质量 7% 的铅块并记录小鼠鼻尖没入水中 10 s 的时间,实验后立即将小鼠擦干。旷场实验(OFT):于力竭游泳实验后次日进行,在光线较暗的环境中安置摄像系统,为避免前测动物残留气味的影响,每次均清洁箱体^[22],将小鼠置于方形箱体中央,记录其后 5 min 内的运动轨迹,包括总移动距离和步行时间。悬尾实验(TST):完成旷场实验后进行,将小鼠尾部(距尾尖 2 cm 处)固定于 TS-200 悬尾测试仪上,使小鼠头部距测试仪底部 5 cm,监测其 5 min 内的绝对静止时间。

1.4 统计学分析

运用 SPSS27.0 软件进行数据统计分析。计量资料以均数±标准差表示,正态分布时,两组比较采用独立样本 t 检验、多组比较采用单因素方差分析;非正态分布时,两组比较采用 Mann-Whitney U 检验、多组比较采用 Kruskal-Wallis H 检验。组内比较,正态分布用配对 t 检验和重复测量方差分析,非正态分布用 Wilcoxon 和 Friedman 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。所有实验均独立重复 3 次。

2 结果

2.1 临床研究结果

2.1.1 患者年龄、病程、病理分型比较 研究组年龄 50.55±10.37 岁;浸润性癌 43 例,非浸润性癌 2 例。对照组年龄 50.64±9.87 岁;浸润性癌 42 例,非浸润性癌 3 例。两组一般资料均衡($P > 0.05$)。

2.1.2 两组临床患者治疗前后的 CRF、Karnofsky 功能状态(KPS)、中医证候评分 治疗前,两组患者疲乏程度差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,研究组与对照组疲乏程度均较治疗前改善($P < 0.05$),且研究组改善程度优于对照组($P < 0.05$,表 1~3)。治疗前后两组患者 KPS 及中医证候评分比较(表 2、3)。

2.2 网络药理学、分子对接及分子动力学模拟结果

2.2.1 扶正消岩颗粒活性成分筛选及靶点预测 扶正消岩颗粒获得 110 个活性成分和 291 个靶点数据,4189 个乳腺癌相关靶点,342 个 CRF 相关靶点,药物与疾病交集靶点 57 个(图 1)。

2.2.2 “扶正消岩颗粒-靶点-乳腺癌 CRF”网络的构建及可视化 将 12 味中药、110 个活性成分及 57 个交集基因导入 Cytoscape3.9.1 构建网络图,去除无关活性成分

表1 两组患者治疗前后PFS评分比较

Tab.1 Comparison of PFS scores between the two groups before and after treatment (Mean±SD, n=45)

Group	Behavioral dimension		Emotion dimension		Physical dimension		Cognition dimension	
	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment
Control	5.84±0.69	4.88±0.65	5.93±0.84	4.32±1.06	5.17±1.12	4.64±0.54	6.39±1.09	4.29±1.32
Treatment	5.55±0.88	3.14±1.23 ^a	5.60±0.92	2.77±1.56 ^a	5.38±0.51	2.96±1.00 ^a	6.35±0.97	2.87±1.41 ^a
<i>t</i>	1.754	8.381	1.799	6.617	-1.138	9.894	0.187	4.93
<i>P</i>	0.083	<0.001	0.075	<0.001	0.258	<0.001	0.852	<0.001

^a *P*<0.05 vs before treatment in the same group.

表2 两组患者治疗前后KPS评分比较

Tab.2 Comparison of KPS scores between the two groups before and after treatment [M (P25, P75), n=45]

Group	Before treatment	After treatment	Z	P
Control	70 (60, 80)	80 (70, 80)	-4.849	<0.001
Treatment	70 (70, 80)	80 (80, 90)	-6.474	<0.001
Z	-0.720	-3.499		
P	0.471	<0.001		

表3 两组患者治疗前后中医证候评分比较

Tab.3 Comparison of TCM Syndrome Scores between the two groups of patients before and after treatment (Mean±SD, n=45)

Group	Tiredness and weakness		Nausea and vomiting		Dizziness and dim vision		Palpitations and insomnia	
	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment
Control	2.87±0.50	1.96±0.21	2.80±0.55	1.91±0.36	2.49±0.63	1.84±0.47	1.78±1.08	1.27±0.84
Treatment	2.87±0.46	0.91±0.29 ^a	2.87±0.46	1.36±0.74 ^a	2.33±0.64	0.69±0.56 ^a	1.76±1.00	0.91±0.73 ^a
Z	-0.339	-8.866	-0.666	-3.846	-1.226	-7.36	-2.40	-2.18
P	0.735	<0.001	0.505	<0.001	0.22	<0.001	0.810	0.029

^a *P*<0.05 vs before treatment in the same group.

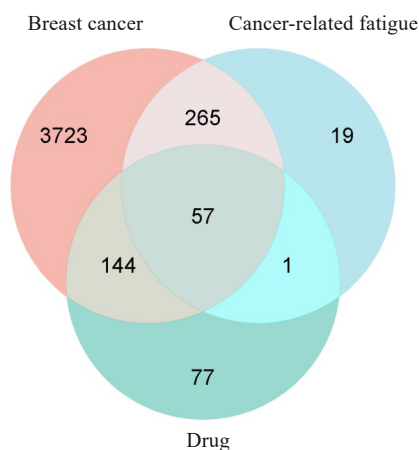


图1 药物-疾病交集靶点韦恩图

Fig.1 Venn diagram of drug-disease intersecting targets.

后,获得含130个节点、485条边的网络。利用CentiScaPe 2.2插件计算活性成分degree值,筛选核心成分。结果显示,degree值前5的成分为:MOL000098 槲皮素、MOL0000672 木犀草素、MOL000173 汉黄芩

素、MOL000422 山柰酚、MOL002714 黄芩素(图2)。

2.2.3 PPI网络构建 将57个交集靶点导入STRING数据库获取PPI网络,经Cytoscape 3.9.1可视化后,网络含57个节点、483条边。计算得Closeness中心值0.00989、Betweenness中心值47.93、Degree中心值16.25,筛选三参数均高于均值的15个核心靶点,对应网络含15个节点、86条边。其中Degree值前5的核心靶点为:IL6、TP53、EGFR、AKT1、IL1β(图3~5)。

2.2.4 GO和KEGG通路富集分析 将57个交集靶点导入DAVID数据库进行GO和KEGG富集分析,获得123个生物过程(BP)、16个细胞组分(CC)、64个分子功能(MF)结果及113条KEGG通路。GO注释中,BP前10条目涉及DNA损伤修复、细胞周期调控等;CC富集于受体复合物、核膜等;MF涵盖RNA聚合酶II特异性、DNA结合转录因子结合等功能。KEGG通路分析显示,主要涉及细胞凋亡、鞘脂信号、神经营养因子等通路,前20条通路(图6)。

