

张俊,田丽娅,黄琴,等. 骨癌痛动物模型及中医药相关镇痛机制研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(6): 925-934.

ZHANG J, TIAN L Y, HUANG Q, et al. Research progress on animal models of cancer-induced bone pain and mechanisms of traditional Chinese medicines [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(6): 925-934.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.06.014

骨癌痛动物模型及中医药相关镇痛机制研究进展

张俊¹, 田丽娅¹, 黄琴², 李枋霏¹, 曹杰¹, 王维^{1*}

(1. 重庆大学附属肿瘤医院, 重庆 400030; 2. 成都中医药大学针灸推拿学院, 成都 610075)

【摘要】 骨癌痛(cancer-induced bone pain, CIBP)不仅给癌症患者带来巨大痛苦,也降低其生活质量和自信心。导致 CIBP 的机制是复杂的,并随着癌症的进展而发生演变。目前治疗手段效果有限且存在不良反应。中医药在治疗 CIBP 方面具有一定优势,但相关镇痛机制有待深入探讨。建立典型、稳定、易重复的动物模型是进一步研究疾病发病机制和验证干预措施有效性的前提和基础。本文总结近 3 年常用的 CIBP 动物模型造模方法,并总结 CIBP 动物模型在中医药相关镇痛机制研究的应用,以期今后的 CIBP 研究提供方向。

【关键词】 骨癌痛;动物模型;中医药;镇痛机制

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2025) 06-0925-10

Research progress on animal models of cancer-induced bone pain and mechanisms of traditional Chinese medicines

ZHANG Jun¹, TIAN Liya¹, HUANG Qin², LI Fangfei¹, CAO Jie¹, WANG Wei^{1*}

(1. Chongqing University Cancer Hospital, Chongqing 400030, China; 2. College of Acupuncture and Massage, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

Corresponding author: WANG Wei. E-mail: abbystina98@163.com

【Abstract】 Cancer-induced bone pain (CIBP) causes substantial suffering for cancer patients and also diminishes their quality of life and self-esteem. The mechanisms underlying CIBP are complex and evolve progressively with cancer advancement. Current treatment options show limited efficacy and are often accompanied by adverse effects. Traditional Chinese medicine demonstrates potential advantages in managing CIBP; however, the mechanisms of action remain poorly understood and require further investigation. The development of a standardized, stable, and reproducible animal model is crucial to advancing research on disease pathogenesis and verifying the effectiveness of therapeutic interventions. This review considers recent method for modeling CIBP in animals and summarizes the application of these models in studies of traditional Chinese medicine mechanisms, with the aim of guiding future research directions in CIBP.

【Keywords】 cancer-induced bone pain; animal models; traditional Chinese medicine; mechanisms

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

【基金项目】 重庆市科卫联合中医药科研项目资助项目(2024ZYDB002), 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2021jcyj-msxmX0501)。

Funded by Chongqing Science and Technology Bureau Joint Health Commission of Chinese Medicine Research Project Funded Project (2024ZYDB002), Chongqing Natural Science Foundation General Project(cstc2021jcyj-msxmX0501).

【作者简介】 张俊,男,硕士,主治医师,研究方向:中西医结合防治肿瘤常见病及并发症。Email:963496414@qq.com

【通信作者】 王维,女,博士,主任医师,博士生导师,研究方向:中医药防治恶性肿瘤。Email:abbystina98@163.com

骨癌痛(cancer-induced bone pain, CIBP)是指骨转移或原发性骨肿瘤引起的疼痛,超过 80%的癌痛患者伴有极度痛苦的 CIBP^[1],严重影响生活质量和治疗信心,它通常是持续的、突然的、自发的^[2]。目前阿片类药物仍然是 CIBP 主要的药物治疗方式,但仅近一半患者能获得暂时的疼痛缓解^[3]。而阿片类药物还存在呼吸抑制、成瘾性、痛觉过敏和神经毒性等不良反应^[4],这就迫切需要新的、更好的治疗手段。研究表明中药、针灸等中医药治疗方法可有效减轻 CIBP^[5],如一项 Meta 分析证实中医外治法对改善 CIBP 有一定疗效^[6]。另有 Meta 分析指出,针灸可减轻 CIBP 疼痛强度并提高生活质量、降低阿片类药物副作用

的发生率^[7]。然而,导致 CIBP 的机制是复杂的,并随着癌症的进展而发生演变,涉及肿瘤细胞、骨细胞、活化的炎症细胞和骨支配神经元之间的各种相互作用,最终导致骨破坏、病理性骨折和难治性疼痛^[8]。对 CIBP 发生发展机制的研究有助于指导临床针对性、高效性治疗,故亟需深入其机制研究。动物模型是医学实验研究的一种重要载体,建立典型、稳定、易重复的动物疾病模型是研究疾病发病机制和验证干预措施有效性的前提和基础^[9]。故笔者总结近 3 年常用的 CIBP 动物模型造模方法(见表 1),并总结其在中医药相关镇痛机制研究的应用,以期今后的 CIBP 研究提供方向。

表 1 近 3 年 CIBP 动物模型造模研究特点
Table 1 Characteristics of CIBP animal models modeling studies in the past 3 years

