

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2025.10.005

• 论 著 •

电针通过 CXCR4-NLRP3 通路参与调控小鼠
骨癌痛的机制研究 *黄今朝^{1,2,3} 阚厚铭^{1,2,3} 申 文^{4△}

(¹徐州医科大学江苏省麻醉学重点实验室, 徐州 221000; ²徐州医科大学江苏省麻醉与镇痛应用技术重点实验室, 徐州 221000; ³国家药品监督管理局麻醉精神药物研究与评价重点实验室, 徐州 221000; ⁴徐州医科大学附属医院疼痛科, 徐州 221000)

摘 要 目的: 观察电针 (electroacupuncture, EA) 对骨癌痛 (bone cancer pain, BCP) 模型小鼠的镇痛效应, 并研究电针对 BCP 小鼠脊髓内趋化因子受体 4 (C-X-C chemokine receptor type 4, CXCR4) 和其下游 NLRP3 炎症小体 (NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3, NLRP3) 通路的影响, 探索电针缓解骨癌痛的作用机制。方法: 骨癌痛模型建立评价部分: 将 C57BL/6 小鼠随机分为对照组 (Control)、模型组 (BCP); 电针疗效观察部分: 在骨癌痛模型基础上, 将小鼠分为模型组 (BCP)、模型 + 电针组 (BCP + EA); 电针镇痛机制探索部分: 进一步设立模型 + 电针 + 溶剂组 (BCP + EA + Vehicle)、模型 + 电针 + 激动剂组 (BCP + EA + SDF-1), 每组 6 只。使用 Lewis 肺癌细胞, 注射 C57BL/6 小鼠股骨, 建立癌痛动物模型。需要电针治疗的组别在造模后第 8 天至第 14 天在左侧足三里和昆仑穴电针, 每日 1 次。观察各组小鼠左后足的机械刺激缩足反射阈值 (mechanical withdrawal threshold, MWT) 和热缩足反射潜伏期 (thermal withdrawal latency, TWL)。采用免疫印迹检测小鼠 L₄~L₆ 脊髓内 CXCR4、NLRP3、caspase-1、IL-1 β 的表达。结果: 与对照组相比, BCP 组小鼠从第 7 天开始 MWT 和 TWL 显著降低, CXCR4、NLRP3、caspase-1、IL-1 β 表达明显升高; 与 BCP 组相比, BCP + EA 组 MWT 和 TWL 明显升高, CXCR4、NLRP3、caspase-1、IL-1 β 表达明显降低; 与 BCP + EA + Veh 组相比, BCP + EA + SDF-1 组 MWT 和 TWL 明显降低, CXCR4、NLRP3、caspase-1、IL-1 β 表达明显升高。结论: 电针治疗可以缓解 BCP 模型小鼠的痛觉过敏, 这一作用可能与电针抑制 CXCR4 通路激活有关。

关键词 骨癌痛; 疼痛; 电针; 趋化受体因子 4; NLRP3 炎症小体

The mechanism of electroacupuncture in regulating bone cancer pain in mice through the CXCR4-NLRP3 pathway *HUANG Jin-zhao^{1,2,3}, KAN Hou-ming^{1,2,3}, SHEN Wen^{4△}

(¹ Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesiology, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221000, China;

² Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesia and Analgesia Application Technology, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221000, China; ³ NMPA Key Laboratory for Research and Evaluation of Narcotic and Psychotropic Drugs, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221000, China; ⁴ Department of Pain Medicine, The Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221000, China)

Abstract Objective: To observe the analgesic effect of electroacupuncture (EA) on bone cancer pain (BCP) model mice, and to study the effect of electroacupuncture on chemotactic receptor factor 4 (CXCR4) and its downstream NLRP3 inflammasome signaling pathway in the spinal cord of BCP mice, and to explore the basic mechanism of electroacupuncture in relieving bone cancer pain. **Methods:** In the first part of the experiment, C57BL/6 mice were randomly divided into a control group (Control) and a model group (BCP). In the second

* 基金项目: 徐州重点研发计划 (KC22235); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目 (KYCX23_2962)

△ 通信作者 申文 shenwen670201@163.com



part, they were divided into a model group (BCP) and a model + electroacupuncture group (BCP + EA). In the third part, they were divided into a model + electroacupuncture + solvent group (BCP + EA + Vehicle) and a model + electroacupuncture + agonist group (BCP + EA + SDF-1), with 6 mice in each group. Animal models of femoral cancer pain in C57BL/6 mice were established using Lewis lung cancer cells. Groups requiring electroacupuncture treatment received electroacupuncture at the Sanli and Kunlun points on the left foot on day 8 after modeling, once daily until day 14. Mechanical withdrawal threshold (MWT) for mechanical stimulation and thermal withdrawal latency (TWL) for thermal pain stimulation were observed in the left hind paw of mice in each group. The expression of CXCR4, NLRP3, caspase-1, and IL-1 β in the spinal cord (L₄-L₆) of mice were detected by immunoblotting. **Results:** In comparison with the control group, mice in the BCP group showed significantly decreased MWT and TWL and markedly increased expression of CXCR4, NLRP3, caspase-1, and IL-1 β from day 7. Compared with the BCP group, the BCP + EA group showed significantly increased MWT and TWL and markedly decreased the expression of CXCR4, NLRP3, caspase-1, and IL-1 β . Compared with the BCP + EA + Veh group, the BCP + EA+SDF-1 group showed significantly decreased MWT and TWL and markedly increased CXCR4, NLRP3, caspase-1, and IL-1 β expression. **Conclusion:** Electroacupuncture treatment can alleviate nociceptive hypersensitivity in BCP model mice, and this effect may be related to the inhibition of CXCR4 pathway activation by electroacupuncture.