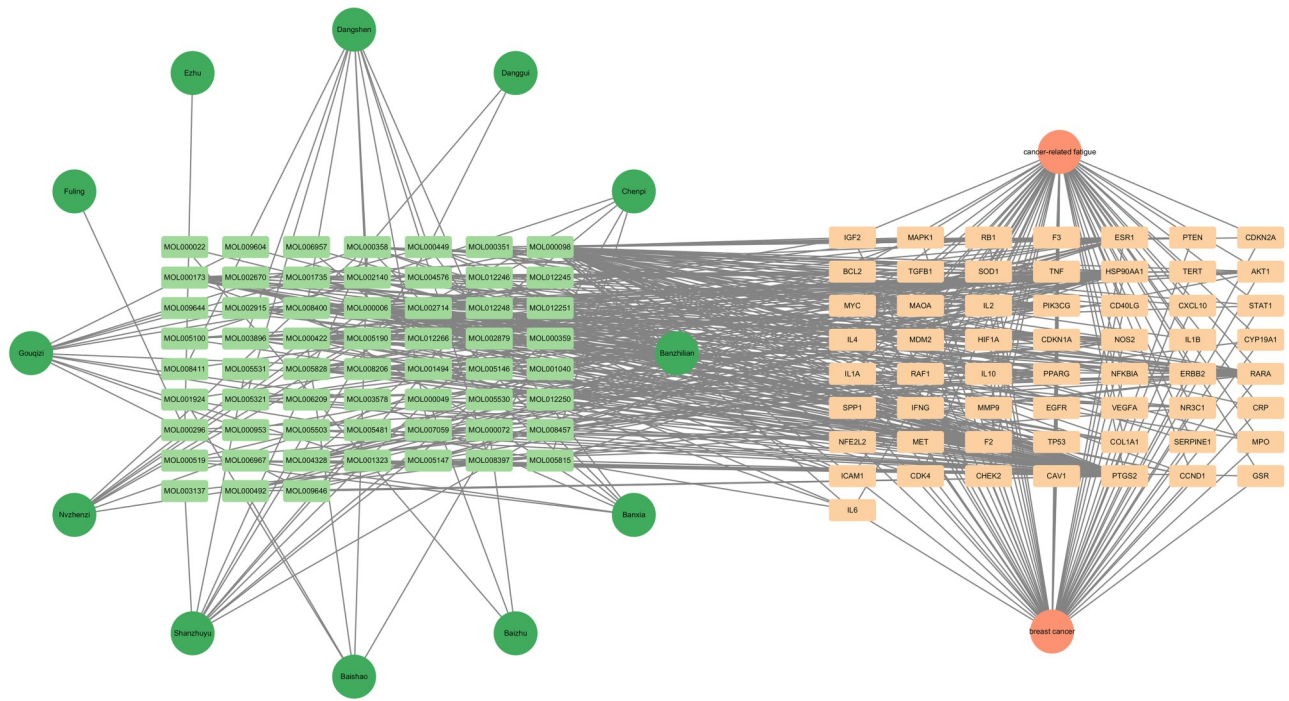


图2 成分-靶点-疾病网络图

Fig.2 Component-target-disease network diagram.

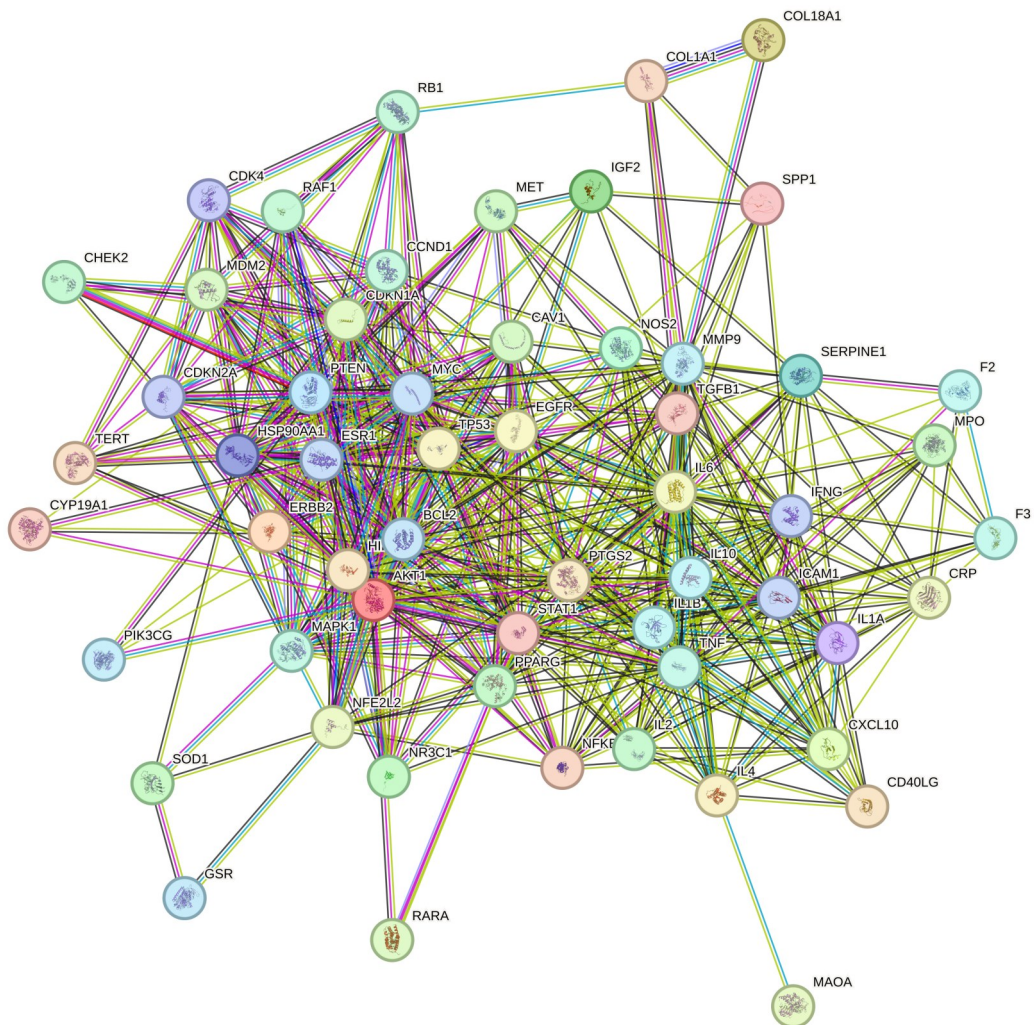


图3 PPI图

Fig.3 Protein-protein interaction network.

