

鲍鱼肌肉蛋白对 Lewis 肺癌化疗小鼠短期营养支持作用研究

任鼎鼎¹, 郑惠娜^{1,2,3,4*}, 李晋祯¹, 曹文红^{1,2,3,4}, 林海生^{1,2,3,4}, 秦小明^{1,2,3,4}

¹ 广东海洋大学食品科技学院 广东湛江 524088

² 广东海洋大学深圳研究院 广东深圳 518108

³ 国家贝类加工技术研发分中心(湛江) 广东省水产品加工与安全重点实验室

广东省海洋生物制品工程实验室 广东湛江 524088

⁴ 海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心 大连工业大学 辽宁大连 116034)

摘要 目的:探讨鲍鱼肌肉蛋白对化疗肿瘤小鼠营养状况的影响。方法:构建 Lewis 肺癌化疗小鼠模型,给予鲍鱼肌肉蛋白作为营养支持,以体质量、肿瘤体积、脏器指数(脾脏指数和胸腺指数)以及血清中蛋白因子水平【白蛋白(ALB)、前白蛋白(PA)、血红蛋白(Hb)]为指标,对比饲喂蛋白前、后相关指标的变化。结果:小鼠皮下注射 Lewis 肺癌细胞 7 d 后有明显肿块;生存状况显示化疗质量浓度为 0.02 mg/mL 和 0.04 mg/mL 的小鼠无死亡率,考虑生存周期选用 0.02 mg/mL 为最适化疗药物浓度。在营养支持过程中中剂量组的肿瘤体积明显减小,抑癌率达 20.7%。与空白组(NT)对比,高剂量组可以提高化疗小鼠的脾脏指数和胸腺指数($P>0.05$)。营养指标显示,与空白组(NT)对比,对化疗小鼠进行营养支持后,各组的 ALB、PA 水平均有明显升高,且低剂量组的 PA 水平显著升高($P<0.05$),Hb 水平明显降低($P<0.05$)。结论:鲍鱼肌肉蛋白对化疗肿瘤小鼠营养状况具有一定的改善作用。

关键词 鲍鱼肌肉蛋白; 营养支持; 肺癌模型; 化疗

文章编号 1009-7848(2022)11-0155-10 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2022.11.017

营养不良对癌症患者有很强的负面影响,容易导致机体状态和生活质量下降,从而提高感染疾病以及增加死亡的风险,延长住院时间^[1]。因此,营养支持对患者的生存和发展起着重要的作用^[2]。有研究表明,在癌症模型中,补充牛肉提取物可以通过调节能量储存和抗氧化性,改善因化学疗法引起的身体器官和体重减轻、疲劳以及毒性作用^[3]。牡蛎多糖可以有效改善 5-氟尿嘧啶(5-FU)引起的肠道黏膜损伤以及营养不良,纠正荷瘤小鼠的蛋白代谢,改善人体能量消耗以及化疗患者的身体状况^[4],同时,营养支持对化疗后临床患者也具有重要的作用。Zhang 等^[5]研究显示增加蛋白质的摄入以及免疫营养物质可减少患者术后并发症及缩短住院时间。Lin 等^[6]研究表明及时给予营养支

持可以维持化疗患者的体重,并提高化疗效果。Mele 等^[7]研究显示,改善患者营养状况可以减少术后并发症和住院时间,从而降低患者及医院成本。由此,可以看出,在肿瘤患者化疗过程中,适当的营养支持可以改善肿瘤患者的营养状况,缩短机体恢复时间。

皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*),又称“腹鱼”,是软体动物门单壳贝类的一种。我国鲍鱼产量极为丰富,2020 年,中国的鲍鱼养殖产量为 203 485 t,比 2019 年增长 12.88%^[8]。鲍鱼蛋白质含量高达 19.89%,脂肪含量为 0.13%,氨基酸种类较为丰富(17 种)且含量较高(最高达 18.12 g/100 g),8 种必需氨基酸含量可达 5.08 g/100 g,同时还含有棕榈酸、EPA、DHA、维生素以及微量元素等,具有较高的营养价值^[9]。鲍鱼肉质嫩滑、味道鲜美,深受广大消费者喜爱^[10]。

本研究通过构建 Lewis 肺癌化疗小鼠模型,以鲍鱼肌肉全蛋白为原料对化疗后肺癌小鼠进行营养支持,为开发肿瘤患者营养支持相关特医食品提供理论基础数据。

收稿日期: 2021-11-29

基金项目: 广东省现代农业产业技术体系创新团队项目(2021KJ146);现代农业产业技术体系专项资金资助(CARS-49);国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”重点专项(2020YFD091102)

第一作者: 任鼎鼎,女,研究生

通信作者: 郑惠娜 E-mail: zhenghn@gdou.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料 皱纹盘鲍 11~12月购自湛江市霞山区东风批发市场,规格70g左右;将新鲜鲍鱼去除壳和内脏,清洗打浆,打浆后在-45℃下冷冻干燥,保存备用。

1.1.2 试剂 顺铂(抗肿瘤药物),中国山东齐鲁制药有限公司;磷酸缓冲盐溶液(PBS)、南美胎牛血清、DMEM培养基、青霉素-链霉素双抗、胰蛋白酶,购自美国Gibco公司;血红蛋白(Hemoglobin, Hb)试剂盒、白蛋白(Albumin, ALB)试剂盒,购自南京建成生物工程研究所;前白蛋白(Prealbumin, PA)Elisa试剂盒,购自江苏酶免实业有限公司;生理盐水、医用酒精,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