Keywords bone cancer pain; pain; electroacupuncture; CXCR4; NLRP3 inflammasome

骨癌痛是由骨原发肿瘤和/或肿瘤转移破坏骨骼引起的慢性疼痛，作为最常见的慢性癌性疼痛类型，该病症与乳腺癌、前列腺癌和肺癌的骨转移密切相关，仅美国每年就有 30 万新增病例^[1]。骨癌痛是一种机制复杂的慢性疼痛^[2]，同时具有神经病理性疼痛和炎性痛的特征，其发病机制涉及中枢敏化、神经炎症、胶质细胞活化和肿瘤微环境等^[3,4]。目前对于癌痛的治疗世界卫生组织 (WHO) 推荐使用癌症三阶梯疗法，但是长期服用非甾体抗炎药物和阿片类药物往往伴随着不良反应，如胃肠道反应、药物依赖、恶心以及严重的呼吸抑制等^[5]。因此，寻找新的治疗方法，既能有效镇痛又不伴有严重的不良反应具有重大的社会意义。

CXCR4 是基质衍生因子-1 (stroma-cell derived factor-1, SDF-1) 的受体，是跨膜 G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptors, GPCR) 家族的成员^[6]，在介导免疫及炎症反应、调控造血、诱导血管生成、肿瘤侵袭转移等多种生理病理过程中发挥重要作用^[7]。既往研究表明，SDF-1 与 CXCR4 结合可激活细胞内信号转导途径，并参与骨癌痛的发生发展^[8-10]。同样，NLRP3 炎症小体介导的信号通路在炎性疼痛、神经病理性疼痛以及癌症相关性疼痛中发挥着重要的作用^[11,12]。此外，还有研究发现在小鼠坐骨神经慢性压迫损伤模型中 CXCR4 介导 NLRP3 激活诱发疼痛^[13]。

电针是传统针灸和现代电疗法的结合。研究表明电针对于急性、慢性疼痛有着良好的治疗效果，

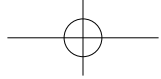
有学者在临床工作中也将电针作为癌痛镇痛的一种替代疗法，发现电针对于癌痛镇痛效果良好^[14,15]。动物实验研究也表明电针对 BCP 有镇痛作用^[16]。此外，在复杂性区域疼痛综合征模型中发现，电针可以通过抑制 CXCR4 发挥镇痛效应^[17]。然而，目前 CXCR4 在电针对骨癌痛的镇痛作用和机制仍不清楚，且电针对骨癌痛镇痛机制的研究较少。因此，本研究旨在揭示电针通过抑制 CXCR4-NLRP3 通路缓解骨癌痛模型动物疼痛的作用机制，从而为电针治疗骨癌痛的临床应用提供理论依据。

方 法

1. 实验材料

(1) 实验动物：6~8 周龄 SPF 级健康雄性 C57BL/6 小鼠 50 只，体重 20~25 g，购自徐州医科大学动物中心（动物许可证号：SYSK(苏)2023-0011），并在徐州医科大学实验动物中心饲养，室温 (20±2)℃，12 h/12 h 光/暗循环，自由摄水摄食，在实验开始前，小鼠要提前适应条件 3 天。所有实验方案均得到徐州医科大学动物伦理委员会批准（伦理批号：202211S016），并符合国家卫生研究所实验动物护理和使用指南和国际疼痛学会疼痛研究指南。

(2) 主要实验试剂与仪器：小鼠 Lewis 肺癌细胞（海星生物，TCM-C742）；兔多克隆抗体 Anti-CXCR4 (Novus, NB100-74396)；兔单克隆抗



体 Anti-NLRP3 (ABclonal, A24294); 兔单克隆抗体 Anti-caspase-1 (HuaBio, SU40-07); 鼠单克隆抗体 Anti-IL-1 β (HuaBio, A7F7-R); 兔单克隆抗体 Anti-GAPDH (HuaBio, ET1601-4); 仙鹤电子针灸理疗仪 (重庆航天火箭电子技术有限公司, HJ200); von Frey 测痛纤维丝 (Ugo basile, 37450-275)。