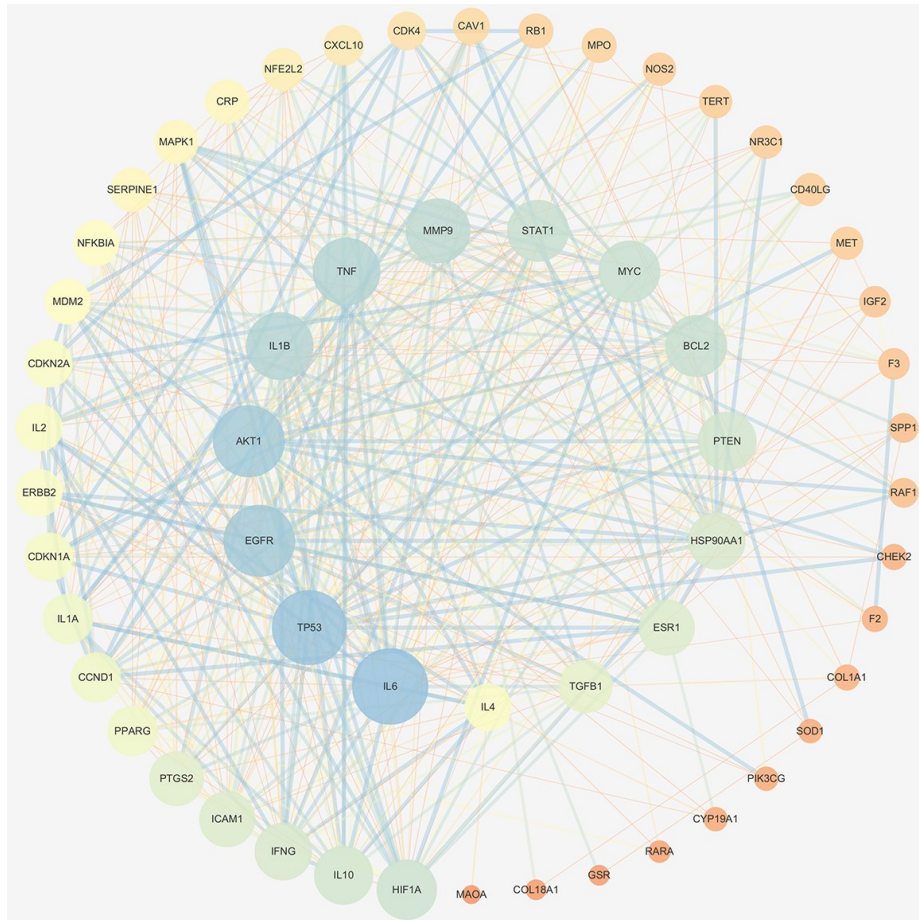


图4 潜在靶点图
Fig.4 Potential targets diagram.

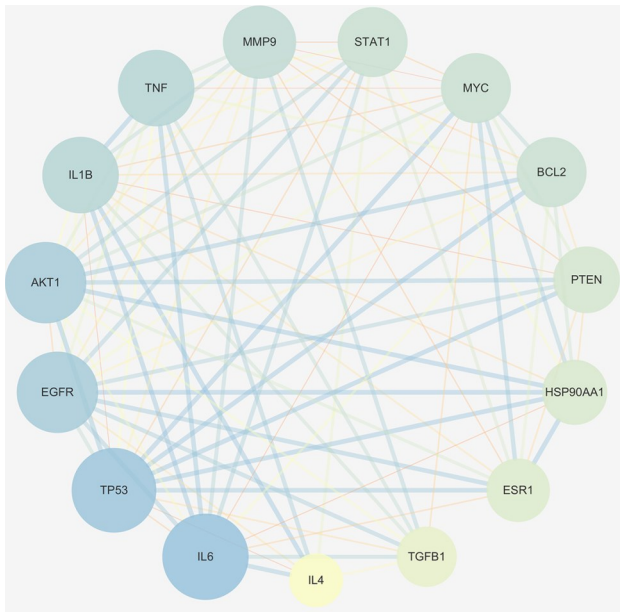


图5 核心靶点图
Fig.5 Core targets diagram.

2.2.5 扶正消岩颗粒主要成分与核心靶点分子对接 根据扶正消岩颗粒“成分-靶点-疾病网络图”分析结果,选取度值最高的槲皮素作为配体,与核心靶点(AKT1、EGFR、IL1β、IL6、TP53)进行对接。分子间结合能越低,

对接活性越大。AutoDock Vina结果显示槲皮素与核心靶点的结合能分别为-9.4、-8.7、-7.0、-7.1、-7.7 kcal/mol,均呈现较强结合力。其中,槲皮素与AKT1的结合自由能低于-9 kcal/mol,该值低于蛋白-配体有效结合阈值(-5 kcal/mol),提示槲皮素或为AKT1的高效配体分子(图7)。

2.2.6 分子动力学模拟结果 通过多项指标评估AKT1蛋白与槲皮素复合物的稳定性及相互作用发现AKT1蛋白与槲皮素形成的复合物在结构稳定性、能量分布及结合相互作用方面表现优异,具有较强的结合稳定性,其中TRP-80(-3.49 kcal/mol)、TYR-272(-3.45 kcal/mol)为主要结合位点(图8)。

2.3 动物实验结果

2.3.1 一般情况观察及力竭游泳 相较于对照组,CRF组小鼠出现毛发稀疏、精神萎靡、摄食饮水减少、行动迟缓及体质量下降等异常表现;力竭游泳实验显示,CRF组、FZXY治疗组游泳时间缩短($P<0.01$),乳腺癌CRF小鼠模型构建成功(图9A)。中药治疗2周后,与CRF组比较,FZXY组小鼠力竭游泳时间延长($P<0.05$,图9B)。