肿瘤细胞来源 Tumor cell source	动物模型品系 Animal models strains	接种手术部位及方法 Site and method of inoculation	疼痛行为 测试方法 Pain behavior test methods	测试的止痛剂 Test for analgesics	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
Walker 256 乳腺癌细胞 Walker 256 breast cancer cells	成年雌性 SD 大鼠 Adult female SD rat	癌细胞注射到 左胫骨髓腔 Cancer cells were injected into the left tibial medullary cavity	机械痛敏法 Mechanical pain sensitization	SFN 和/或 吗啡 ^[15] SFN and/or morphine ^[15]	疼痛持续久 Prolonged pain	诱导时间较长、行为测试方法单一 Long induction time, single behavior testing method
	成年雌性 Wistar 大鼠 Adult female Wistar rat	癌细胞注射到 左胫骨下 1/3 骨髓腔 Cancer cells were injected into the bone marrow cavity of the lower 1/3 of the left tibia	热痛敏法 Thermal pain sensitization	吗啡和/或地 佐辛 ^[16] Morphine and/ or dezocine ^[16]	诱导时间 较短 Short induction time	行为测试方法单一、疼痛随访时间较短,对药物干预远期效果不详 Single behavior testing method, the follow-up time of pain is short, and the long-term effect of drug intervention is unknown
E0771 乳腺癌 细胞 E0771 breast cancer cells	成年雌性 C57BL/6J 或 BALB/c3H 小鼠 Adult female C57BL/6J or BALB/c3H mice	癌细胞注射到 右侧股骨髓腔 Cancer cells were injected into the bone marrow cavity of the right femur	NSF	吗啡 ^[18] Morphine ^[18]	使用了两种 癌细胞系及 小鼠品系, 提高实验可 重复性 Two types of cancer cell lines and mouse strains were used to improve the reproducibility of the experiment	疼痛行为测试方法较 单一、诱导时间较长 Single behavior testing method, long induction time

续表 1

肿瘤细胞来源 Tumor cell source	动物模型品系 Animal models strains	接种手术部位及方法 Site and method of inoculation	疼痛行为 测试方法 Pain behavior test methods	测试的止痛剂 Test for analgesics	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
MRMT-1 乳腺癌细胞 MRMT-1 breast cancer cells	成年雌性 SD 大鼠 Adult female SD rat	癌细胞注射到左胫骨髓腔 Cancer cells were injected into the left tibial medullary cavity	SFL、机械痛敏法、热痛敏法 SFL, mechanical pain sensitization, thermal pain sensitization	慢病毒表达 TRESK ^[20] lentivirus expressing- TRESK, LV-TRESK ^[20]	行为测试方法多样 Behavioral testing methods vary	自发性疼痛行为可能混合了皮肤疼痛影响实验分析 Spontaneous pain behavior may be mixed with the skin pain, thus affecting the experimental analysis
	成年雄性 C3H/HeN 小鼠 Adult male C3H/HeN mice	癌细胞注射到左股骨远端骨髓腔 Cancer cells were injected into the bone marrow cavity of the left distal femur	热痛敏法 Thermal pain sensitization	纳布啡联合吗啡 ^[21] Nalbuphine combined with morphine ^[21]	疼痛持续久 Prolonged pain	行为测试方法单一、诱导时间较长 Single behavior testing method, long induction time
NCTC 2472 纤维肉瘤细胞 NCTC 2472 fibrosarcoma cells	成年雄性 C3H/HeJ 小鼠 Adult male C3H/HeJ mice	癌细胞注射到左侧股骨骨髓腔 Cancer cells injected into the left femoral medullary cavity	机械痛敏法、NSF、热痛敏法 Mechanical pain sensitization, NSF, thermal pain sensitization	microRNA-199a-3p 激动剂 ^[22] MicroRNA-199a-3p agonist ^[22]	疼痛持续久、行为测试方法多样 Prolonged pain, behavioral testing methods vary	诱导时间较长 Long induction time
	成年雌性 C57BL/6J 或 SCID 小鼠 Adult female C57BL/6J or SCID mice	癌细胞注射到右侧胫骨骨髓腔 Cancer cells injected into the bone marrow cavity of the right tibia	机械痛敏法 Mechanical pain sensitization	卡洛芬或丁丙诺啡 ^[24] Carprofen or buprenorphine ^[24]	实验可重复性好、诱导时间短、安全性较高 Good repeatability of the experiment, short induction time, good safety	疼痛行为测试方法较单一 Single behavior testing method
RM-1 前列腺癌细胞 RM-1 prostate cancer cells	成年雄性 C57BL/6 小鼠 Adult male C57BL/6 mice	癌细胞注射到右侧股骨骨髓腔 Cancer cells injected into the bone marrow cavity of the right femur	自发性疼痛行为、肢体使用评分 Spontaneous pain behavior, limb use score	无 ^[26] Nothing ^[26]	行为测试方法可能更接近临床 Behavioral testing methods may be closer to the clinic	诱导时间较长 Long induction time
	成年雄性和雌性 C57BL/6J 小鼠 Adult male and female C57BL/6J mice	癌细胞注射到左股骨骨髓腔 Cancer cells were injected into the bone marrow cavity of the left femur	机械痛敏法及冷痛敏法 Mechanical pain sensitization and cold pain sensitization	STING 激动剂 ^[29] STING agonist ^[29]	实验方案相对安全,没有全身胃肠道毒性 Experimental protocol was relatively safe with no systemic gastrointestinal toxicity	止痛药物早期干预效果不详 Early intervention effect of painkillers is unknown

