

## 基于对背根神经节中神经生长因子的调控探究华蟾素治疗骨癌痛的机制

刘亚丽<sup>1</sup>, 刘丹<sup>2</sup>, 张文<sup>3</sup>, 陈涛<sup>1,4</sup>, 胡卫<sup>1,4\*</sup>

1. 三峡大学医学院, 湖北 宜昌 443003

2. 黄冈市中医医院, 湖北 黄冈 438000

3. 上海中医药大学附属龙华医院, 上海 200032

4. 三峡大学 国家中医药管理局中药药理科研三级实验室, 湖北 宜昌 443003

**摘要:** 目的 基于对骨癌痛大鼠背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)中神经生长因子(nerve growth factor, NGF)的调控, 探讨中药华蟾素治疗骨癌痛的机制。方法 筛选痛阈值满足条件的SD雌性大鼠构建骨癌痛模型, 随机分为正常组、假手术组、模型组、华蟾素组、华蟾素+NGF组和anti-NGF组。华蟾素组、华蟾素+NGF组在造模第7天开始ip华蟾素, 其余各组ip等体积的生理盐水; 华蟾素+NGF组、anti-NGF组在造模第12天鞘内插管给药, 造模21d后处理大鼠。检测大鼠造模前后痛阈值变化; 采用Western blotting法检测各组大鼠DRG中原肌球蛋白受体激酶A(tropomyosin receptor kinase A, TrkA)、p75神经营养受体(p75 neurotrophin receptor, p75NTR)、 $\mu$ 阿片受体( $\mu$  opioid receptor, MOR)和神经递质P物质(substance P, SP)蛋白表达; 采用免疫组化法检测各组大鼠DRG中MOR的表达; 采用免疫荧光双标检测各组大鼠DRG中MOR与TrkA共表达情况。结果 与模型组比较, 华蟾素明显提高大鼠机械痛阈值与热痛阈值( $P<0.01$ ); 华蟾素组抑制大鼠DRG中TrkA、p75NTR和SP蛋白表达( $P<0.05$ 、 $0.01$ ), 上调MOR蛋白表达( $P<0.01$ )。华蟾素+NGF组激活大鼠DRG中TrkA、p75NTR和SP的表达( $P<0.01$ ), 抑制MOR的表达( $P<0.05$ )。结论 华蟾素可能通过调节内源性NGF抑制TrkA、p75NTR的表达, 激活MOR, 并能够减少SP的释放, 最终参与骨癌痛的镇痛过程。

**关键词:** 华蟾素; 骨癌痛; 神经生长因子;  $\mu$ 阿片受体; 原肌球蛋白受体激酶A; p75神经营养受体

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)17-5427-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.17.019

## Mechanism of cinobufagin in treatment of bone cancer pain based on regulation of nerve growth factor in dorsal root ganglion

LIU Ya-li<sup>1</sup>, LIU Dan<sup>2</sup>, ZHANG Wen<sup>3</sup>, CHEN Tao<sup>1,4</sup>, HU Wei<sup>1,4</sup>

1. Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443003, China

2. Huanggang Traditional Chinese Medicine Hospital, Huanggang 438000, China

3. Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

4. Third-grade Pharmacological Laboratory on Traditional Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China Three Gorges University, Yichang 443003, China

**Abstract: Objective** To investigate the mechanism of cinobufagin in the treatment of bone cancer pain based on regulation of nerve growth factor (NGF) in dorsal root ganglion (DRG) of rats with bone cancer pain. **Methods** SD female rats with pain thresholds meeting the conditions were screened to construct a bone cancer pain model and randomly divided into normal group, sham group, model group, cinobufagin group, cinobufagin + NGF group and anti-NGF group. Cinobufagin group and cinobufagin + NGF group were ip cinobufagin on 7th day after modeling, and the other groups were given an equal volume of normal saline; Cinobufagin + NGF group and anti-NGF group were administered by intrathecal intubation on 12th day after modeling. After intubation administration, rats were treated for 21 d after modeling. The changes of pain threshold before and after the rat model were detected; Western blotting was used to detect tropomyosin receptor kinase A (TrkA) and p75 neurotrophin receptor (p75NTR),  $\mu$  opioid receptor (MOR) and