2.3.2 旷场实验、悬尾实验 旷场实验显示,与正常对照组相比,CRF组小鼠的移动距离和步行时间均下降

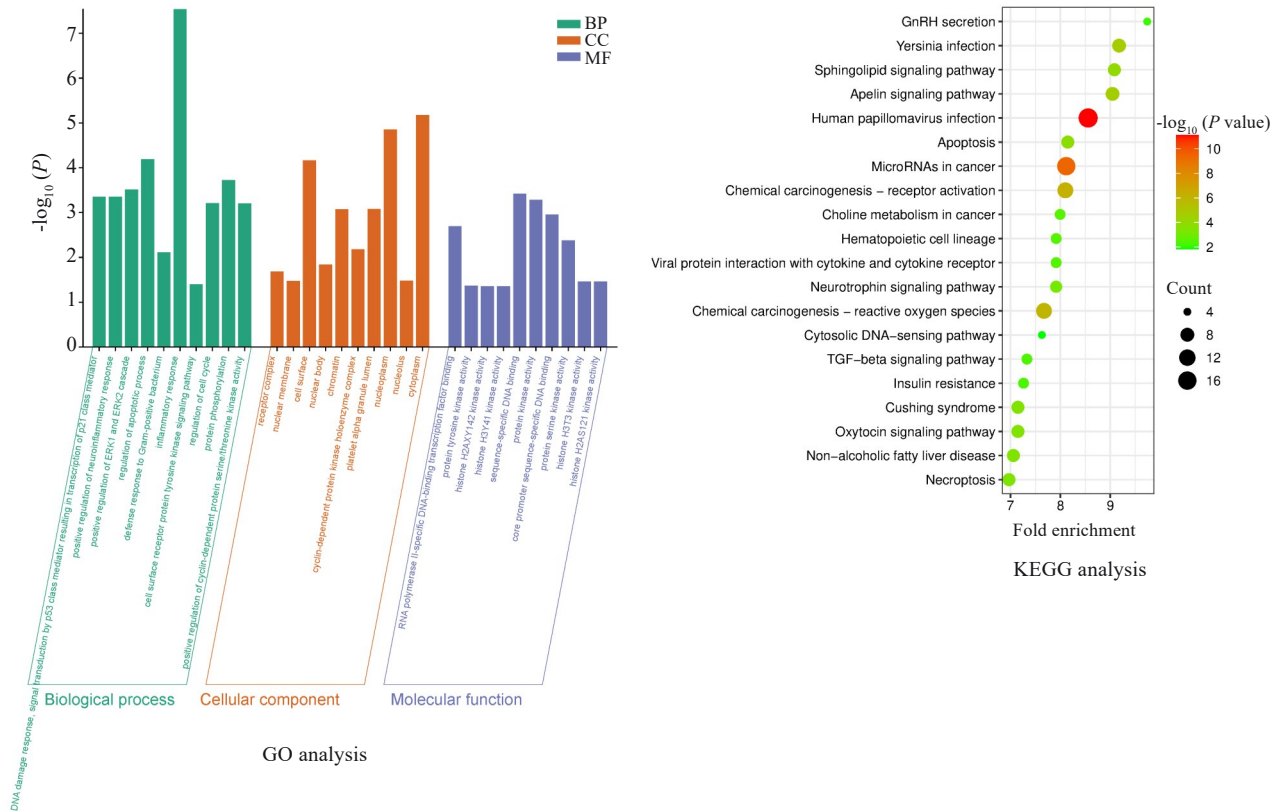


图6 GO及KEGG分析
Fig.6 GO and KEGG analysis.

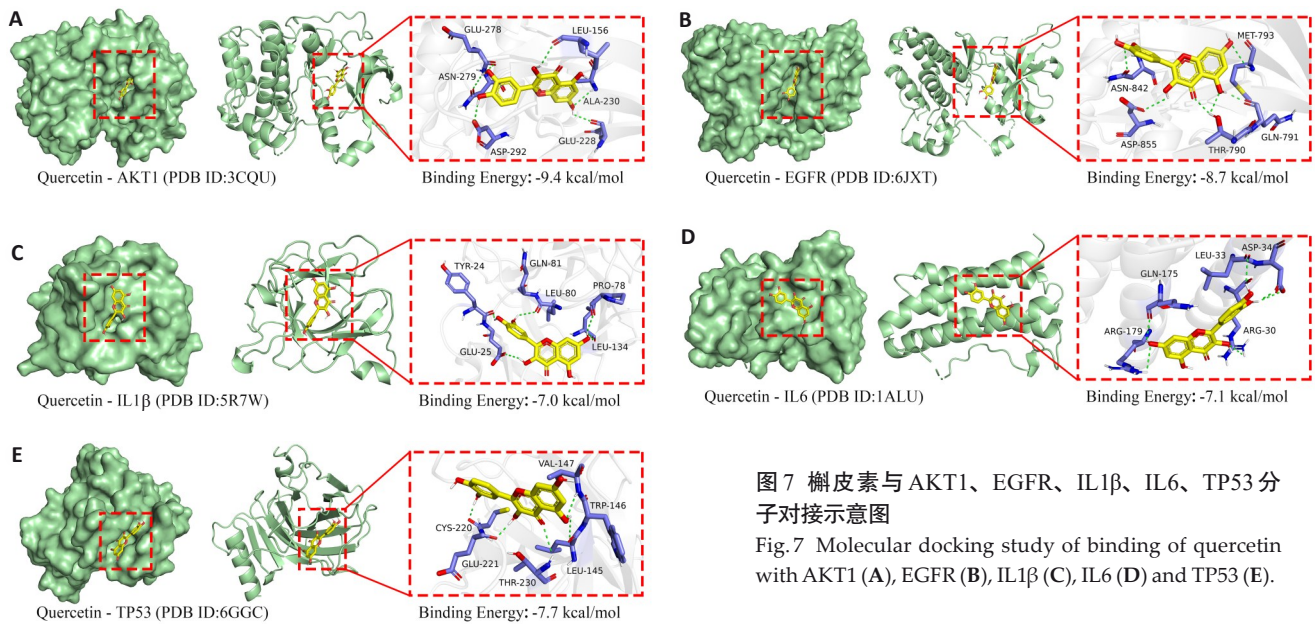


图7 槲皮素与AKT1、EGFR、IL1β、IL6、TP53分子对接示意图
Fig.7 Molecular docking study of binding of quercetin with AKT1 (A), EGFR (B), IL1β (C), IL6 (D) and TP53 (E).

($P < 0.001$),与CRF组相比,FZXY治疗组小鼠的移动距离和步行时间均增加($P < 0.05$,图10)。悬尾实验结果显示,与正常对照组比较,CRF组小鼠悬尾不动时间增加($P < 0.05$);与CRF组比较,FZXY治疗组缩短了小鼠悬尾不动时间($P < 0.05$,图10)。

2.3.3 小鼠体质量、腓肠肌重量比较 造模成功后至中药治疗2周结束,与正常对照组相比,CRF小鼠体质量有下降趋势,第26天时(注射阿霉素起为第1天),CRF组体质量

量低于对照组($P < 0.01$),而FZXY组可以改善体质量下降趋势,第26天时体质量较CRF组增加($P < 0.01$,图11)。相较于对照组,CRF组的腓肠肌重量减少($P < 0.01$),与CRF组相比,FZXY组增加($P < 0.05$,图11)。

2.3.4 各组小鼠血清IL-6、IL-1β水平比较 ELISA检测结果显示,与对照组相比,CRF组小鼠血清促炎细胞因子IL-6、IL-1β升高($P < 0.05$),而FZXY组较CRF组降低($P < 0.05$,图12)。