1 CIBP 动物模型研究进展

1.1 CIBP 动物模型建立的历史沿革

早期 CIBP 造模方法是依赖于将癌细胞给药到小鼠的左心室中,随后癌细胞在全身循环中迁移到包括骨髓在内的不同组织部位形成转移。这种模型的显著缺点包括转移部位和大小的可预测性差,导致其重复性较差^[10]。此后,实验者开始将癌细胞注射到啮齿类动物骨髓腔中,克服了上述方法的缺点。通过骨髓腔注射构建 CIBP 动物模型的首次建立则是在 1999 年, SCHIWEI 等^[11]将 NCTC 2472 纤维肉瘤细胞注射到 B6C3-Fe-a/ α 野生型和 C3H/HeJ 小鼠股骨制备了世界上第一个小鼠 CIBP 动物模型,通过检测 CIBP 小鼠模型中脊髓和相关背根神经节中发生的神经化学变化,发现背角深层的神经元中表达强啡肽和 c-Fos 蛋白,这与癌症导致骨破坏的程度密切相关。第一个已知的大鼠 CIBP 模型是在 2002 年, MEDHURST 等^[12]通过对 SD 大鼠胫骨内注射 MRMT-1 大鼠乳腺癌细胞后成功诱导,该模型在接种后 20 d 内对其健康没有任何严重影响,并因其动物模型较稳定性好逐渐得推广及应用。从 1999 年至近年来建立的 CIBP 动物模型已有 10 多种^[13],这可以在一定程度上再现 CIBP 的症状并帮助了解 CIBP 的分子机制及开发新药等。

1.2 常用 CIBP 动物模型近 3 年研究进展

1.2.1 Walker 256 乳腺癌细胞诱导的 CIBP 动物模型

乳腺癌细胞是诱导 CIBP 动物模型常见的细胞类型,有研究发现 Walker 256 乳腺癌细胞植入的动物在整个实验期间保持良好的健康状况且该模型与乳腺癌诱导的人类 CIBP 病理生理学非常相似^[14],故广泛用于 CIBP 造模中。FU 等^[15]为研究萝卜硫素(sulforaphane, SFN)是否能干预 CIBP 相关疼痛行为并增强吗啡镇痛作用,将 Walker 256 乳腺癌细胞注射到成年雌性 SD 大鼠左胫骨髓腔以制备 CIBP 动物模型,在术前 3 d 及术后第 3、6、9、12、15、18 天通过机械痛敏法进行行为测试,第 6 天成功建立 CIBP 动物模型后,在治疗组中持续注射 SFN 和/或吗啡。实验结果表明,CIBP 组缩爪阈值(paw withdrawal threshold, PWT)在第 6 天显著降低并持续到第 18 天,而持

续注射 SFN 可减轻 CIBP。进一步分析证明,SFN 可增强吗啡对 CIBP 大鼠的镇痛作用,这可能与通过重建 CIBP 大鼠脊髓中 μ -阿片受体(μ opioid receptor, MOR)表达的下调相关,这可能是 CIBP 治疗的潜在靶点。吗啡耐药性是制约治疗 CIBP 疗效的重要因素,为了观察地佐辛对吗啡耐药性的影响,有研究人员将 Walker 256 大鼠乳腺癌细胞注射到成年雌性 Wistar 大鼠左胫骨下 1/3 骨髓腔,实验第 5 天即成功完成 CIBP 造模,随机分组后治疗组单独吗啡注射或联合地佐辛连续治疗 7 d,并通过在每天给药后 30 min 通过热痛敏法进行行为测试。实验结果表明,吗啡给药 4 d 后镇痛效果显著降低,而低剂量地佐辛与吗啡的组合可以预防或延缓 CIBP 大鼠模型中吗啡耐药性的发展,这可能与中脑导水管周围灰质(periaqueductal gray, PAG)和脊髓中阿片受体表达的调节相关^[16]。

1.2.2 E0771 乳腺癌细胞诱导的 CIBP 动物模型

E0771 乳腺癌细胞系是来源于 C57BL/6 小鼠的自发性乳腺癌,而且是非常接近人类乳腺癌的常用实验性乳腺肿瘤模型^[17]。THOMPSON 等^[18]进一步研究阿片药物表达的 toll 样受体-4(toll-like receptor-4, TLR4)对阿片药物耐药及骨质流失的影响,使用了 E0771 乳腺癌细胞系注射到成年雌性 C57BL/6J 小鼠的右侧股骨骨髓腔,形成 CIBP 小鼠模型,在第 0、7、10、14 天对动物进行称量体质量,并进行疼痛行为测试,计算自发退缩次数(number of spontaneous flinches, NSF)。在第 7 天与假手术组相比,CIBP 组 NSF 显著增加。在术后第 7 天获得 CIBP 组疼痛基线后,治疗组及对照组再分别植入含适量吗啡或生理盐水的皮下微型泵。在第 10 天与对照组相比,治疗组小鼠 NSF 显著减少。而在第 14 天,治疗组小鼠对吗啡不再具有抗伤害性,NSF 增加。进一步实验分析证实,持续吗啡给药通过激活 TLR4 诱导同侧股骨内骨质溶解和超敏反应显著增加,这表明长期吗啡给药可增强肿瘤诱导的骨质流失并加剧疼痛行为,这在一定程度上是通过 TLR4 受体机制介导的。为了提高可重复性,使用另一种同基因乳腺癌细胞系(66.1)及替代小鼠品系(BALB/c3H)进行了相同的实验,并获得以上相同实验结果。

1.2.3 MRMT-1 乳腺癌细胞诱导的 CIBP 动物模型

MRMT-1 乳腺癌细胞较早用于 CIBP 造模中^[14],因其浸润和降解骨基质方面的侵袭性较好^[19],目前仍有研究者使用其建立 CIBP 动物模型。近年来有学者将 MRMT-1 乳腺癌细胞注射到成年雌性 SD 大鼠左侧胫骨建立 CIBP 模型以研究双孔钾离子通道(TWIK-related spinal cord potassium channels, TRESK)在 CIBP 发生的相关作用,在第 0、7、14 和 18 天,进行自发性抬脚行为(spontaneous foot lift, SFL)、机械痛敏法以及热痛敏法行为学测试^[20]。实验通过免疫荧光染色及 Western Blot 分析等方法证实了 CIBP 大鼠的后爪皮肤、胫骨骨膜和背根神经节神经元内的相应神经纤维中, TRESK 的表达显著降低,这可能导致其自发性疼痛及诱发性疼痛^[20]。