收稿日期: 2022-04-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81503381)

作者简介: 刘亚丽(1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药理。E-mail: 532869674@qq.com

\*通信作者: 胡卫(1977—), 女, 副教授, 研究生导师, 主要从事中药治疗恶性肿瘤及其并发症研究。E-mail: huwei@ctgu.edu.cn

neurotransmitter substance P (SP) protein expressions in DRG of rats in each group; Immunohistochemistry was used to detect the expression of MOR in DRG of rats in each group; Immunofluorescence double-labeling was used to detect the co-expression of MOR and TrkA in DRG of rats in each group. **Results** Compared with model group, cinobufacin significantly increased the mechanical pain threshold and thermal pain threshold ( $P < 0.01$ ); Cinobufacin inhibited TrkA, p75NTR and SP protein expressions in DRG of rats ( $P < 0.05, 0.01$ ), up-regulated MOR protein expression ( $P < 0.01$ ). Cinobufacin + NGF activated the protein expressions of TrkA, p75NTR and SP in DRG of rats ( $P < 0.01$ ), and inhibited the expression of MOR ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Cinobufacin may activate MOR by inhibiting the expression of NGF and its receptors TrkA and p75NTR, and thus reduce the release of SP, and finally participate in analgesic process of bone cancer pain.

**Key words:** cinobufagin; bone cancer pain; nerve growth factor;  $\mu$  opioid receptor; tropomyosin receptor kinase A; p75 neurotrophin receptor

癌症引起的骨痛 (cancer-related bone pain, CIBP) 是恶性肿瘤转移至骨组织引起的常见的、不易控制的症状之一, 并使患者的功能状态、生活质量和生存率受到损害<sup>[1-2]</sup>。乳腺癌、前列腺癌、肺癌等常见的恶性肿瘤均有转移到骨骼的倾向<sup>[3]</sup>。目前, 骨转移性疼痛治疗采用的世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 推荐的三步“镇痛阶梯”方法, 具有耐受性、成瘾性、以及胃肠道等不良反应, 限制了其长期和广泛使用<sup>[4]</sup>。因此, 研究骨癌痛的发生发展机制, 开发新的治疗骨癌痛有效药物仍然是恶性肿瘤治疗中的重大问题。

近年来, 中医药在癌痛的辅助治疗中应用逐渐增多, 能够缓解癌痛发生的频率和程度, 显著改善患者的症状, 从而改善患者的生活质量<sup>[5]</sup>。华蟾素是我国自主研发的二类新药, 对于骨癌痛“邪毒瘀结、本虚标实”的病机特点, 华蟾素既能清热解毒、消肿散结以治其实, 又能扶正以治其虚, 在治疗骨癌痛方面表现出较好的疗效<sup>[6]</sup>。本课题组前期研究发现骨癌痛模型大鼠背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 中神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 表达明显升高, 而华蟾素能够明显降低其表达。但其调节骨癌痛的作用机制尚不清楚, 本研究拟在前期基础上进一步深入研究华蟾素镇痛的作用机制。

## 1 材料

### 1.1 动物

60 只 SPF 级 SD 雌性大鼠, 6~8 周龄, 体质量 180~200 g, 购自三峡大学实验动物中心, 实验动物许可证号 SCXK (鄂) 2017-0061。动物分笼饲养于 12 h/12 h 昼夜交替的独立环境, 室温, 湿度 55%~65%, 自由进食饮水。动物实验方案和流程经三峡大学实验动物伦理委员会审批 (批准号 2020B0103)。