CKX41型倒置显微镜,日本Olympus公司;MCO-175 CO₂培养箱,三洋(日本)公司;SW-CJ-2FD型双人超级操作台,苏州净化设备有限公司;DM2000LED型显微镜,德国Leica公司;Cary60UV-Vis紫外-可见分光光度计,美国Agilent Technologies公司;Varioskan Flash多功能酶标仪,美国Thermo Fisher Scientific公司;Microfuge 22R Centrifuge型低温高速离心机,美国Beckman Coulter公司;Countstar IC1000全自动细胞计数仪,北京众力挽生物科技有限公司;数显恒温水浴锅,常州国华电器有限公司;立式压力灭菌锅,上海博讯医疗生物仪器股份有限公司;艾瑞泽电子游标卡尺,青岛易购五金工具有限公司;JYL-CO12九阳料理机,山东九阳股份有限公司;Eyela FD-5N真空冷冻干燥机,日本Tokyo Rikakikai有限公司

1.3 方法

1.3.1 实验动物及细胞 C57BL/6雌性小鼠,6周龄,体质量为(20±2)g,由济南鹏悦试验动物繁育有限公司提供,小鼠全部在无特定病原体(Specific pathogen free, SPF)级环境中分笼饲养,适应性喂养1周后进行正式实验,动物房12h明暗循环,温度为(22±1)℃,湿度为60%~70%,整个实验过程中小鼠自由饮食饮水。实验动物生产许可证号:SCXK(鲁)2019-0003,实验动物使用许可证编号:SYXK(粤)2019-0204(广东海洋大学SPF级动物

实验室)。

Lewis肺癌细胞(LLC)购自中国科学院上海生命科学院细胞资源中心。将购买的细胞拆掉包装,培养瓶放置于37℃的CO₂培养箱,静置1~2h,镜下观察,同时进行拍照。待细胞稳定且生长状态较好便可进行传代。

1.3.2 Lewis肺癌化疗小鼠模型的建立 取生长状态良好的Lewis肺癌细胞(LLC),用PBS将细胞密度调为1×10⁷个/mL,右腋下(每只小鼠0.1mL)进行注射接种^[11]。建立模型后,用不同质量浓度(0.02,0.04,0.06,0.08,0.10,0.20mg/mL)顺铂进行注射,以生长指标(体质量、肿瘤体积、抑瘤率、免疫器官)和营养指标(血清ALB、PA、Hb水平)为依据,优选最佳化疗质量浓度,建立化疗小鼠模型。

1.3.3 Lewis肺癌化疗小鼠营养支持分组 参考文献[12]的方法进行一定修改,将成功建模的小鼠随机分组,每组12只。对小鼠进行连续12d的营养支持。实验分组:空白对照组(NT)灌胃生理盐水;鲍鱼肌肉全蛋白粉低、中、高剂量组(AMPP-LD、AMPP-MD、AMPP-HD,分别灌胃AMPP 15, 30, 60g/kg;阳性瑞能组(PC-RN)根据产能比计算得到灌胃质量浓度为0.585g/mL;阳性乳清蛋白组(PC-RQ),灌胃质量浓度为0.585g/mL。所有组分每只小鼠每天灌胃剂量为0.2mL。

1.3.4 AMPP对Lewis肺癌化疗小鼠营养支持后一般情况观察及存活率 观察接种Lewis肺癌细胞后的小鼠精神状态、体质量变化、进食情况以及体表特征,记录每组小鼠的存活数量并计算存活率。

$$\text{存活率}(\%) = \frac{\text{存活数量}}{\text{总体数量}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.5 Lewis肺癌化疗小鼠营养支持后体质量、有效体质量、体质量变化及有效体质量变化 采用电子天平对肺癌化疗小鼠进行体质量监测,对处死后小鼠的体质量和瘤体质量进行测定并记录。

$$\text{体质量变化}(\text{g}) = \text{处死时的体质量} - \text{营养支持时的体质量} \quad (2)$$

$$\text{有效体质量}(\text{g}) = \text{处死时的体质量} - \text{瘤体质量} \quad (3)$$

$$\text{有效体质量变化}(\text{g}) = \text{处死时的体质量} - \text{瘤体}$$

质量-营养支持时的体质量 (4)

1.3.6 Lewis 肺癌化疗小鼠营养支持后肿瘤体积、瘤体质量及抑瘤率的变化

1.3.6.1 肿瘤体积的变化 用游标卡尺对小鼠肿瘤的最大长径和最小短径进行测量(2 d 一次),并绘制肿瘤生长曲线。

$$\text{肿瘤体积}(\text{mm}^3)=\frac{\text{肿瘤长径}\times\text{肿瘤短径}^2}{2} \quad (5)$$

1.3.6.2 瘤体质量及抑瘤率的变化 眼球取血后处死小鼠,从小鼠身上完全剥离瘤体,用电子天平对其精确称量,记录瘤体质量。

$$\text{抑瘤率}(\%)=\frac{\text{对照组平均瘤体质量}-\text{各治疗组平均瘤体质量}}{\text{对照组平均瘤体质量}}\times 100 \quad (6)$$

1.3.7 Lewis 肺癌化疗小鼠营养支持后脏器指数的变化 眼球取血后处死小鼠,进行解剖,取出脾脏和胸腺,对其进行称量后计算脏器指数。

$$\text{脾脏指数}(\%)=\frac{\text{脾脏质量}}{\text{小鼠体质量}}\times 100 \quad (7)$$

$$\text{胸腺指数}(\%)=\frac{\text{胸腺质量}}{\text{小鼠体质量}}\times 100 \quad (8)$$

1.3.8 Lewis 肺癌化疗小鼠营养支持后营养指标的测定

1.3.8.1 血清处理 末次营养支持 24 h 后,进行眼球取血并脱颈处死。将血液样本放置于离心管中,室温静置 4 h 后 3 000 r/min 离心 5 min,取上清液分装于离心管中,置于-80 °C 冰箱中备用。

1.3.8.2 血清 ALB 含量的测定 参考试剂盒说明书,ALB 用溴甲酚绿法测定。设置空白孔(即加入 2.5 μL 的蒸馏水)、标准孔(即加入 2.5 μL 的标准液)、测定孔(即加入 2.5 μL 的样本),之后在每个孔中加入 250 μL 的试剂一应用液。轻轻振荡混