1.2.4 NCTC 2472 纤维肉瘤细胞诱导的 CIBP 动物模型

NCTC 2472 纤维肉瘤细胞是最早用于制备小鼠股骨 CIBP 模型的肿瘤系^[11],至今在 C3H/He 小鼠中广泛使用^[10]。例如,一项实验将 NCTC 2472 纤维肉瘤细胞注射到成年雄性 C3H/HeN 小鼠左股骨远端的骨髓腔,在第 0、4、7、14、21 天,应用热痛敏法进行行为分析^[21]。CIBP 组缩爪潜伏期值(paw withdrawal latency, PWL)在第 4 天明显下降,而在第 14 天成功诱导 24 只 CIBP 小鼠,治疗组此时连续 7 d 注射吗啡和/或纳布啡。实验结果表明,纳布啡联合吗啡给药较单独吗啡给药延缓了 PWL 值的降低,这可能与低剂量纳布啡与吗啡联合给药导致吗啡耐受延迟出现有关,而该机制的一部分也可能是由于脊髓阿片受体表达的调节。同样有研究者使用 NCTC 2472 纤维肉瘤细胞注射到成年雄性 C3H/HeJ 小鼠左侧股骨以诱导 CIBP 模型,以明确星形胶质细胞中一种重要的抑癌基因(microRNA-199a-3p)减轻 CIBP 的相关机制^[22]。实验在手术后第 0 ~ 24 天,每 4 d 评估其机械缩足反射阈值(paw withdrawal mechanical threshold, PWMT)、热痛敏缩足潜伏时(paw withdrawal thermal latency, PWTL)和 NSF 来评估疼痛行为。第 12 天时, CIBP 小鼠的 PWTL 和 PWMT 开始降低, NSF 持续上升至第 24 天,故成功构建 CIBP 模型。进一步行定量逆转录聚合

酶链反应检测和微小核糖核酸测序证实, CIBP 小鼠的 microRNA-199a-3p 表达降低。而注射 microRNA-199a-3p 激动剂后, CIBP 小鼠组 PWMT 和 PWTL 升高、NSF 降低,验证其减轻了 CIBP,进一步研究发现这可能与抑制神经炎症和髓样分化因子 88(myeloid differentiation primary response protein 88, MyD88)/核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)信号通路相关^[22]。

1.2.5 RM-1 前列腺癌细胞诱导的 CIBP 动物模型

骨活检(一种类似于上述胫骨或股骨内注射的过程)被认为是十分痛苦的,学者建议在手术期间或手术后使用局部和全身镇痛药^[23]。基于伦理, CIBP 造模中也应镇痛,但镇痛又可能会干扰肿瘤模型的建立。一项研究为了观察镇痛药对骨转移小鼠模型肿瘤生长的影响,使用成年雄性 C57BL/6J 或 SCID 小鼠右侧胫骨骨髓腔分别注射前列腺癌 RM-1 细胞或 PC3 细胞以造模,并同时皮下注射止痛药卡洛芬或丁丙诺啡。在术前、术后 24 h 以及术后第 7、14 天进行机械痛敏法行为测试^[24],实验结果表明,与对照组相比, CIBP 组的 PWMT 从第 2 天显著下降直到第 14 天。而镇痛组与 CIBP 组,在疼痛行为测试、运动、体质量及肿瘤测量方面,两组小鼠各组间存在零星差异,均未发现显著性差异。这也说明卡洛芬或丁丙诺啡给药均未始终影响肿瘤生长或动物痛觉、运动、体质量,这也否认了镇痛对肿瘤模型建立的影响。在上述实验及既往使用 RM-1 前列腺癌细胞的实验中^[25],疼痛行为测试主要集中在涉及植入肿瘤肢体的痛敏反应上,而不是自发性或运动诱发的疼痛。而近期有实验采用了自发性或运动诱发的疼痛行为测试方法,弥补上述缺点^[26]。该实验使用绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)和荧光素酶报告基因转染 RM-1 前列腺癌细胞注射到成年雄性 C57BL/6 小鼠右股骨中以建立具有免疫活性 CIBP 小鼠模型,实验在第 0、5、7、9、12、14、16 和 20 天使用自发性疼痛行为以及跑轮训练(一种新的肢体使用评分方法)进行疼痛行为测试。结果提示,与假手术组相比, CIBP 组在第 12 ~ 20 天期间表现出自发且逐渐更严重的同侧肢体保护行为,并且患肢运动时疼痛和功能能力下降,这代表成功制备

了 CIBP 模型。实验进一步利用组织学、放射学和 μ CT 分析来检查肿瘤诱导的骨重塑,观察到溶骨病变以及荷瘤股骨中骨膜外异常骨形成,这与骨转移性前列腺癌患者的临床表现十分相似,且还通过免疫组化观察到同侧脊髓浅层(I ~ II)但未深层(III ~ V)中对蛋白激酶 R 样内质网激酶免疫反应的细胞谱显著增加。这种贴近人类还兼具较高免疫活性的 CIBP 模型对评估免疫调节疗法治疗 CIBP 至关重要。