### 1.2 细胞

Walker 256 乳腺癌细胞由上海中医药大学附属龙华医院肿瘤研究所提供, 保存于-80 °C 冰箱中。

### 1.3 药品与试剂

华蟾素注射液 (国药准字 Z34020274, 5 mL/支, 批号 150723-25) 购自安徽华润金蟾药业股份有限公司; NGF (批号 115W023) 购自北京索莱宝科技有限公司; anti-NGF (批号 156631) 购自上海 MCE 公司; 原肌球蛋白受体激酶 A (tropomyosin receptor kinase A, TrkA) 抗体 (批号 GR3328871-2)、 $\mu$  阿片受体 ( $\mu$  opioid receptor, MOR) 抗体 (批号 GR3313405-3) 购自英国 Abcam 公司; p75 神经营养受体 (p75 neurotrophin receptor, p75NTR) 抗体 (批号 4126T) 购自美国 CST 公司; P 物质 (substance P, SP) 抗体 (批号 16-0086-65) 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;  $\beta$ -actin 抗体 (批号 AC-15)、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体 (批号 BST13G19G54)、HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 抗体 (批号 BST13H27C51)、FITC 标记的羊抗兔 IgG 抗体 (批号 BST13L22C05)、Cy3 标记的羊抗兔 IgG 抗体 (批号 BST13K05A31) 购自武汉博士德生物工程有限公司。

### 1.4 仪器

PL-200 型热辐射刺痛仪 (成都泰盟科技有限责任公司); 2390 型 Von Frey 电子测痛仪 (美国 IITC 公司); m $\mu$ ISKANMK3 型酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); DY CZ-40 型电泳仪 (北京六一仪器厂); PE-10 导管 (美国 Intramedic 公司)。

## 2 方法

### 2.1 动物分组及给药

SD 大鼠随机分为正常组、假手术组、模型组、华蟾素组、华蟾素+NGF 组和 anti-NGF 组, 每组 10 只, 其中正常组不做处理, 假手术组右侧后肢肢

骨注射 10  $\mu\text{L}$  生理盐水, 其余各组注入等体积的 Walker 256 细胞制备骨癌痛模型。从造模第 7 天开始, 华蟾素组和华蟾素+NGF 组 ip 华蟾素 (5 mL/kg), 其余各组 ip 等体积生理盐水; 第 10 天各组大鼠鞘内插管; 自第 12 天开始, 华蟾素+NGF 组和 anti-NGF 组分别鞘内给予 NGF (0.1  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , 2 次/d) 及 anti-NGF (1  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , 2 次/d), 假手术组及华蟾素组鞘内给予生理盐水。造模 21 d 后处理大鼠。

## 2.2 骨癌痛模型的制备

大鼠麻醉后, 在右侧后肢胫骨处消毒后作 1 cm 切口, 分离肌肉, 用注射器针头钻孔, 至骨髓血液无明显外流后, 缓慢注入 Walker 256 细胞 10  $\mu\text{L}$  (细胞浓度为  $4 \times 10^7/\text{mL}$ ), 注射完毕后用医用无菌骨蜡封住针孔, 常规消毒伤口<sup>[7]</sup>。

## 2.3 鞘内插管

大鼠麻醉后, 碘伏消毒, 注射器刺破脊髓 L5~6 硬膜, 尾巴出现颤动或忽然甩动为穿刺成功的标志, 将 PE-10 聚乙烯导管插入 L4~5 脊髓处, 可见导管内有清亮脑脊液流出, 封外口, 做皮下隧道将导管外端从颈部引出, 以免咬断<sup>[8]</sup>。

## 2.4 大鼠机械痛及热痛行为学检测

分别在造模前及造模后第 2、5、7、9、12、14、16 天检测各组大鼠右后肢机械痛阈值和热痛阈值。大鼠处于安静环境中, 室温 ( $22 \pm 1$ )  $^{\circ}\text{C}$ , 机械性痛觉超敏采用电子测痛仪测定, 热痛觉过敏采用辐射热测痛仪测定。将大鼠分别置于底为网格的特制有机玻璃内和底为光滑玻璃的有机玻璃格子内, 适应一段时间待大鼠安静后, 用电子测痛仪的探针和强热光束分别刺激大鼠左右后足脚掌中部皮肤, 观察大鼠缩足反应并记录大鼠的机械性阈值和热痛阈值。每只大鼠测定 3 次, 取平均值, 机械痛前后 2 次不同刺激间隔为 10 min, 热痛上限值定为 20 s。

## 2.5 Western blotting 法检测大鼠 DRG 相关蛋白的表达

实验最后 1 d 处理大鼠, 取左侧 DRG, 加入 RIPA 裂解液匀浆, 提取蛋白, 蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 封闭后分别加入一抗, 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜; TBST 洗涤, 加入二抗, 于 37  $^{\circ}\text{C}$  摇床上振荡 2 h; TBST 洗涤, 将 ECL 试剂中的增强液同稳定的过氧化物酶溶液等体积混合, 滴于 PVDF 膜上反应, 在 Bioshine ChemiQ4800 mini 化学发光成像系统中成像, 最后用 BandScan 软件分析条带灰度值。