匀,室温静置 10 min,在波长 630 nm 处用酶标仪测量,ALB 含量按式(9)进行计算。

$$\text{白蛋白含量}(\text{g/L})=\frac{\text{测定 OD 值}-\text{空白 OD 值}}{\text{标准 OD 值}-\text{空白 OD 值}}\times \text{标准品质量浓度} \quad (9)$$

1.3.8.3 血清 PA 含量的测定 根据试剂盒在波长 450 nm 处测定标准曲线及样品活性;其中标准曲线回归方程为 $y=0.005x+0.1244$, $R^2=0.994$ 。

1.3.8.4 血清 Hb 含量的测定 浓缩储备试剂用蒸馏水 1:99 稀释,配成 Hb 稀释液应用液(即 1 mL 加蒸馏水至 100 mL),充分混匀,4 °C 保存。设置空白管(加入蒸馏水 0.01 mL)和测定管(待测样本 0.01 mL),之后在每孔加入 2.5 mL 的 Hb 稀释液应用液,充分混匀,静置 5 min,在波长 540 nm 处测定吸光度值。血清 Hb 含量按式(10)计算。

$$\text{血红蛋白含量}(\text{g/L})=(\text{测定 OD 值}-\text{空白 OD 值})\times 367.7 \quad (10)$$

1.3.9 数据处理 采用 SPSS 24.0 进行显著性差异($P<0.05$)分析,两组数据之间采用独立样本 t 检验进行显著性差异($P<0.05$);实验数据采用 Origin 2018 进行作图,数据表示为($\bar{x}\pm s$),多样本比较采用单因素方差分析法(ANOVA)分析。

2 结果与分析

2.1 顺铂化疗质量浓度筛选

2.1.1 Lewis 肺癌小鼠模型的建立 在雌性 C57BL/6 小鼠右腋下注射 Lewis 肿瘤细胞,小鼠生长状态良好,无不良反应。5 d 后可以触摸到绿豆大小的肿块;接种 7 d 后,接种部位可明显看到肿瘤组织。形态大多呈椭圆形或圆形,大小不一,小鼠成模率为 100%。

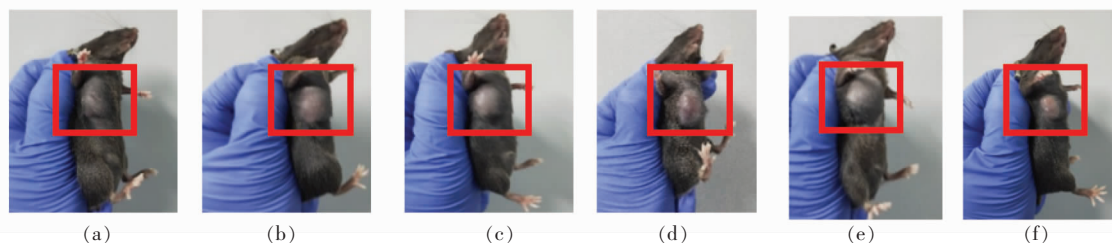


图 1 Lewis 肺癌小鼠实体瘤模型的构建

Fig.1 The construction of a solid tumor model of Lewis lung cancer mouse

2.1.2 不同化疗质量浓度对肺癌小鼠存活率的影响 表 1 显示了不同化疗质量浓度下 Lewis 肺癌

小鼠的存活情况,与对照组对比,化疗质量浓度为 0.02 mg/mL 和 0.04 mg/mL 的肿瘤小鼠无死亡现

象,存活时间最长,而其它化疗质量浓度的肿瘤小鼠在化疗结束后均有不同程度的死亡,0.06 mg/mL 化疗后的肿瘤小鼠的存活率为 37.5%,0.08,0.10 mg/mL 以及 0.20 mg/mL 化疗后的肿瘤小鼠在化疗第 6 天全部死亡。有研究表明,化疗浓度较高时会增加肾脏毒性风险,从而影响小鼠的发病率和死

亡率^[3]。本研究结果显示顺铂不仅影响 Lewis 肺癌小鼠的存活率,且具有剂量依赖性。在实验过程中发现化疗浓度为 0.02 mg/mL 的肿瘤小鼠生命特征优于 0.04 mg/mL 的小鼠。因此,选用 0.02 mg/mL 作为最佳化疗质量浓度。

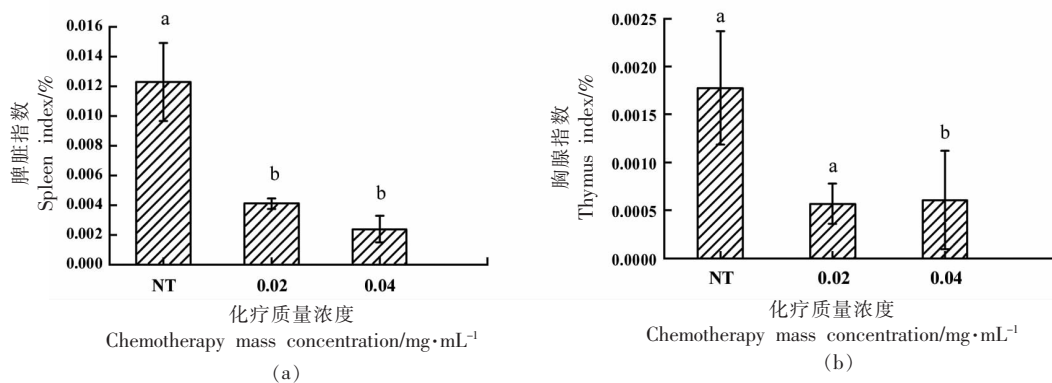
表 1 不同化疗质量浓度 Lewis 肺癌小鼠存活率($n=8$)