1.2.6 Lewis 肺癌细胞诱导的 CIBP 动物模型

Lewis 肺癌细胞是来源于 C57BL/6 小鼠中自发产生的肺腺癌,其特点是在体外和体内繁殖倍增时间短,具有侵袭性生物学行为且重复性较好^[27]。虽然肺癌骨转移发病率较高,但 Lewis 肺癌细胞在 CIBP 造模中应用相对较少。有研究指出干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)是治疗慢性疼痛的有前途的新靶点^[28]。但其对 CIBP 疗效不确切。WANG 等^[29]为了明确其是否对 CIBP 有效,通过对成年 C57BL/6J 雄性及雌性小鼠注射 Lewis 肺癌细胞到小鼠左侧股骨,建立了小鼠 CIBP 模型。在肿瘤植入后的第 3、7 天对这些小鼠腹膜内注射两次载体或 STING 激动剂。在接种后的第 0、7、10、14 天对荷瘤腿的后爪进行疼痛行为测试,包括机械痛敏法与冷痛敏法。实验结果证实,STING 激动剂给药后显著降低了 7、10 和 14 天的机械痛敏阈值和第 10 及 14 天的冷痛敏阈值,未观察到明显的性别差异。且观察到载体组和 STING 组的体质量没有差异,表明实验方案相对安全,无全身胃肠道毒性。

2 中医药干预 CIBP 模型的相关镇痛机制研究

2.1 针灸干预 CIBP 模型的相关镇痛机制研究

针灸广泛用于 CIBP 的治疗中,一项通过磷酸化蛋白质组学分析电针治疗 CIBP 相关机制的研究中,通过选取已制备好 CIBP 大鼠模型的双侧足三里及昆仑穴进行电针治疗 7 次^[30]。后对大鼠 DRG 的磷酸化蛋白质组学谱显示,CIBP 造模或电针治疗后蛋白质磷酸化发生显著变化,而抑制雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of

rapamycin, mTOR)信号减轻了 CIBP 大鼠的 PWT,这表明 mTOR 磷酸化和 mTOR 通路可能是电针缓解 CIBP 的潜在机制。腕踝针广泛用于镇痛治疗中,有临床研究指出腕踝针联合阿片类药物可提高顽固性癌性疼痛的疗效并减少阿片类药物的不良反应,但该研究未深入探索其机制^[31]。ZHANG 等^[3]进一步研究腕踝针对 CIBP 的影响并探索腕踝针和电针对 CIBP 的镇痛机制,将 32 只 Wistar 大鼠分为假手术、CIBP、电针、腕踝针 4 组,CIBP 在后 3 组的大鼠中被诱导,并进行疼痛行为测试以及 Western Blot、免疫组化等实验方法。实验结果表明,二者均通过抑制 5-羟色胺和 5-羟色胺 3A 受体的表达并增加 MOR 及其配体内啡肽-1 在延髓头侧腹内侧-脊髓通路中的表达来缓解 CIBP。艾灸具有热效应、药理效应和辐射效应的综合作用,同样广泛用于止痛,其镇痛机制可能与艾灸在调节疼痛相关信号通路、减少神经炎症和抑制促炎细胞因子等有关^[32]。然而,目前艾灸治疗癌痛大部分为临床研究,缺乏艾灸治疗癌痛相关机制的动物实验研究^[33]。

2.2 中药外治干预 CIBP 模型的相关镇痛机制研究

中药外治是外用中药本草通过皮肤及腔道黏膜进入机体,从而来预防、治疗疾病,包括局部涂擦、贴敷、熏洗等,在 CIBP 患者中有着广泛的应用^[6]。“固痛方”是由附子、姜黄、肉桂、全蝎等九种中药配制而成用于治疗 CIBP 的中药方剂,CHANG 等^[34]为了研究其治疗 CIBP 的分子机制,将制备的“固痛方”提取物通过透皮给药施用于已制备的 CIBP 小鼠模型的剃光荷瘤胫骨上,并测定其血清白细胞介素 6 和转化生长因子- β 1 的水平,进一步分析表明“固痛方”可以降低血清白细胞介素 6 和转化生长因子- β 1 的水平,从而限制骨皮质损伤的范围以起到治疗 CIBP 的作用。既往药理学及临床研究表明,中药复方制剂“癌痛平”具有明确的镇痛作用,几乎无副作用^[35-36]。近期该团队进一步深入探索“癌痛平”中药贴干预 CIBP 的机制,将造模成功后的 CIBP 小鼠随机分为治疗组和对照组,分别予“癌痛平”中药贴及空白对照贴片于小鼠背部贴敷^[37]。实验结果提示,与对照组相比,治疗组可显著提高小鼠 PWT 和 PWL,进一步分析提示这可能与通过抑制小

胶质细胞的激活来缓解 CIBP 有关。

2.3 中药内服干预 CIBP 模型的相关镇痛机制研究

乌头是中药里一种常用于治疗寒冷疼痛的药物,而乌头碱是其主要活性成分。一项探索乌头碱治疗 CIBP 效果以及可能机制的研究中,将乌头碱腹腔注射到制备好的 CIBP 动物模型中^[38]。实验结果表明,其能减轻冷痛敏及机械痛敏,而实验分析得出这与乌头碱通过抑制瞬时受体电位锚蛋白 1 (transient receptor potential ankyrin 1, TRPA1) 表达来抑制脊髓神经元的兴奋性有关。故乌头碱是治疗 CIBP 的可能药物之一。TRPA1 受体是开发治疗 CIBP 新型止痛药的潜在靶点之一^[39],另有研究表明 TRPA1 在乳腺癌诱导 CIBP 小鼠模型中,对痛觉过敏产生起到重要作用^[40]。GONG 等^[41]为了明确中药方剂阳和汤是否可以通过抑制 TRPA1 来减轻 CIBP,通过大鼠胫骨注射乳腺癌细胞及含阳和汤溶剂进行 CIBP 造模以及治疗给药。实验结果证实,阳和汤治疗组可阻止大鼠 PWMT 和 PWTL 的降低,且水平接近假手术组。进一步分析证实,阳和汤给药后通过调节神经元上 TRPA1 的表达,减轻了大鼠的伤害感受和疼痛感。