## 2.6 免疫组化检测 DRG 中 MOR 蛋白表达

取各组大鼠左侧 DRG, 经多聚甲醛后固定、30%蔗糖脱水后, 冰冻冠状切片, 收集切片于 0.01 mol/L PBS 中, 每个标本分别选择 5 张切片, 加入配制好的 MOR 抗体 (1:100), 于 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育 12 h; 依次加入生物素标记的二抗、亲和素-生物素-过氧化物酶孵育后, 以 3,3'-二甲联苯胺呈色。显色完成后将切片置于载玻片上, 常规乙醇脱水, 二甲苯透明, 明胶封片, 于光学显微镜下观察 MOR 阳性表达情况并拍照。

## 2.7 免疫荧光检测 MOR 与 TrkA 共表达

取各组大鼠左侧 DRG, 经固定、脱水后切片, 加入预先配制的一抗 TrkA (1:100), 于 4  $^{\circ}\text{C}$  湿盒中孵育 15 h; PBS 溶液洗涤切片 3 次后, 加入预先配制的 FITC 标记的羊抗兔 IgG 抗体 (1:100), 室温孵育 1 h; PBS 溶液洗涤玻片 4 次, 加入预先配制的山羊血清, 室温封闭 30 min, 以降低非特异性染色现象; 然后滴入一抗 MOR (1:100)、CGRP (1:100), 置于 4  $^{\circ}\text{C}$  湿盒中避光孵育 15 h; PBS 溶液洗涤玻片 3 次后, 加入 Cy3 标记的羊抗兔/小鼠 IgG 抗体, 室温下湿盒中孵育 1 h, PBS 液体冲洗切片 4 次。加入 DAPI 避光 5 min, 复染核, PBS 溶液冲洗 4 次, 用吸水纸吸走多余的液体, 晾干, 封片液进行封片, 于荧光显微镜下观察, 采集图像。

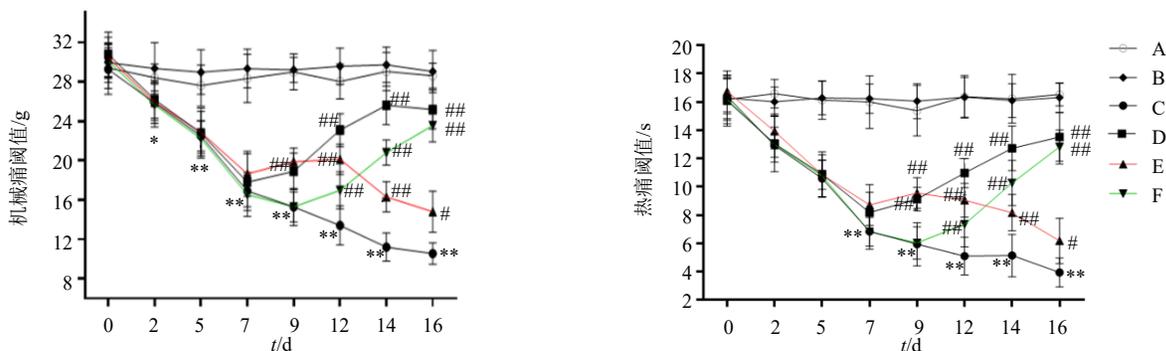
## 2.8 统计分析

所有的计量资料均用  $\bar{x} \pm s$  表示, 用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计学分析, 方差齐时用 LSD 法进行分析, 方差不齐时, 用 Tamhane's  $T_2$  法进行分析。多组间的比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 检验。