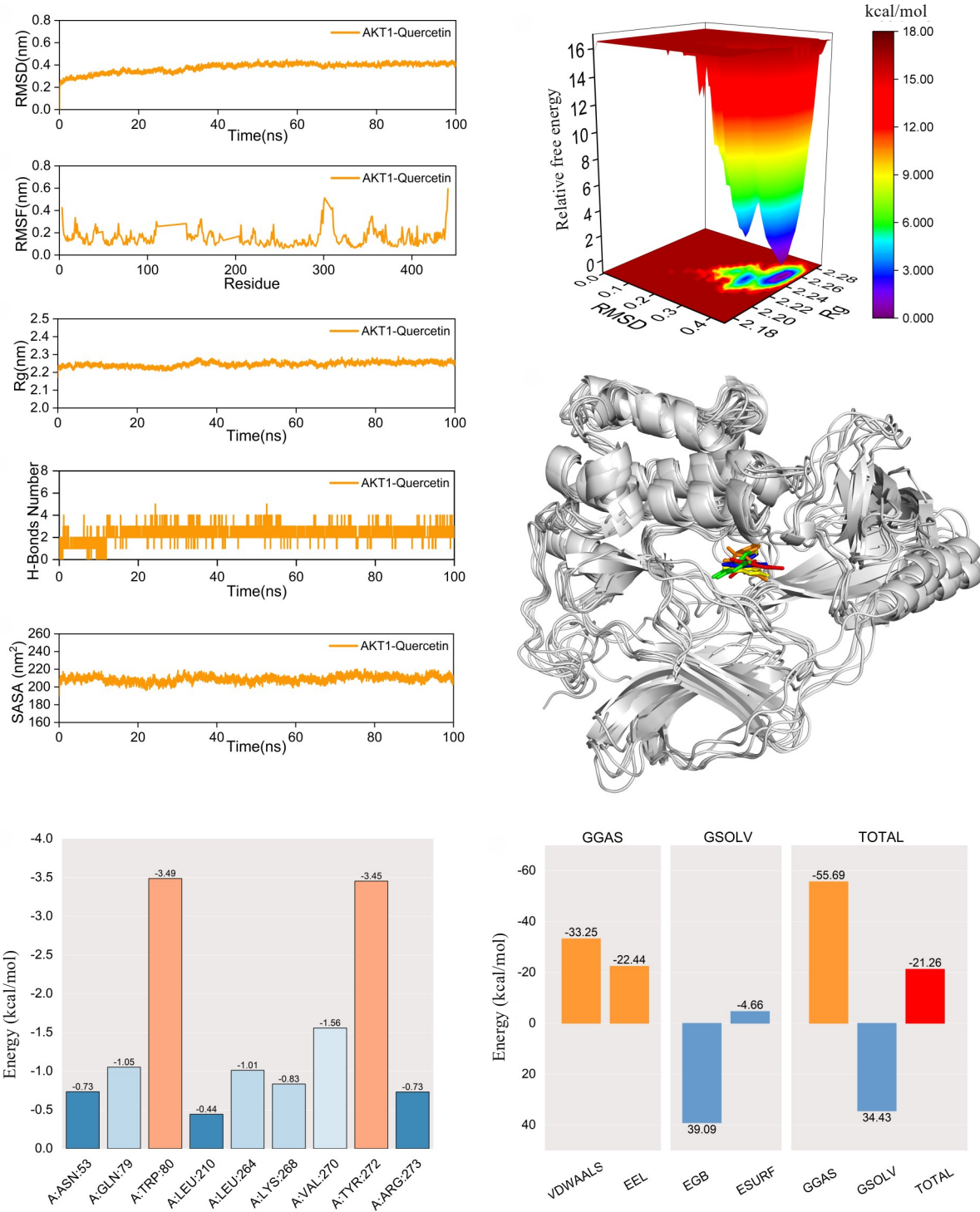


图8 分子动力学模拟结果
Fig.8 Results of molecular dynamics simulation.

2.3.5 扶正消岩颗粒对CRF相关蛋白表达的影响
Western blotting结果显示,与对照组相比,CRF模型组中小鼠腓肠肌中凋亡相关蛋白BCL-2和p-AKT1/AKT1比值下降,而促凋亡蛋白BAD表达升高,经扶正消岩颗粒治疗后,这些异常表达的蛋白水平均得到明显改善,差异有统计学意义($P < 0.05$,图13)。

3 讨论

化疗期乳腺癌CRF的中医核心病机在于脾胃亏

虚、肝肾不足、癌毒与药毒搏结,导致气血生化乏源,筋脉失养,治宜扶正补虚、祛瘀解毒^[23]。扶正消岩颗粒正是基于此理论组方,方中扶正类药党参、白术、茯苓、当归、白芍补后天之本以健脾胃;枸杞子、山茱萸、女贞子滋先天之精以益心肾,气血生则神疲乏力减,水火济则心悸失眠消;祛邪类药半夏、陈皮辛开苦降,莪术、半枝莲逐瘀解毒,降逆以止呕,通络解晕眩,全方亦补亦攻,契合正虚毒瘀之病机。研究发现扶正祛邪理论指导下联合化疗治疗脾虚瘀毒型胃癌术后癌因性疲乏疗效肯

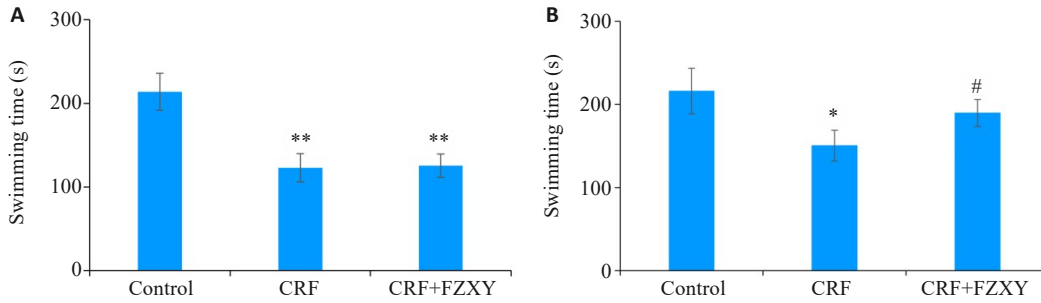


图9 各组小鼠强迫游泳实验比较

Fig.9 Performance of the mice in forced swimming test in different groups. **A:** After successful model establishment; **B:** After FZXY intervention. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ vs CRF group.

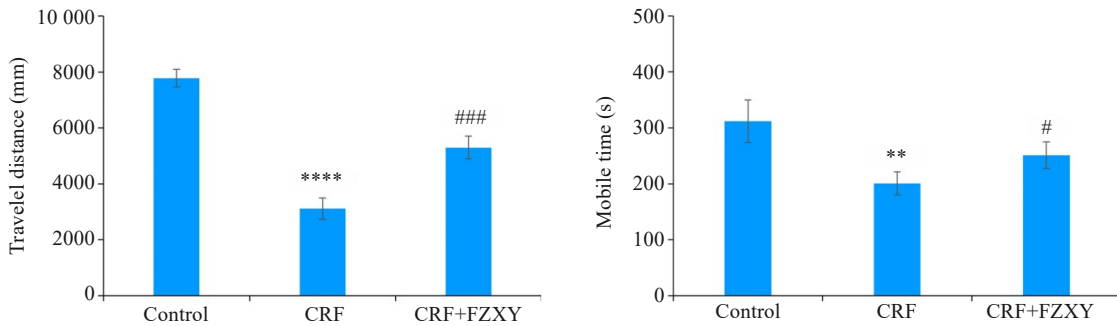


图10 各组小鼠旷场实验、悬尾实验比较

Fig.10 Comparison of open field test and tail suspension test of mice in different groups. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ vs Control group; # $P<0.05$, ## $P<0.001$ vs CRF group.