2.4 其他中医药治疗手段干预 CIBP 模型的相关镇痛机制研究

气功是中华民族一项历史悠久的健身养生术,广泛应用于癌症治疗,如改善癌症患者生活质量、疲劳、免疫功能等^[42]。一项 Meta 分析指出,气功可能对成人癌痛产生有益影响^[43],并且一项研究气功镇痛机制的动物实验指出:气功镇痛机制可能是胆碱能神经的激活引起的轴突反射,抑制胆碱酯酶和躯体自主反射^[44]。有系统评价表明,推拿、太极等中医药干预措施可能减轻乳腺癌患者的癌痛症状^[45]。但至今仍尚缺乏针对这些治疗手段干预 CIBP 相关机制的动物实验研究。

3 小结

目前对于 CIBP 的治疗手段仍存在疗效欠佳及不良反应等缺点,学者们运用动物模型围绕 CIBP 的发病及干预手段的作用机制进行了深入研究。笔者总结了近 3 年常用的 CIBP 动物模型

的构建方法及优缺点,发现接种肿瘤细胞系的选择较多是 Walker256 乳腺癌细胞、NCTC 2472 纤维肉瘤细胞以及 RM-1 前列腺癌细胞等,其他肿瘤细胞系还有 MRMT-1 乳腺癌细胞、E0771 乳腺癌细胞、Lewis 肺癌细胞、PC3 前列腺癌细胞等。而这与以上相关肿瘤易发生骨转移有关,如高达 70% 的前列腺癌和乳腺癌患者存在骨转移^[46],而甲状腺癌、妇科恶性肿瘤等常见引起骨转移的瘤种未见相关 CIBP 动物模型的研究,未来可对此类肿瘤诱发的 CIBP 进行相关研究。另外,以上造模方法中动物来源主要选择为 C57BL/6 小鼠、C3H/He 小鼠以及 SD 大鼠,其次有 BALB/c 小鼠、Wistar 大鼠等,手术接种部位主要是小鼠股骨、大鼠胫骨,其他较少见为小鼠胫骨等。选择上述啮齿动物类型及接种部位的优势除了其广泛地应用于肿瘤学、生长快、抵抗力强、操作简易等外,还有上述方法是将癌细胞注射到骨骼中的部位被密封,以限制肿瘤在髓内腔的生长。这与癌细胞的全身给药相比,在骨骼中直接注射癌细胞的 CIBP 模型更有助于评估肿瘤随时间的生长、放射成像、骨退化观察、组织病理学变化检查、特定部位行为测试以及评估发生在肿瘤部位的神经化学变化等^[47]。而上述 CIBP 动物模型疼痛行为测试方法有单一或多样,主要采用机械痛敏法、冷痛敏法、热痛敏法等诱发性痛觉行为观察,少部分实验采用自发性痛觉行为观察。具体来说,机械痛敏法通过手动或电子 Von Frey 纤维细丝刺激缩足反应测定 PWMT 来判断 CIBP 动物模型机械痛觉行为异常。冷痛敏法通过冷板、丙酮蒸发、冷足底实验等测定冷痛敏阈值来判断 CIBP 动物模型冷痛觉行为异常。热痛敏法通过甩尾、热板、热探针等实验测定 PWTL 来判断 CIBP 动物模型热痛觉行为异常^[48]。自发性痛觉行为观察通过观察自发性的退缩或抬脚行为等行为测定 NSF、SFL 来判断 CIBP 动物模型自发性痛觉行为异常。但是这些方法都缺乏明确统一的依据和标准,并且对于自发痛行为的评价容易被忽视,对于疼痛的临床表现分析存在不足。最后,分析上述动物模型的共性优点有:疼痛诱导时间短、持续久以及安全性较高、可重复性好、行为测试方法多样使得数据更综合、准确等。但部分实验也存在着行为测试方法单一、疼痛诱导时

间较长、疼痛随访时间较短以及疼痛行为测试可能混杂干扰因素等缺点,这需要在今后的实验中持续改进。

通过总结近年来 CIBP 动物模型在中医药相关镇痛机制研究的应用,发现中医药镇痛机制可能与抑制破骨细胞活化、抑制脊髓神经元的兴奋性、抑制小胶质细胞的激活以及调节疼痛介质和 mTOR 等相关信号通路等有关。而研究指出, CIBP 产生机制在于当骨肿瘤产生或当骨骼破坏发生时,感觉神经元会表现得像萌芽一样产生有毒的刺激物^[2]。此外, DRG 活化、小胶质细胞活化、酸性环境产生、炎症因子表达、离子通道变化等诸多因素也参与 CIBP 的产生和维持。这与上述中医药干预 CIBP 的镇痛机制部分重合,也验证了中医药干预 CIBP 的有效性,但今后中医药干预 CIBP 还可从酸性环境产生、炎症因子表达等机制深入地进一步探索。另外,中医药干预 CIBP 的动物实验多从某一治疗手段以及某一单一机制研究,尚未对综合治疗干预方法以及多机制之间的联系进行相关研究。并且中医药的关键在于“辨证论治”,这在以往的 CIBP 动物模型未得到体现,如何制备常见中医辨证类型的 CIBP 动物模型亟待解决。此外,目前还缺乏艾灸、气功、推拿等中医药治疗方法对于 CIBP 的相关镇痛机制研究,应对上述问题进行深入探讨。针对目前研究的短板,未来应加快建立科学、合理、规范并符合中医药“辨证论治”特点的建立标准化的 CIBP 动物模型,可分别应用中医药综合治疗方法以及尚未明确有效机制的治疗方法进行干预,并采用可重复性好、安全性高的多种测试方法来进一步准确观察模型动物的行为学表现。同时,可采用现代前沿生物科学技术,如单细胞多组学联合测序、空间转录组测序等,全面分析中医药干预 CIBP 的多机制镇痛作用。研究人员期待通过不断探索、总结,进一步完善 CIBP 动物模型,帮助中医药从基础研究到临床实践应用,使更多且更有效的治疗 CIBP 的中医药手段得到推广和应用。