Table 1 Survival rate of Lewis lung cancer mice with different chemotherapy mass concentrations ($n=8$)

时间/d	对照组	化疗质量浓度/mg·mL ⁻¹					
		0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.20
1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
2	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
存活率/%	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
5	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	37.50	50.00
6	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	0.00	0.00
7	100.00	100.00	100.00	37.50	0.00	0.00	0.00

2.1.3 不同化疗质量浓度对肺癌小鼠免疫器官的影响 脾脏和胸腺是最重要的免疫器官,在一定程度上不仅可以反映机体免疫功能的强、弱还可以反映营养物质的吸收情况^[14]。由图 2 所示,与 NT 组相比,0.02 mg/mL 和 0.04 mg/mL 顺铂化疗后小鼠的脏器指数均明显降低($P<0.05$),且具有剂

量依赖性。本实验结果表明,顺铂对 Lewis 肺癌小鼠的免疫器官有一定的损伤作用,明显降低了免疫器官的质量^[15]。然而,0.02 mg/mL 和 0.04 mg/mL 化疗后的免疫器官结果显示没有显著性差异($P>0.05$)。



注:不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下同。

图 2 顺铂对 Lewis 肺癌小鼠免疫器官的影响

Fig.2 The effect of cisplatin on the immune organs of Lewis lung cancer mice

2.1.4 不同化疗质量浓度对 Lewis 肺癌小鼠营养指标的影响 ALB 是营养代谢的敏感性指标,营养状态与机体的免疫功能有着密不可分的联系^[16]。由图 3 可以看出,与 NT 组对比,0.02 mg/mL 和 0.04 mg/mL 化疗处理的肺癌小鼠血清 ALB 含量

虽降低,但无显著性差异($P>0.05$),可能是因为肿瘤小鼠在化疗后出现营养不良,从而导致 ALB 表达量降低,与蒋妍等^[17]的研究结果一致。

PA 由肝细胞合成,半衰期短,能更快地反映营养摄入量正或负平衡,是目前国际上评价营养

状况和监测营养支持效果的一种血清蛋白质^[18-19]。由图 3b 可以看出,0.02 mg/mL 化疗后肿瘤小鼠的血清 PA 水平略微升高且无显著性差异($P>0.05$);而 0.04 mg/mL 化疗后肿瘤小鼠的血清 PA 水平下降,且无显著性差异($P>0.05$)。机体患有肿瘤时,其血浆水平会明显下降,影响免疫功能^[20];同时,化疗药物的副作用会产生应激反应,进一步破坏免疫系统^[21]。

Hb 是机体运送氧的主要蛋白,可以反映机体代谢水平,是反映营养状态的重要指标^[22]。由图 3c 可以看出,与 NT 组相比,0.02 mg/mL 和 0.04 mg/mL 化疗后肺癌小鼠的血清血红蛋白含量不断降低,且具有显著性差异($P<0.05$)。实验中 0.02 mg/mL 化疗后小鼠的生命特征优于 0.04 mg/mL,根据实验需求,选择 0.02 mg/mL 顺铂为 Lewis 肺癌化疗小鼠的最佳化疗质量浓度。

2.2 AMPP 对 Lewis 肺癌化疗小鼠的营养支持

2.2.1 AMPP 对 Lewis 肺癌化疗小鼠的体质量、有效体质量、体质量变化及有效体质量变化的影响

体质量是肿瘤病人最常用的营养指标,蛋白质和热量摄入不足会导致肿瘤病人体重降低^[23]。由图 4 可以看出,在整个实验周期,各组小鼠体质量不断增加。进行营养支持后,与 NT 组对比,各组小鼠的体质量均低于 NT 组。

由表 2 可以看出,使用 AMPP 对 Lewis 肺癌小鼠进行营养支持后发现,处死时的各组小鼠体质量较首次营养支持时的体质量明显增加;与 NT 组相比,处死时各组小鼠体质量和小鼠有效体质量无显著性差异($P>0.05$)。与 NT 组相比,PC-RN 组小鼠的有效体质量变化有显著性差异($P<0.05$),可能是因为化疗后小鼠身体机能受到影响导致小鼠营养不良,从而表现为体质量下降。与 Grobler 等^[24]研究食物或营养补充能够增加患者的体重的结果一致。

2.2.2 AMPP 对 Lewis 肺癌化疗小鼠免疫器官的影响

脾脏和胸腺是最重要的免疫器官,在一定程度上直接反映机体免疫功能的强、弱^[25]。脏器指数不仅可以反映内脏功能强、弱还可以反映营养物质的吸收情况^[14]。如图 5 所示,与 NT 组对比,AMPP-LD、AMPP-HD 组对小鼠的脾脏指数略微升高,而 AMPP-MD 降低,且各组差异均无统计

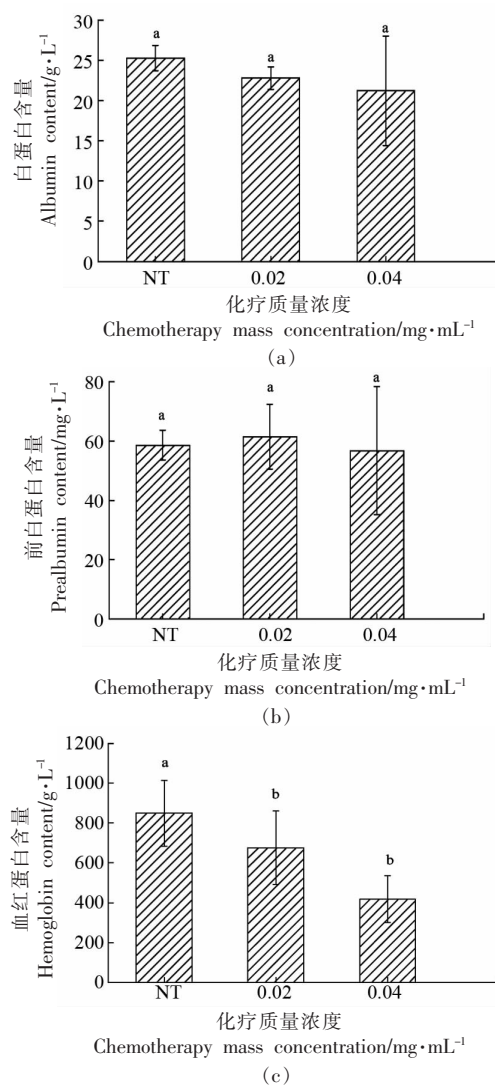


图 3 顺铂对 Lewis 肺癌小鼠营养指标的影响

Fig.3 The effect of cisplatin on nutritional indicators of Lewis lung cancer mice