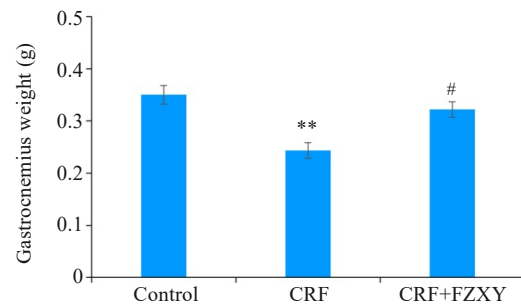
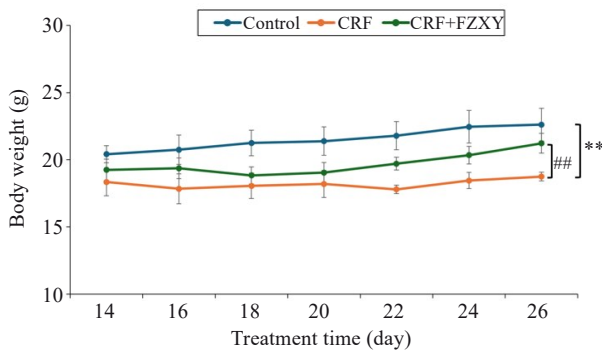
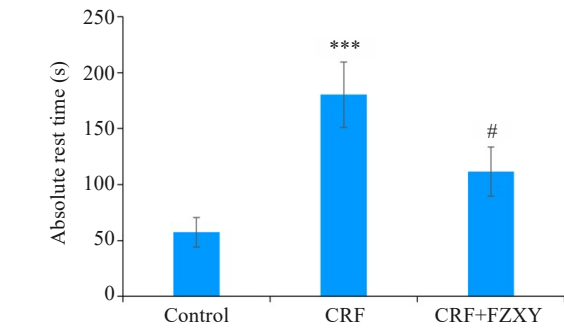


图11 各组小鼠体质量、腓肠肌质量比较

Fig.11 Comparison of body weight and gastrocnemius muscle weight of the mice among the 3 groups. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ vs CRF group. Day 1 is defined as the day of doxorubicin injection.

定^[24]。本研究发现,扶正消岩颗粒在改善患者中医症候的同时,能显著降低疲乏评分,临床疗效明显。随着临床样本量采集的不断充实,在后续的研究中,拟将同一化疗方案的病例进行研究,深入探索扶正消岩颗粒对不同疾病分型或不同治疗方案影响下的CRF的治疗效果。

CRF的发病机制较为复杂,目前尚未完全明确,可

能涉及中枢性和外周性两种机制:中枢性机制包括细胞因子紊乱、下丘脑-垂体-肾上腺轴功能异常等;外周性机制则与肌肉正常生理功能受损相关^[25]。为进一步探讨扶正消岩颗粒的潜在治疗机制,本研究通过网络药理学获得其对乳腺癌CRF的可能核心靶点:AKT1、EGFR、IL1 β 、IL6、TP53,通过构建“成分-靶点-疾病网络

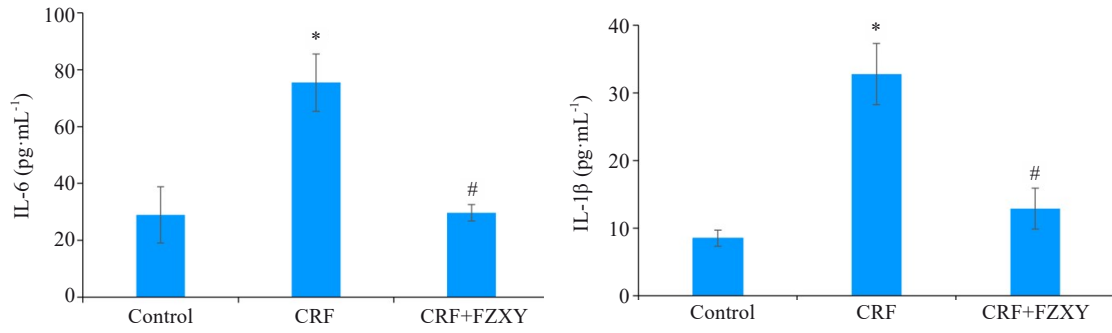


图12 各组血清IL-6、IL-1 β 水平比较

Fig.12 Comparison of serum IL-6 and IL-1 β levels among 3 groups. * P <0.05 vs Control group, # P <0.05 vs CRF group.

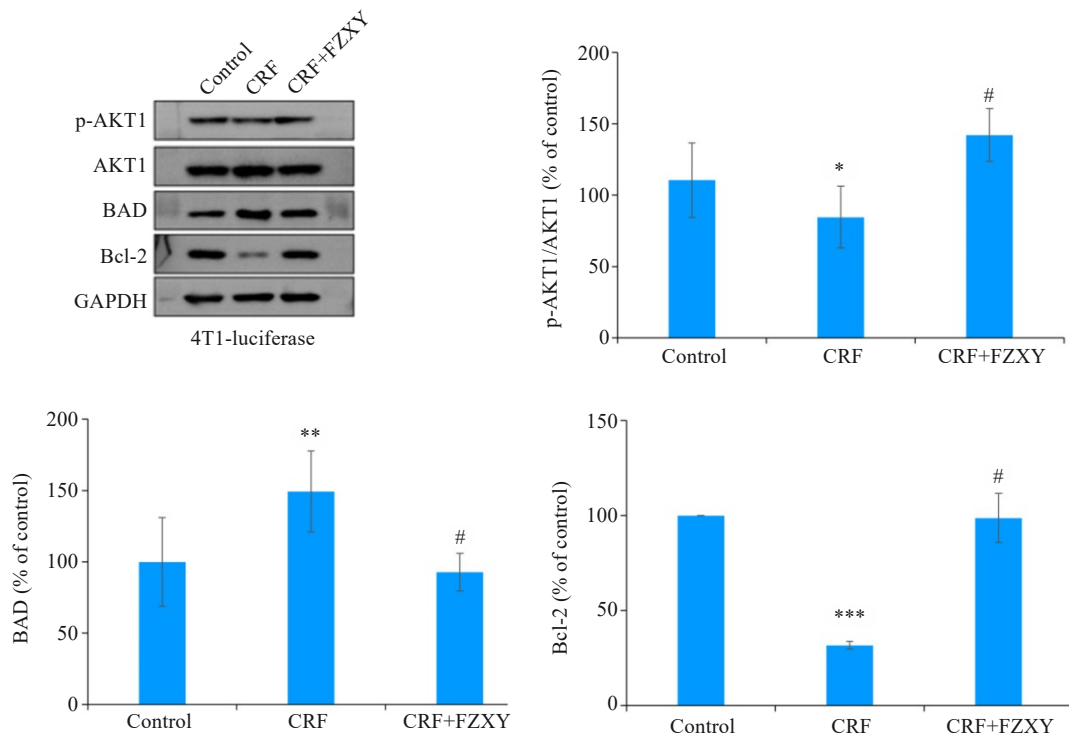


图13 各组腓肠肌蛋白表达水平比较

Fig.13 Comparison of protein expression levels in the gastrocnemius muscles of the mice among the 3 groups. * P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001 vs Control group; # P <0.05 vs CRF group.