参 考 文 献(References)

- [1] FLIPPEN A, KHASABOVA I A, SIMONE D A, et al. Systemic administration of Resolvin D1 reduces cancer-induced bone pain in mice: lack of sex dependency in pain development and analgesia [J]. *Cancer Med*, 2024, 13 (15): e70077.
- [2] ZHENG X Q, WU Y H, HUANG J F, et al. Neurophysiological mechanisms of cancer-induced bone pain [J]. *J Adv Res*, 2021, 35: 117-127.
- [3] ZHANG C, XIA C, ZHANG X, et al. Wrist-ankle acupuncture attenuates cancer-induced bone pain by regulating descending pain-modulating system in a rat model [J]. *Chin Med*, 2020, 15: 13.
- [4] LÓPEZ-CANO M, FONT J, ASO E, et al. Remote local photoactivation of morphine produces analgesia without opioid-related adverse effects [J]. *Br J Pharmacol*, 2023, 180(7): 958-974.
- [5] ZHANG X, QIU H, LI C, et al. The positive role of traditional Chinese medicine as an adjunctive therapy for cancer [J]. *Biosci Trends*, 2021, 15(5): 283-298.
- [6] YAN X, YAN Z, LIU W, et al. External application of traditional Chinese medicine in the treatment of bone cancer pain: a meta-analysis [J]. *Support Care Cancer*, 2016, 24 (1): 11-17.
- [7] YAN Z, MURONG Z, HUO B, et al. Acupuncture as a complementary therapy for cancer-induced bone pain: a systematic review and meta-analysis [J]. *Front Pain Res (Lausanne)*, 2022, 3: 925013.
- [8] ZAJĄCZKOWSKA R, KOCOT-KĘPSKA M, LEPPERT W, et al. Bone pain in cancer patients: mechanisms and current treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(23): 6047.
- [9] 羊璞, 栗胜勇, 李羚, 等. 疼痛抑郁共病动物模型及针刺作用机制研究进展 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2023, 43 (11): 1401-1408.
- YANG P, SU S Y, LI L, et al. Research progress on animal models of pain-depression dyad and mechanism of acupuncture [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2023, 43 (11): 1401-1408.
- [10] HAROUN R, WOOD J N, SIKANDAR S. Mechanisms of cancer pain [J]. *Front Pain Res (Lausanne)*, 2022, 3: 1030899.
- [11] SCHWEI M J, HONORE P, ROGERS S D, et al. Neurochemical and cellular reorganization of the spinal cord in a murine model of bone cancer pain [J]. *J Neurosci*, 1999, 19(24): 10886-10897.
- [12] MEDHURST S J, WALKER K, BOWES M, et al. A rat model of bone cancer pain [J]. *Pain*, 2002, 96(1/2): 129-140.
- [13] PINEDA-FARIAS J B, SALOMAN J L, SCHEFF N N. Animal models of cancer-related pain: current perspectives in translation [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 610894.
- [14] SHENOY P A, KUO A, VETTER I, et al. The walker 256 breast cancer cell-induced bone pain model in rats [J].