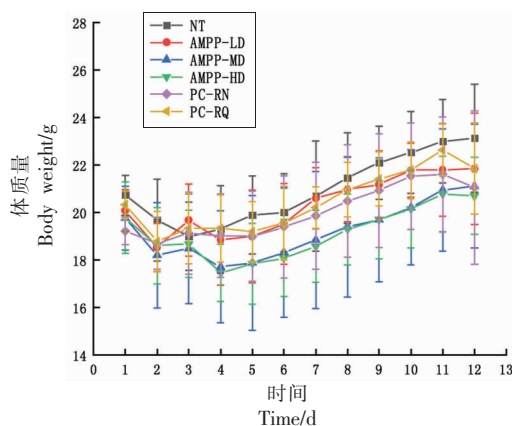


图 4 AMPP 对 Lewis 肺癌化疗小鼠体质量的影响

Fig.4 The effect of AMPP on the body weight of Lewis lung cancer chemotherapy mice

表2 AMPP对Lewis肺癌化疗小鼠体质量变化的影响(n=10)

Table 2 The effect of AMPP on the weight change of Lewis lung cancer chemotherapy mice (n=10)

组别	首次营养支持时	处死时小鼠	小鼠有效	小鼠	小鼠有效
	体质量/g	体质量/g	体质量/g	体质量变化/g	体质量变化/g
NT	18.88 ± 1.52 ^a	23.55 ± 1.53 ^a	17.13 ± 1.70 ^a	4.67 ± 0.88 ^a	-1.75 ± 2.74 ^a
AMPP-LD	19.28 ± 1.14 ^a	23.29 ± 1.90 ^a	16.64 ± 1.52 ^a	4.00 ± 0.90 ^{ab}	-2.65 ± 1.16 ^{ab}
AMPP-MD	18.60 ± 2.20 ^a	20.50 ± 3.36 ^a	15.41 ± 3.70 ^a	1.90 ± 1.58 ^b	-3.19 ± 2.49 ^{ab}
AMPP-HD	19.18 ± 1.84 ^a	21.90 ± 2.86 ^a	16.15 ± 2.30 ^a	2.72 ± 1.76 ^{ab}	-3.03 ± 2.81 ^{ab}
PC-RN	20.58 ± 1.48 ^a	23.01 ± 2.30 ^a	15.41 ± 1.25 ^a	2.43 ± 1.51 ^b	-5.17 ± 1.40 ^b
PC-RQ	19.75 ± 1.71 ^a	23.58 ± 1.98 ^a	17.38 ± 2.51 ^a	3.83 ± 2.65 ^{ab}	-2.37 ± 2.65 ^{ab}

注:同列间不同字母具有显著性差异(P<0.05),下同。

意义(P>0.05)。与NT组对比,AMPP-MD、AMPP-HD组对小鼠胸腺指数虽明显高于NT组,但无统计学意义(P>>0.05),表明AMPP对机体免疫器官的影响较小,与赵凯丽^[26]研究的结果一致,出现这

种现象的原因可能是AMPP短期内对小鼠机体免疫功能作用不明显。

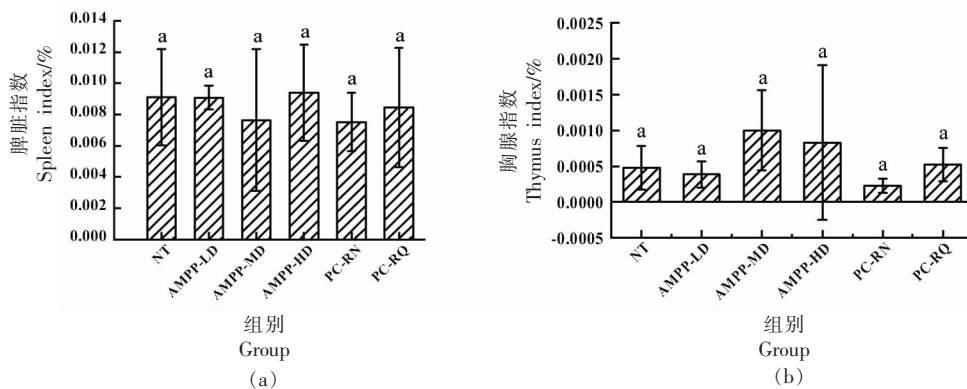


图5 AMPP对Lewis肺癌化疗小鼠免疫器官的影响

Fig.5 The effect of AMPP on the immune organs of Lewis lung cancer chemotherapy mice

2.2.3 AMPP对Lewis肺癌化疗小鼠肿瘤体积、瘤体质量以及抑瘤率的影响 由图6可以看出,与NT组相比,各组分肿瘤体积总体呈升高的趋势。从整个营养周期来看,AMPP-LD组小鼠的肿瘤体积增长最大,为5133 mm³。AMPP-HD组小鼠的肿瘤体积增长最小,为3900 mm³,与刘丹等^[27]的研究结果一致,说明在给予肿瘤小鼠营养支持后,不会促进肿瘤的生长。