图”发现发挥作用的主要单体为槲皮素,进一步使用分子对接和动力学模拟方法证实了槲皮素与AKT1存在较高的结合力。研究表明,槲皮素可以通过小鼠HPA轴和MCP-1信号传导下调相关的机制来减弱顺铂诱导的CRF^[26]。有研究发现,槲皮素可能通过AKT1调节肾细胞炎症因子和RAF/MEK/ERK信号通路,促进肾功能恢复,从而减轻阿霉素诱导的小鼠肾损伤^[27]。由此可见,槲皮素具有修复化疗后引起的组织损伤的潜力,在后续的研究中,将基于二者间的结合位点对槲皮素干预AKT1改善CRF的机制进行更加深入的研究。

结合上述靶点及GO和KEGG富集分析结果,本文将研究目标进一步聚焦于凋亡通路及细胞因子,故检测小鼠腓肠肌中凋亡相关蛋白p-AKT1、AKT1、BCL-2、

BAD表达及血清IL-6、IL-1 β 的水平。研究表明,细胞凋亡是骨骼肌损伤的关键机制,中医药可以通过调节PI3K/AKT信号通路抑制骨骼肌细胞凋亡^[28]。AKT1(蛋白激酶B1)是PI3K-AKT信号通路的核心分子,作为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,其主要生物学功能为调控细胞存活与凋亡,p-AKT1在肌肉生长受阻的小鼠模型中的表达水平呈现明显下调^[29]。中药单体姜黄素可以通过调节小鼠PI3K/AKT/AMPK/mTOR通路减轻运动疲劳,其中姜黄素可以增加疲劳小鼠模型股四头肌中AKT蛋白的表达^[30]。这与本研究结果相似,模型小鼠相较于健康小鼠中腓肠肌p-AKT1蛋白表达水平降低,而扶正消岩颗粒可以改善其低表达情况。BCL-2家族作为调控细胞凋亡的关键蛋白家族,包含抗凋亡和促凋亡

两类成员,共同维持细胞生死平衡。其中,BCL-2属于抗凋亡蛋白,而BAD则是促凋亡蛋白^[31]。PI3K/AKT信号通路的激活可抑制BAD的释放,促进BCL-2的表达。金银花浆果多酚提取物通过抑制BAX、促进BCL-2蛋白表达,提高BCL-2/BAX比值,减少骨骼肌细胞凋亡和增加细胞增殖来缓解小鼠的运动疲劳^[32]。BAD和BAX均是BCL-2家族中的促凋亡蛋白,在细胞凋亡中发挥协同作用。与本研究相似,相较于对照组,模型组小鼠骨骼肌BCL-2表达下降,而经扶正消岩颗粒治疗可以改善BCL-2的表达下降,BAD相较于健康对照组在模型组的表达升高,在扶正消岩治疗组表达降低。另有研究显示阿霉素可通过干扰胰岛素信号通路,抑制AKT(蛋白激酶B)的激活,进而减少骨骼肌蛋白质合成,最终导致骨骼肌萎缩^[33]。本研究采用荷瘤加阿霉素诱发的乳腺癌CRF小鼠模型,结合力竭游泳、旷场、悬尾实验等行为学研究及比较各组小鼠体质量及腓肠肌重量变化,发现扶正消岩治疗组可以逆转模型组的疲乏状态,增加小鼠体质量及腓肠肌重量,说明扶正消岩颗粒可改善因阿霉素诱导的骨骼肌萎缩,其作用机制可能是通过改善骨骼肌凋亡通路实现的。研究证实,肿瘤病变及化疗所致的组织损伤均可能激活促炎细胞因子网络,促使炎症介质释放,进而诱发或加剧中枢性疲乏症状^[34-36]。本研究血清检测发现相较模型组,扶正消岩治疗组可显著降低细胞因子IL-6、IL-1 β 水平,提示扶正消岩颗粒既可以降低细胞因子改善CRF小鼠中枢性疲乏,又可以扭转CRF小鼠骨骼肌细胞凋亡状态改善外周性疲乏。相较于既往CRF研究细胞因子调控、骨骼肌线粒体功能改善及免疫调节^[37-39],本研究首次提出扶正消岩颗粒通过靶向骨骼肌凋亡通路AKT1/BAD/BCL-2轴改善外周性疲乏。

综上所述,本研究采用临床样本分析、网络药理学、分子对接、分子动力学模拟及动物实验初步证明扶正消岩颗粒可显著改善乳腺癌患者的CRF症状,优化中医证候表现并提高生活质量水平,并深入挖掘了扶正消岩颗粒治疗乳腺癌CRF的复杂网络关系,探索了主要成分槲皮素与核心靶点AKT1的分子动力学结合情况;在乳腺癌CRF小鼠模型中,该药物能明显改善行为学指标,其作用机制可能通过介导AKT1/BAD/BCL-2信号通路进而抑制外周性疲乏相关的骨骼肌细胞凋亡,同时降低中枢性疲乏相关细胞因子IL-6、IL-1 β 的水平而发挥综合疗效。

Declaration of interests: The authors declare no competing interests.

参考文献:

[1] Mock V, Atkinson A, Barsevick A, et al. NCCN practice guidelines for cancer-related fatigue[J]. Oncology: Williston Park, 2000, 14

(11a): 151-61.