- Front Pharmacol, 2016, 7: 286.
- [15] FU J, XU M, XU L, et al. Sulforaphane alleviates hyperalgesia and enhances analgesic potency of morphine in rats with cancer-induced bone pain [J]. Eur J Pharmacol, 2021, 909: 174412.
- [16] WU L X, DONG Y P, ZHU Q M, et al. Effects of dezocine on morphine tolerance and opioid receptor expression in a rat model of bone cancer pain [J]. BMC Cancer, 2021, 21(1): 1128.
- [17] LE NAOUR A, ROSSARY A, VASSON M P. EO771, is it a well-characterized cell line for mouse mammary cancer model? Limit and uncertainty [J]. Cancer Med, 2020, 9(21): 8074–8085.
- [18] THOMPSON A L, GRENALD S A, CICCONE H A, et al. Morphine-induced osteolysis and hypersensitivity is mediated through toll-like receptor-4 in a murine model of metastatic breast cancer [J]. Pain, 2023, 164(11): 2463–2476.
- [19] DORÉ-SAVARD L, OTIS V, BELLEVILLE K, et al. Behavioral, medical imaging and histopathological features of a new rat model of bone cancer pain [J]. PLoS One, 2010, 5(10): e13774.
- [20] LIU J P, JING H B, XI K, et al. Contribution of TRESK two-pore domain potassium channel to bone cancer-induced spontaneous pain and evoked cutaneous pain in rats [J]. Mol Pain, 2021, 17: 17448069211023230.
- [21] REN B, ZHANG J, YANG X, et al. Co-Administration of nalbuphine to improve morphine tolerance in mice with bone cancer pain [J]. Mol Pain, 2023, 19: 17448069231178741.
- [22] SAADH M J, RASHED A B, JAMAL A, et al. miR-199a-3p suppresses neuroinflammation by directly targeting MyD88 in a mouse model of bone cancer pain [J]. Life Sci, 2023, 333: 122139.
- [23] BARRETO F C, COSTA C R V D, REIS L M D, et al. Bone biopsy in nephrology practice [J]. J Bras Nefrol, 2018, 40(4): 366–374.
- [24] XU J J, THURSTON S E, ROBINSON T J, et al. Effects of analgesics on tumor growth in mouse models of prostate cancer bone metastasis [J]. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2021, 60(3): 341–348.
- [25] LLORIÁN-SALVADOR M, PEVIDA M, FERNÁNDEZ-GARCÍA M T, et al. Hypernociceptive responses following the intratibial inoculation of RM1 prostate cancer cells in mice [J]. Prostate, 2015, 75(1): 70–83.
- [26] JIMENEZ-ANDRADE J M, RAMÍREZ-ROSAS M B, HEE PARK S, et al. Evaluation of pain related behaviors and disease related outcomes in an immunocompetent mouse model of prostate cancer induced bone pain [J]. J Bone Oncol, 2023, 43: 100510.
- [27] ACENCIO M M P, PUKA J, MARCHI E, et al. A modified experimental model of malignant pleural disease induced by lung Lewis carcinoma (LLC) cells [J]. J Transl Med, 2015, 13: 302.
- [28] DONNELLY C R, JIANG C, ANDRIESEN A S, et al. STING controls nociception via type I interferon signalling in sensory neurons [J]. Nature, 2021, 591(7849): 275–280.
- [29] WANG K, DONNELLY C R, JIANG C, et al. STING suppresses bone cancer pain via immune and neuronal modulation [J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 4558.
- [30] WANG W, ZHOU Y, CAI Y, et al. Phosphoproteomic profiling of rat's dorsal root Ganglia reveals mTOR as a potential target in bone cancer pain and electro-acupuncture's analgesia [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 593043.
- [31] 吴秋兰, 曹雯, 王伟, 等. 腕踝针配合阿片类药物治疗难治性癌痛: 随机对照研究 [J]. 中国针灸, 2019, 39(10): 1051–1054.
- WU Q L, CAO W, WANG W, et al. Wrist-ankle needle combined with opioid drugs on refractory cancer pain: a randomized controlled trial [J]. Chin Acupunct Moxibustion, 2019, 39(10): 1051–1054.
- [32] LI Y, HONG E, YE W, et al. Moxibustion as an adjuvant therapy for cancer pain: a systematic review and meta-analysis [J]. J Pain Res, 2023, 16: 515–525.
- [33] LU S, WANG B, WANG J, et al. Moxibustion for the treatment of cancer and its complications: efficacies and mechanisms [J]. Integr Cancer Ther, 2023, 22: 15347354231198089.
- [34] CHANG J, JIANG Z, JIN W, et al. The molecular mechanism of traditional Chinese medicine prescription: gu-Tong formula in relieving osteolytic bone destruction [J]. Biomed Res Int, 2022, 2022: 4931368.
- [35] 吴勉华, 尚文斌, 尹标, 等. 癌痛平镇痛作用的实验研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 1999, 6(4): 28.
- WU M H, SHANG W B, YIN B, et al. Experimental study on analgesic effect of aitingping [J]. Chin J Inf TCM, 1999, 6(4): 28.
- [36] 吴勉华, 周学平, 程海波, 等. 癌痛平胶囊治疗癌性疼痛的临床研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(3): 218–221.
- WU M H, ZHOU X P, CHENG H B, et al. Clinical study on aitingping capsule in treating cancerous pain [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2005, 25(3): 218–221.
- [37] CHEN Y, WU M. Aitingping patch could alleviate cancer pain via suppressing microglia activation and modulating the miR-150-5p/CXCL12 signaling [J]. Postgrad Med J, 2024, 100(1180): 96–105.
- [38] JIN X, CHENG J, ZHANG Q, et al. Aconitine-A promising

- candidate for treating cold and mechanical allodynia in cancer induced bone pain [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 161: 114284.
- [39] DE ALMEIDA A S, PEREIRA G C, BRUM E D S, et al. Role of TRPA1 expressed in bone tissue and the antinociceptive effect of the TRPA1 antagonist repeated administration in a breast cancer pain model [J]. *Life Sci*, 2021, 276: 119469.
- [40] ZHAO D, HAN D F, WANG S S, et al. Roles of tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in regulating bone cancer pain via TRPA1 signal pathway and beneficial effects of inhibition of neuro-inflammation and TRPA1 [J]. *Mol Pain*, 2019, 15: 1744806919857981.
- [41] GONG H, YANG L I, FENG L, et al. Yanghe decoction attenuated pain hypersensitivity induced by Michigan cancer foundation-7 injection in rats with bone metastases from breast cancer by inhibiting transient receptor potential ankyrin 1 [J]. *J Tradit Chin Med*, 2022, 42(6): 948–955.
- [42] ZENG Y, LUO T, XIE H, et al. Health benefits of Qigong or Tai Chi for cancer patients; a systematic review and meta-analyses [J]. *Complement Ther Med*, 2014, 22(1): 173–186.
- [43] BAO Y, KONG X, YANG L, et al. Complementary and alternative medicine for cancer pain: an overview of systematic reviews [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 170396.
- [44] TAKESHIGE C, SATO M. Comparisons of pain relief mechanisms between needling to the muscle, static magnetic field, external Qigong and needling to the acupuncture point [J]. *Acupunct Electrother Res*, 1996, 21(2): 119–131.
- [45] BEHZADMEHR R, DASTYAR N, MOGHADAM M P, et al. Effect of complementary and alternative medicine interventions on cancer related pain among breast cancer patients; a systematic review [J]. *Complement Ther Med*, 2020, 49: 102318.
- [46] STOPPA I, DIANZANI C, CLEMENTE N, et al. Alendronate-grafted nanoemulsions for bone-targeted vincristine delivery: preliminary studies on cell and animal models [J]. *Biomolecules*, 2024, 14(2): 238.
- [47] BROWN D C, IADAROLA M J, PERKOWSKI S Z, et al. Physiologic and antinociceptive effects of intrathecal resiniferatoxin in a canine bone cancer model [J]. *Anesthesiology*, 2005, 103(5): 1052–1059.
- [48] DEUIS J R, DVORAKOVA L S, VETTER I. Methods used to evaluate pain behaviors in rodents [J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 284.

[收稿日期] 2024-10-16