## 3 结果

### 3.1 华蟾素及 NGF 对骨癌痛大鼠机械痛和热痛的影响

如图 1 所示, 造模前各组大鼠机械痛阈值和热痛阈值无明显差异。造模后, 与正常组比较, 各组大鼠机械痛阈值和热痛阈值逐渐降低; 与模型组比较, 华蟾素组大鼠在第 7 天给药后机械痛阈值和热痛阈值逐渐升高, 第 9 天出现统计学差异 ( $P < 0.01$ ), 华蟾素+NGF 组大鼠机械痛阈值和热痛阈值在给药后先升高, 在第 12 天鞘内给药后逐渐受到抑制 ( $P < 0.01$ ), 而 anti-NGF 组大鼠在第 12 天时鞘内给予 anti-NGF 后机械痛阈值和热痛阈值均显著升高 ( $P < 0.01$ )。



A-正常组 B-假手术组 C-模型组 D-华蟾素组 E-华蟾素+NGF 组 F-anti-NGF 组 与正常组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ , 下图同

A-normal group B-sham group C-model group D-cinobufagin group E-cinobufagin + NGF group F-anti-NGF group \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs normal group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group, same as below figures

图 1 华蟾素及 NGF 对骨癌痛大鼠机械痛阈值和热痛阈值的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 1 Effect of cinobufacin and NGF on mechanical pain thresholds and thermal pain thresholds in rats with bone cancer pain ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

### 3.2 华蟾素及 NGF 对骨癌痛大鼠 DRG 中 TrkA 和 p75NTR 蛋白表达的影响

如图 2 所示, 与正常组比较, 模型组和华蟾素+NGF 组大鼠 DRG 中 TrkA 和 p75NTR 蛋白表达水平明显升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 华蟾素组和 anti-NGF 组 TrkA 和 p75NTR 蛋白表达水平均明显降低 ( $P < 0.01$ )。

### 3.3 华蟾素及 NGF 对骨癌痛大鼠 DRG 中 MOR 蛋白表达的影响

采用 Western blotting 检测各组大鼠 DRG 中 MOR 蛋白表达, 如图 3-a 所示, 与正常组比较, 模型组和华蟾素+NGF 组大鼠 DRG 中 MOR 蛋白表

达显著降低 ( $P < 0.05, 0.01$ ); 与模型组比较, 华蟾素组和 anti-NGF 组 MOR 蛋白表达水平明显升高 ( $P < 0.01$ )。

采用免疫组化检测各组大鼠 DRG 中 MOR 蛋白表达, 如图 3-b 所示, 正常组大鼠 DRG 中细胞质或胞膜中表达 MOR, 即阳性表达 (胞质或胞膜被染成棕黄色)。造模后, 模型组大鼠阳性着色部位较正常组明显减少 ( $P < 0.01$ ), 华蟾素组较模型组阳性着色显著增多 ( $P < 0.01$ )。华蟾素+NGF 组大鼠 DRG 中少量阳性表达, 着色深度较华蟾素组浅, 且少于正常组 ( $P < 0.05$ )。anti-NGF 组阳性染色部位较模型组增加 ( $P < 0.01$ )。