由表3可知,与NT组相比,各组瘤体质量没有显著性差异(P>0.05)。AMPP-MD平均瘤重最小,为(5.09±2.16)g,抑瘤率为20.7%。PC-RN组小鼠的平均瘤重为(7.60±1.44)g,抑瘤率为-18.4%,由此说明与NT组对比,PC-RN组的瘤体质量大

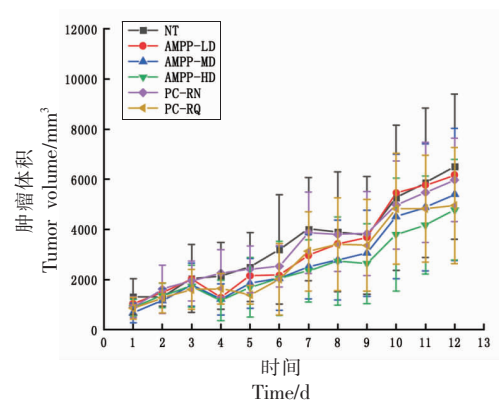


图6 AMPP对Lewis肺癌化疗小鼠肿瘤体积的影响

Fig.6 The effect of AMPP on tumor volume in Lewis lung cancer chemotherapy mice

表 3 AMPP 对 Lewis 肺癌化疗小鼠肿瘤质量和抑瘤率的影响

Table 3 Effects of AMPP on tumor weight and tumor inhibition rate in Lewis lung cancer chemotherapy mice

组别	瘤体质量/g	抑瘤率/%
NT	6.41 ± 2.96 ^a	0.0
AMPP-LD	6.65 ± 1.04 ^a	-3.6
AMPP-MD	5.09 ± 2.16 ^a	20.7
AMPP-HD	5.75 ± 2.27 ^a	10.4
PC-RN	7.60 ± 1.44 ^a	-18.4
PC-RQ	6.19 ± 2.63 ^a	3.4

于 NT 组。此结果与段明珉等^[28]的研究结果一致,出现不显著的原因可能是使用鲍鱼肌肉蛋白粉进行营养支持后会导致小鼠进食差、代谢增快而影响效果,很难在短时间内提高小鼠的免疫力。

2.2.4 AMPP 对 Lewis 肺癌化疗小鼠营养指标的影响 由图 7a 可以看出,与 NT 组相比,AMPP 不同剂量组的 ALB 高于 NT 组 ($P>0.05$),可能是因为化疗后导致蛋白合成减少,而 ALB 的半衰期较长,对其进行营养支持的时间较短,因此短期白蛋白水平的变化不明显^[29]。AMPP-MD 组的 ALB 最高说明 AMPP-MD 组对肺癌化疗小鼠 ALB 影响最大,此结果与抑瘤率呈正相关。由图 7b 可以看出,与 NT 组对比,AMPP 组 PA 明显高于 NT 组,且 AMPP-LD 具有显著性差异 ($P<0.05$),说明 AMPP 进行营养支持后改善了化疗小鼠的营养状况,这与李伟等^[30]的研究结果一致。营养支持后 PA 质量浓度迅速升高,较 ALB 更能及时地反映机体的营养状况,而 ALB 和 PA 出现不一致的原因可能是其两种蛋白的半衰期不同,对营养支持的敏感性存在差异^[31]。由图 7c 可以看出,与 NT 组对比,AMPP 组的 Hb 明显降低,且具有显著性差异 ($P<0.05$),可能是因为化疗后导致 Hb 下降,同时随着化疗周期以及质量浓度的增加,Hb 更低,表明肿瘤小鼠处于营养不良的状态,贫血可导致肿瘤组织缺氧,使肿瘤细胞的基因、蛋白质组和基因组发生变化,进而增强肿瘤的侵袭^[32]。

3 结论

本实验结果表明,顺铂化疗后的肿瘤小鼠,其

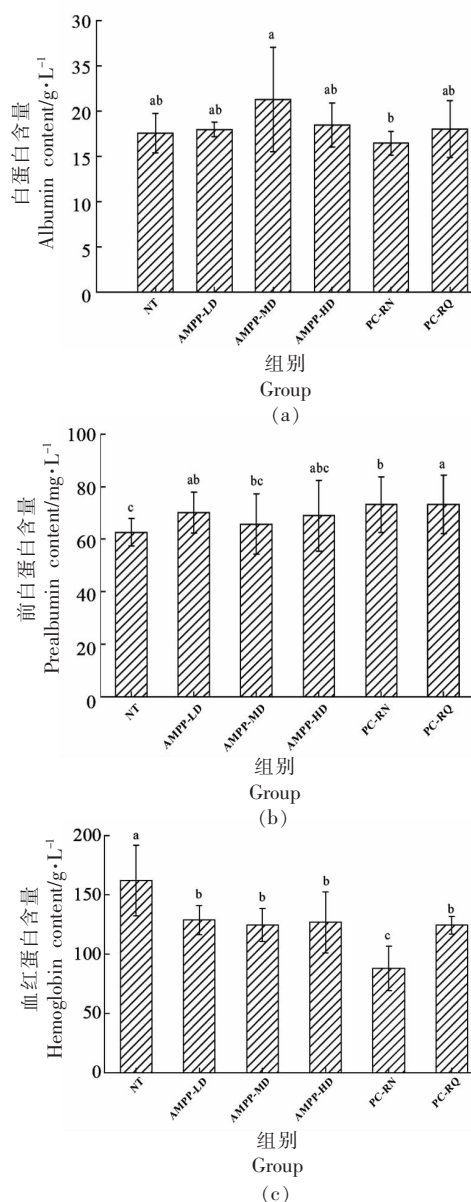


图 7 AMPP 对 Lewis 肺癌化疗小鼠营养指标的影响

Fig.7 The effects of AMPP on nutritional indicators of Lewis lung cancer chemotherapy mice