- [2] 曹玉瑶,宋祎,陈凤敏,等. 有氧运动对乳腺癌化疗患者癌因性疲乏的影响及相关机制[J]. 天津医药, 2016, 44(4): 401-4.
- [3] 谢晓冬,张潇宇. 癌因性疲乏最新进展—NCCN(2018版)癌因性疲乏指南解读[J]. 中国肿瘤临床, 2018, 45(16): 817-20.
- [4] Groenvold M, Petersen MA, Idler E, et al. Psychological distress and fatigue predicted recurrence and survival in primary breast cancer patients[J]. Breast Cancer Res Treat, 2007, 105(2): 209-19.
- [5] Fabi A, Bhargava R, Fatigoni S, et al. Cancer-related fatigue: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis and treatment[J]. Ann Oncol, 2020, 31(6): 713-23.
- [6] 李泽龙,鲁凯. 八珍汤联合靶向治疗HER-2阳性乳腺癌气虚证的效果观察[J]. 实用中西医结合临床, 2025, 25(12): 28-30, 34.
- [7] 杨书贤,洪禹,曹丽娟. 癌因性疲乏发病机制及中医药干预研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2025, 41(06): 838-46.
- [8] 莫文菊,黄孝闻,叶魏武,等. 去壁灵芝孢子粉改善乳腺癌患者辅助化疗期间癌因性疲乏研究[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(14): 1921-8.
- [9] 王子承,王海波,王颖,等.《中成药治疗优势病种临床应用指南》标准化项目组. 中成药治疗癌因性疲乏临床应用指南(2020年)[J]. 中国中西医结合杂志, 2021, 41(5): 534-41.
- [10] “虚劳干血”理论指导下复元活血汤合大黄酒丸对乳腺癌癌因性疲乏的干预效果研究[J]. 中华中医药学刊, 2025, 43(02): 84-7.
- [11] 陈静,樊锐锋,李威,等. 扶正消岩汤抑制三阴性乳腺癌细胞增殖的机制研究[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(02): 302-5.
- [12] 王钢,陈静,孔祥定,等. 扶正消岩汤对气阴两虚型乳腺癌术后化疗患者生存质量的改善作用观察[J]. 中国中医药科技, 2022, 29(06): 1011-3.
- [13] 冯月男,孙思邈,孔祥定,等. 扶正消岩汤对乳腺癌肿瘤微环境调控机制的研究[J]. 中医药学报, 2021, 49(12): 52-6.
- [14] 中国临床肿瘤学会指南工作委员会. 中国临床肿瘤学会(CSCO)乳腺癌诊疗指南-2022[M]. 北京:人民卫生出版社, 2022.
- [15] Portenoy RK, Itri LM. Cancer-related fatigue: guidelines for evaluation and management[J]. Oncologist, 1999, 4(1): 1-10.
- [16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典—部: 2020年版[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [17] 中国抗癌协会癌症康复与姑息治疗专业委员会, 中国临床肿瘤学会肿瘤支持与康复治疗专家委员会. 癌症相关性疲乏诊断与治疗中国专家共识[J]. 中华医学杂志, 2022, 102(3): 10.
- [18] Sprangers MA, Cull A, Groenvold M, et al. The European Organization for Research and Treatment of Cancer approach to developing questionnaire modules: an update and overview. EORTC Quality of Life Study Group[J]. Qual Life Res, 1998, 7(4): 291-300.
- [19] 金铭,谢露露,毛妮,等. 癌因性疲乏动物模型的研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(07): 738-42.
- [20] Zombeck JA, Fey EG, Lyng GD, et al. A clinically translatable mouse model for chemotherapy-related fatigue[J]. Comp Med, 2013, 63(6): 491-7.
- [21] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1560-8.
- [22] Wang Y, Liu Y, Zhang Y, et al. Effects of the polysaccharides extracted from Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) on cancer-related fatigue in mice[J]. Food Funct, 2021, 12(21): 10602-14.
- [23] 吴人杰,谢长生. 癌因性疲乏发病机制及治疗的研究进展[J]. 肿瘤学杂志, 2020, 26(3): 240-4.

- [24] 沈志祥,陆为民,石川,等. 徐氏参芪苡术汤联合化疗治疗胃癌术后癌因性疲乏脾虚瘀毒型的临床观察及机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31 (08): 143-51.
- [25] Mohandas H, Jaganathan SK, Mani MP, et al. Cancer-related fatigue treatment: an overview [J]. J Cancer Res Ther, 2017, 13(6): 916-29.
- [26] Chuang CH, Tai YA, Wu TJ, et al. Quercetin attenuates cisplatin-induced fatigue through mechanisms associated with the regulation of the HPA axis and MCP-1 signaling [J]. Front Nutr, 2025, 12: 1530132.
- [27] Wang YF, Liu MF, Huang N, et al. Quercetin-targeted AKT1 regulates the Raf/MEK/ERK signaling pathway to protect against doxorubicin-induced nephropathy in mice [J]. Tissue Cell, 2023, 85: 102229.
- [28] 陈言,代婷,郭长胜,等. 基于PI3K/Akt信号通路探讨中医药治疗肌肉减少症的研究进展 [J/OL]. 中国实验方剂学杂志, 1-19 [2025-06-12].
- [29] Regué L, Ji F, Flicker D, et al. IMP2 increases mouse skeletal muscle mass and voluntary activity by enhancing autocrine insulin-like growth factor 2 production and optimizing muscle metabolism [J]. Mol Cell Biol, 2019, 39(7): e00528-18.
- [30] Hu M, Han M, Zhang H, et al. Curcumin (CUMINUP60®) mitigates exercise fatigue through regulating PI3K/Akt/AMPK/mTOR pathway in mice [J]. Aging: Albany NY, 2023, 15(6): 2308-20.
- [31] Chao DT, Korsmeyer SJ. BCL-2 family: regulators of cell death [J]. Annu Rev Immunol, 1998, 16: 395-419.
- [32] Liu S, Meng F, Zhang D, et al. *Lonicera caerulea* berry polyphenols extract alleviates exercise fatigue in mice by reducing oxidative stress, inflammation, skeletal muscle cell apoptosis, and by increasing cell proliferation [J]. Front Nutr, 2022, 9: 853225.
- [33] Hiensch AE, Bolam KA, Mijwel S, et al. Doxorubicin-induced skeletal muscle atrophy: Elucidating the underlying molecular pathways [J]. Acta Physiol: Oxf, 2020, 229(2): e13400.
- [34] Cruz FM, Munhoz BA, Alves BC, et al. Biomarkers of fatigue related to adjuvant chemotherapy for breast cancer: evaluation of plasma and lymphocyte expression [J]. Clin Transl Med, 2015, 4: 4.
- [35] Wang XS, Williams LA, Krishnan S, et al. Serum sTNF-R1, IL-6, and the development of fatigue in patients with gastrointestinal cancer undergoing chemoradiation therapy [J]. Brain Behav Immun, 2012, 26(5): 699-705.
- [36] Bower JE, Ganz PA, Irwin MR, et al. Inflammation and behavioral symptoms after breast cancer treatment: do fatigue, depression, and sleep disturbance share a common underlying mechanism? [J]. J Clin Oncol, 2011, 29(26): 3517-22.
- [37] Guo W, Liu S, Xia H, et al. Shenqi Fuzheng injection facilitates skeletal muscle mitophagy mediated by the ubiquitination of HIF-1 α to ameliorate cancer-associated fatigue [J]. J Cell Mol Med, 2024, 28 (12): e18455.
- [38] 何晶,王林元,陈亚文,等. 基于JAK2/STAT3通路研究灵芝孢子多糖通过免疫调节改善脾虚证小鼠癌因性疲乏的机制 [J/OL]. 中国中药杂志, 2025: 1-9 [2025-06-21].
- [39] 崔艺馨,米继伟,冯宇,等. 黄芪四君子汤治疗乳腺癌因性疲乏的疗效及机制:基于94例临床随机对照实验和网络药理学 [J]. 南方医科大学学报, 2022, 42 (05): 649-57.

(编辑:林萍)