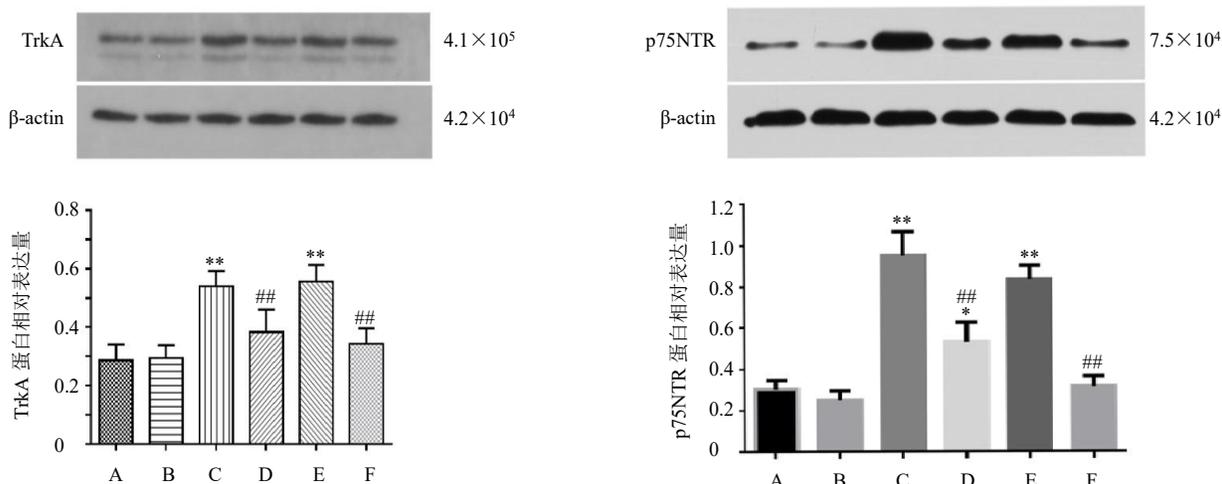


图 2 华蟾素及 NGF 对骨癌痛大鼠 DRG 中 TrkA 和 p75NTR 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 2 Effect of cinobufacin and NGF on TrkA and p75NTR protein expressions in DRG of rats with bone cancer pain ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

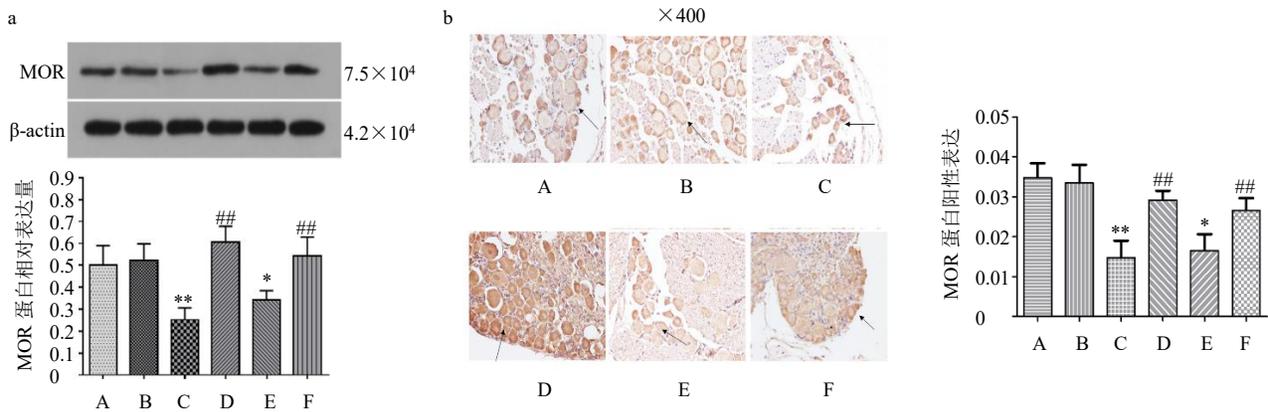


图3 Western blotting (a) 及免疫组化法 (b) 检测华蟾素及 NGF 对骨癌痛大鼠 DRG 中 MOR 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  
Fig. 3 Effect of cinobufacin and NGF on MOR protein expression in DRG of rats with bone cancer pain detected by Western blotting (a) and immunohistochemistry (b) ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

### 3.4 华蟾素及 NGF 对骨癌痛大鼠 DRG 中神经递质 SP 蛋白表达的影响

如图 4 所示, 与正常组比较, 模型组和华蟾素+NGF 组大鼠 DRG 中 SP 蛋白表达水平明显升高 ( $P < 0.01$ ); 华蟾素组和 anti-NGF 组大鼠 DRG 中 SP 蛋白表达水平明显降低 ( $P < 0.05$ )。

### 3.5 华蟾素及 NGF 对骨癌痛大鼠 DRG 中 MOR 与 TrkA 共表达的影响

采用免疫荧光双标检测各组大鼠 DRG 中 MOR 与 TrkA 共表达情况, 如图 5 所示, 正常组大鼠 DRG 中所有 MOR 表达阳性神经元与共表达 TrkA。造模后, MOR 与 TrkA 表达量呈相反趋势。模型组与华蟾素+NGF 组大鼠 DRG 中 TrkA 表达上调, 而 MOR 表达受到抑制。在华蟾素组与 anti-NGF 组大鼠的 DRG 中, MOR 表达上调, TrkA 的表达受到抑制。