身体机能以及营养状况被明显抑制,结合小鼠身体机能的变化,确定 Lewis 肺癌小鼠的最佳化疗质量浓度为 0.02 mg/mL。使用 AMPP 进行营养支持后,可明显增加小鼠的体质量、肿瘤体积等;与 NT 组对比,各剂量组的 AMPP 均能提高化疗小鼠的血清 ALB、PA 及 Hb 水平。由此得出,AMPP 对肺癌化疗小鼠的营养状况具有明显地改善作用,由于营养状况受多种因素的影响,不同个体之间机体的消耗程度也有差异,因此采用 3 种指标,综

合考虑进行营养评估。本研究结果为开发肿瘤患者营养支持相关特医食品研究提供理论基础依据。

参 考 文 献

- [1] COTOGNI P, STRAGLIOTTO S, OSSOLA M, et al. The role of nutritional support for cancer patients in palliative care[J]. *Nutrients*, 2021, 13(2): 306.
- [2] DOCKING R I. Nutritional support in the critically ill[J]. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 2021, 22(2): 128–130.
- [3] HSU T H, HUNG S W, WU C Y, et al. Supplementation of beef extract improves chemotherapy-induced fatigue and toxic effects in mice[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 75: 104232.
- [4] CAI B, PAN J, CHEN H, et al. Oyster polysaccharides ameliorate intestinal mucositis and improve metabolism in 5-fluorouracil-treated S180 tumour-bearing mice[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 256: 117545.
- [5] ZHANG B, NAJARALI Z, RUO L, et al. Effect of perioperative nutritional supplementation on postoperative complications—systematic review and Meta-analysis[J]. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2019, 23(8): 1682–1693.
- [6] LIN J, MA Z, XIN Y, et al. Clinicopathological factors affecting the effect of neoadjuvant chemotherapy in patients with gastric cancer[J]. *World Journal of Surgical Oncolog*, 2021, 19(1): 44.
- [7] MELE M C, RINNINELLA E, CINTONI M, et al. Nutritional support in lung cancer patients: The state of the art[J]. *Clinical Lung Cancer*, 2020, 22(4), e584–e594.
- [8] 王丹, 吴反修. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 3.
WANG D, WU F X. *China fisheries statistics year-book*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2021: 3.
- [9] 刘先进, 陈胜军, 李来好, 等. 四种鲍鱼肌肉营养成分分析与品质评价[J]. *食品与发酵工业*, 2018, 44(5): 227–231.
LIU X J, CHEN S J, LI L H, et al. Nutritional analysis and quality evaluation of four kinds of abalone muscle[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2018, 44(5): 227–231.
- [10] 孙中恺, 陈李品, 刘艳青, 等. 不同产地和季节皱纹盘鲍元素组成的聚类分析[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(11): 245–252.
SUN Z K, CHEN L P, LIU Y Q, et al. Cluster analysis of elemental composition of *Haliotis discus hannai* in different origins and seasons[J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2020, 20(11): 245–252.
- [11] MAEHANA S, NAKAMURA M, OGAWA F, et al. Suppression of lymphangiogenesis by soluble vascular endothelial growth factor receptor-2 in a mouse lung cancer model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2016, 84: 660–665.
- [12] 贾方, 王秋月, 崔文静, 等. 金复康口服液对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 PD-1, PD-L1 表达及相关免疫因子的影响[J]. *陕西中医*, 2020, 41(10): 1347–1350.
JIA F, WANG Q Y, CUI W J, et al. Effect of Jinfukang oral liquid on the expression of PD-1, PD-L1 and related immune factors in tumor microenvironment of mice bearing Lewis lung carcinoma[J]. *Shaanxi Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2020, 41(10): 1347–1350.
- [13] OJIMA T, NAKAMURA M, NAKAMORI M, et al. Triplet chemotherapy with docetaxel, cisplatin and S-1 for unresectable advanced squamous cell carcinoma of the esophagus: Phase III trial results[J]. *Oncotarget*, 2012, 10: 847–855.
- [14] 王晨昱, 刘永辉, 李响, 等. D-天冬氨酸对断奶仔猪生长性能、血清生化指标和营养物质表观消化率的影响[J]. *动物营养学报*, 2021, 33(6): 3154–3164.
WANG C Y, LIU Y H, LI X, et al. Effects of D-aspartate on growth performance, serum biochemical indices and nutrient apparent digestibilities in weaned piglets[J]. *Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(6): 3154–3164.
- [15] BANERJEE S, SINHA K, CHOWDHURY S, et al. Unfolding the mechanism of cisplatin induced pathophysiology in spleen and its amelioration by carnosine[J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 279: 159–170.
- [16] WATABE Y, AOKI K, ICHIKAWA H, et al. A preoperative prognostic nutritional index is a prognostic indicator in oral squamous cell carcinoma patients undergoing radical surgery[J]. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2021, 50(11): 1413–1421.
- [17] 蒋妍, 郑凯曦, 靳玉源. 化疗饮食表对中晚期妇科恶性肿瘤患者化疗期间营养状况、化疗耐受性的影响