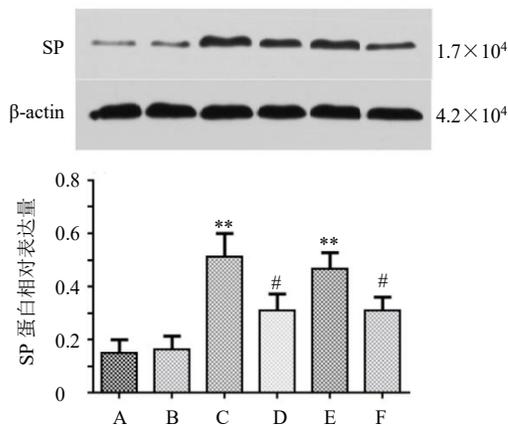


图4 华蟾素及 NGF 对骨癌痛大鼠 DRG 中 SP 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  
Fig. 4 Effect of cinobufacin and NGF on SP protein expression in DRG of rats with bone cancer pain ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

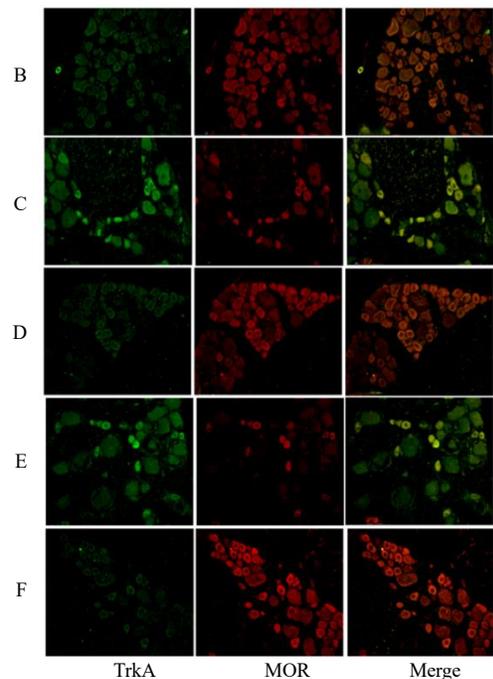


图5 各组大鼠 DRG 中 MOR 与 TrkA 共表达情况 ( $\times 400$ )  
Fig. 5 Co-expression of MOR with TrkA in DRG of mice in each group ( $\times 400$ )

## 4 讨论

骨癌痛是癌症患者常见的并发症, 与肿瘤增殖、浸润、侵袭及骨组织结构的破坏和神经纤维的病理性改变密切相关, 肿瘤常引起 DRG 内神经元受体和通道改变, 导致外周神经敏化, 参与疼痛的传导过程<sup>[9-10]</sup>。NGF 是第 1 个被发现的神经营养因子, 为产生疼痛的重要介质<sup>[11]</sup>。研究表明, NGF 及其受体 TrkA 与 P75NTR 在骨癌痛大鼠 DRG 中的表达量明显升高, 并且鞘内注射 anti-NGF 能够明显提高骨癌痛大鼠的机械痛阈值与热痛阈值, 说明 NGF 在

DRG 中的表达能够参与骨癌痛疼痛信号的传递过程<sup>[9,12]</sup>。MOR 主要在 DRG 内的痛觉 C 和 A 纤维中的胞体中表达<sup>[13]</sup>。大量证据表明, 炎性疼痛增加了这些神经元的 MOR 表达, 导致受体从 DRG 向感觉神经元神经末梢的轴突运输增强。这种 MOR 表达的上调只发生在同侧 DRG, 表明局部炎症介质调节周围感觉神经元的阿片受体表达<sup>[14-15]</sup>。

本研究结果显示, 华蟾素能够通过抑制内源性 NGF 的表达和活性参与疼痛信号的过程, 发挥镇痛作用。采用 Western blotting 和免疫组化法检测 MOR、TrkA、p75NTR 在 DRG 的表达与活性, 发现华蟾素能够明显上调 MOR 的表达, 抑制 TrkA、p75NTR 的表达; 鞘内注射 anti-NGF 后, MOR 的表达上调, TrkA、p75NTR 表达降低, 此结果与 Yang 等<sup>[5]</sup>研究一致; 华蟾素+NGF 组在使用华蟾素治疗的基础上同时鞘内给予 NGF, MOR 的表达量明显低于华蟾素组, TrkA、p75NTR 的表达量上调, 说明华蟾素是通过抑制内源性 NGF 的表达释放, 从而减少其受体的激活, 促进 MOR 表达活化增多, 参与疼痛信号的传递。SP 作为感觉神经元活化的一个标志, 是疼痛传导过程中重要的神经递质, 诱发痛觉过敏与超敏<sup>[16]</sup>。采用 Western blotting 检测 SP 在 DRG 中的表达, 结果表明华蟾素能够通过抑制 NGF 表达, 明显下调 SP 在骨癌痛大鼠 DRG 中的表达。免疫荧光检测 MOR 与 TrkA 在 DRG 中共表达结果显示, 正常大鼠 DRG 中 TrkA 与 MOR 共表达且部位相同; 模型组的结果提示骨癌痛能够激活 TrkA, 并且同时抑制 MOR 的激活; 给予华蟾素或 anti-NGF 后, MOR 激活增加, TrkA 活化受到抑制; 华蟾素+NGF 组与模型组有类似的结果, 提示 NGF 通过激活的下游受体 TrkA, 发挥抑制 MOR 的活化的作用, 华蟾素能够调节此通路参与镇痛过程。因此, 华蟾素发挥类似 anti-NGF 的作用, 通过抑制 NGF, 减少其受体的激活, 进而促进 MOR 的表达, 从而对骨癌痛大鼠发挥镇痛作用。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Mantyh P W. Bone cancer pain: From mechanism to therapy [J]. *Curr Opin Support Palliat Care*, 2014, 8(2): 83-90.
- [2] Jimenez-Andrade J M, Mantyh W G, Bloom A P, et al. Bone cancer pain [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1198(1): 173-181.
- [3] Lozano-Ondoua A N, Symons-Liguori A M, Vanderah T W. Cancer-induced bone pain: Mechanisms and models [J]. *Neurosci Lett*, 2013, 557: 52-59.
- [4] Mercadante S, Fulfaro F. Management of painful bone metastases [J]. *Curr Opin Oncol*, 2007, 19(4): 308-314.
- [5] Yang B, Zhang Z, Yang Z, et al. Chanling Gao attenuates bone cancer pain in rats by the IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 525.
- [6] 吴宏磊, 陈进宝, 徐可, 等. 华蟾素抗肿瘤作用及其机制研究进展 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(2): 192-196.
- [7] 焦良波, 刘丹, 陈涛, 等. 华蟾素对骨癌痛大鼠镇痛机制探讨 [J]. *中草药*, 2020, 51(14): 3734-3741.
- [8] 王心怡, 曾华倩, 胡卫. 华蟾素通过抑制脊髓 CCL2/CCR2 途径及小胶质细胞的活化缓解骨癌痛 [J]. *药学报*, 2020, 55(1): 67-73.
- [9] 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.
- [10] Falk S, Dickenson A H. Pain and nociception: Mechanisms of cancer-induced bone pain [J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(16): 1647-1654.
- [11] Hirose M, Kuroda Y, Murata E. NGF/TrkA signaling as a therapeutic target for pain [J]. *Pain Pract*, 2016, 16(2): 175-182.
- [12] Denk F, Bennett D L, McMahon S B. Nerve growth factor and pain mechanisms [J]. *Annu Rev Neurosci*, 2017, 40: 307-325.
- [13] Stein C, Schäfer M, Machelska H. Attacking pain at its source: New perspectives on opioids [J]. *Nat Med*, 2003, 9(8): 1003-1008.
- [14] Puehler W, Rittner H L, Mousa S A, et al. Interleukin-1 beta contributes to the upregulation of kappa opioid receptor mRNA in dorsal root ganglia in response to peripheral inflammation [J]. *Neuroscience*, 2006, 141(2): 989-998.
- [15] Mousa S A, Cheppudira B P, Shaqura M, et al. Nerve growth factor governs the enhanced ability of opioids to suppress inflammatory pain [J]. *Brain*, 2007, 130(Pt 2): 502-513.
- [16] 赵国敏, 尹金淑. P 物质及其受体神经激肽 1 受体与疼痛的相关性研究 [J]. *医学综述*, 2015, 21(16): 2890-2893.

[责任编辑 李亚楠]