- [J]. 中国医刊, 2021, 56(3): 313-317.
- JIANG Y, ZHENG K X, JIN Y Y. Effects of chemotherapy diet table on nutritional status and chemotherapy tolerance of patients with advanced gynecological malignant tumors during chemotherapy [J]. Chinese Medical Journal, 2021, 56(3): 313-317.
- [18] 张片红, 毛争春. 生长激素强化肠内营养对术后蛋白质代谢的影响[J]. 营养学报, 2002, 24(3): 292-296.
- ZHANG P H, MAO Z C. Effect of growth hormone and enteral nutrition on protein metabolism in patients after cardiac operations [J]. Acta Nutrition, 2002, 24(3): 292-296.
- [19] SAITO M, SEO Y, YANO Y, et al. Short-term reductions in non-protein respiratory quotient and prealbumin can be associated with the long-term deterioration of liver function after transcatheter arterial chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Journal of Gastroenterology, 2012, 47(6): 704-714.
- [20] ZU H, WANG H, LI C, et al. Preoperative prealbumin levels on admission as an independent predictive factor in patients with gastric cancer [J]. Medicine, 2020, 99(11): e19196.
- [21] OUN R, MOUSSA E Y, WHEATE N J. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: A review for chemists[J]. Dalton Transactions An International Journal of Inorganic Chemistry, 2018, 47(19): 6645-6653.
- [22] KONDRUP J. Nutritional-risk scoring systems in the intensive care unit[J]. Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care, 2014, 17(2): 177-182.
- [23] 常鑫, 陈丽君. 鼻咽癌患者营养不良现状及干预方法的研究进展[J]. 中国癌症防治杂志, 2011, 3(4): 344-346.
- CHANG X, CHEN L J. The current status of malnutrition in patients with nasopharyngeal carcinoma and the research progress of intervention methods[J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2011, 3(4): 344-346.
- [24] GROBLER L, DURAO S, VAN DER MERWE S M, et al. Nutritional supplements for people being treated for active tuberculosis: A technical summary [J]. Samj South African Medical Journal, 2018, 108(1): 16-18.
- [25] MARTINEZ-MICHAEL N, GONZÁLEZ-ABUÍN N, MULERO M, et al. Procyanidins and docosahexaenoic acid suppress inflammation and boost immune system in cafeteria diet-fed rats[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 15: 61-71.
- [26] 赵凯丽. 中药复方肝清宁对H22肝癌小鼠的抗肿瘤作用及机制研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2019.
- ZHAO K L. Anti-tumor effect of Chinese medicine compound Ganqingning formula on H22 tumor-bearing mice and its mechanism[D]. Nanning: Guangxi Medical University, 2019.
- [27] 刘丹, 常伟勤. 高能要素膳食对荷人乳腺癌裸鼠营养支持的观察[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2006, 7(2): 135-137.
- LIU D, CHANG W Q. Nutritional supporting effect of high energy essenceto nude mouse with human breast carcinoma [J]. Journal of Beihua University (Natural Science), 2006, 7(2): 135-137.
- [28] 段明珉, 陈雪融. 营养支持辅助治疗重症肺结核的临床疗效观察[J]. 现代预防医学, 2017, 44(24): 4525-4527.
- DUAN M M, CHEN X R. Observation on the clinical effect of nutritional support for the treatment of severe pulmonary tuberculosis[J]. Modern Preventive Medicine, 2017, 44(24): 4525-4527.
- [29] SMITH S H. Using albumin and prealbumin to assess nutritional status[J]. Nursing, 2017, 47(4): 65-66.
- [30] 李伟, 陈一秋, 郭盼盼, 等. 全程营养管理模式在泌尿系统恶性肿瘤手术患者加速康复中的应用[J]. 同济大学学报(医学版), 2020, 41(4): 487-491.
- LI W, CHEN Y Q, GUO P P, et al. Application of nutritional management in enhanced recovery after surgery (ERAS) for patients with urological malignancy[J]. Journal of Tongji University (Medical Edition), 2020, 41(4): 487-491.
- [31] JO D C, DIANE S, KEIM K S, et al. The use of prealbumin and C-reactive protein for monitoring nutrition support in adult patients receiving enteral nutrition in an urban medical center[J]. Jpen Journal of Parenteral & Enteral Nutrition, 2012, 36(2): 197.
- [32] YOSHIMURA Y, WAKABAYASHI H, AI S, et al. Hemoglobin improvement is positively associated with functional outcomes in stroke patients with anemia[J]. Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases, 2020, 30(1): 105453.

Short-term Nutritional Support of Abalone Muscle Protein on Lewis Lung Cancer Chemotherapy Mice

Ren Dingding¹, Zheng Huina^{1,2,3,4*}, Li Jinzhen¹, Cao Wenhong^{1,2,3,4}, Lin Haisheng^{1,2,3,4}, Qin Xiaoming^{1,2,3,4}

¹College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, Guangdong

²Shenzhen Research Institute of Guangdong Ocean University, Shenzhen 518108, Guangdong

³National Shellfish Processing Technology Research and Development Sub-center (Zhanjiang), Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Products Processing and Safety, Guangdong Provincial Marine Biological Products Engineering

Laboratory, Zhanjiang 524088, Guangdong

⁴Provincial and Ministry Co-construction of Collaborative Innovation Center for Key Technology of Deep Processing of Marine Food, Dalian University of Technology, Dalian 116034, Liaoning

Abstract Objective: To investigate the effect of abalone muscle protein on the nutritional status of mice with chemotherapy tumors. Methods: The Lewis lung cancer chemotherapy mouse model was constructed, and provided nutritional support by giving abalone muscle protein to body weight, tumor volume, organ index (spleen index and thymus index), and serum. The levels of protein factors ALB, PA and Hb are used as indicators, and the numerical changes of related indicators before and after nutritional support are compared. Results: The mice had obvious lumps after subcutaneous injection 7 days; the survival status showed that the cisplatin chemotherapy mass concentrations of 0.02 mg/mL and 0.04 mg/mL had no mortality. Considering the survival period, 0.02 mg/mL was selected as the optimal concentration of chemotherapeutics. During the nutritional support process, the tumors of the sample in the dose group were significantly reduced, and the tumor inhibition rate reached 20.7%. Compared with the blank group, the sample high-dose group can increase the spleen index and thymus index of chemotherapy mice ($P>0.05$). Nutritional index results showed that after nutritional support for chemotherapy mice, comparison with blank group (NT), the ALB and PA of each group were significantly increased, and the PA of the sample low-dose group was significantly increased ($P<0.05$), the Hb was significantly reduced ($P<0.05$). Conclusion: AMPP has a certain effect on improving the nutritional status of mice with tumor chemotherapy.

Keywords abalone muscle protein; nutritional support; lung cancer model; chemotherapy