2. 方法

(1) 分组和骨癌痛小鼠模型建立: 骨癌痛模型建立评价部分: 将 C57BL/6 小鼠随机分为对照组 (Control)、模型组 (BCP); 电针疗效观察部分: 在骨癌痛模型基础上, 将小鼠分为模型组 (BCP)、模型 + 电针组 (BCP + EA); 电针镇痛机制探索部分: 进一步设立模型 + 电针 + 溶剂组 (BCP + EA + Vehicle)、模型 + 电针 + 激动剂组 (BCP + EA + SDF-1), 每组 6 只。采用既往文献的造模方法^[18], 小鼠使用 3% 异氟烷进行麻醉。剃去左腿浅表毛发, 碘伏消毒, 用 20 μ l 显微注射器将 10 μ l 的 LLC 细胞悬液缓慢注射到左股骨远端髓腔内。注射后将注射器尖端停留 90 s, 等待细胞填充骨髓。取针后, 用无菌骨蜡密封注射孔, 防止细胞渗漏。对照组小鼠左股骨注射 10 μ l 无菌 PBS。

(2) 电针干预: 在造模后第 8 天开始至第 14 天, 每日给予 1 次电针干预, 选取造模侧“足三里”和“昆仑”穴, 穴位参照高等教育“十四五”规划教材《实验针灸学》(第十一版), 电针干预结束时间和测痛开始时间间隔 1 小时。采用 0.18 mm $\times$ 13 mm 一次性毫针, 进针后连接“HJ200 仙鹤电子针灸理疗仪”, 治疗参数: 治疗频率为 2 Hz, 时间 30 min, 刺激电流 0.5 mA。第二部分模型组小鼠选取相同穴位针刺, 但不通电。

(3) 机械痛检测: 机械刺激缩足反射阈值 (mechanical withdrawal threshold, MWT) 采用 von Frey 纤维丝作为小鼠机械痛耐受的指标, 所有测试均在有机玻璃合成的透明盒子中进行。小鼠先提前 3 天适应实验环境, 正式测试前再适应 40 min。待其安静后, 首先从 0.4 g 开始测量, 将纤维丝弯成 S 状保持 5 s, 观察小鼠是否出现缩足反应, 如果出现则为阳性反应, 则记为“X”, 反之则为阴性, 记为“O”, 阳性则使用相邻小一级的纤维丝, 阴性相反, 两次间隔时间不少于 5 min。将第 1 次阳性反应前一个阴性作为起点, 连续测量 6 次, 使用“up-down”方法计算 MWT 阈值。

(4) 热痛检测: 测量辐射热刺激下的热缩足反射潜伏期 (thermal withdrawal latency, TWL) 作为热疼痛耐受性的指标。测试在有机玻璃盒中进行, 该

盒放置玻璃板上, 配备有控制辐射热源。实验开始使用热源照射小鼠后足, 当小鼠缩足时, 照射终止。为了避免组织损伤, 照射时间最长 20 s, 每次照射间隔大于 10 min, 总共照射 3 次。

(5) 免疫印迹检测: 取小鼠 L₄~L₆ 节段的脊髓, 加入到微量离心管中, 加入适量 RIPA 裂解液, 剪碎, 使用超声匀浆仪匀浆。4 $^{\circ}$ C, 转速 12,000 rpm/min 离心 15 min, 抽取上清液, BCA 法测浓度, 使用 RIPA 裂解液配平, 配平后加入上样缓冲液, 95 $^{\circ}$ C 加热变性 5 min 后, 分装放在 -80 $^{\circ}$ C 备用。将蛋白按照 30 μ g 上样量计算上样体积。使用 8%~12% SDS-PAGE 胶进行电泳, 电泳完成转印到 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h。一抗包括兔源 Anti-CXCR4 (Novus, NB100-74396), 兔源 Anti-NLRP3 (ABclonal, A24294), 鼠源 Anti-Caspase-1 (HuaBio, SU40-07), 鼠源 Anti-IL-1 β (HuaBio, A7F7-R), 兔源 Anti-GAPDH (HuaBio, ET1601-4)。4 $^{\circ}$ C 摇床一抗孵育过夜, 使用 TBST 漂洗 5 min $\times$ 3 次。使用辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔和山羊抗鼠室温孵育 2 h, 用 TBST 漂洗 5 min $\times$ 3 次。加入 ECL 发光液在曝光机下显影, 得到的图片使用 imageJ 进行灰度值分析, GAPDH 做为内参。

3. 统计学分析

本研究数据采用 GraphPad Prism 9.0 进行统计分析和作图, 计量资料采用均数 $\pm$ 标准误 ($\bar{x} \pm SEM$) 表示。组间比较采用独立样本 *t* 检验, 单时间点多组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 多组别且多个时间点之间比较采用 Two-way ANOVA (Bonferroni's multiple comparison test) 分析。检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

1. BCP 小鼠模型的建立和评价

为了评价 BCP 小鼠模型建立是否成功, 随机将小鼠分为对照组和模型组, 分别在造模前 1 天和造模后第 3、5、7、10、14 天进行疼痛行为学测定 (见图 1A)。行为学结果显示, 在接种 LLC 细胞后第 5 天开始, 造模侧 (左侧) 后足 MWT (见图 1B) 和 TWL (见图 1C) 相较于对照组均有明显的降低 ($P < 0.01$), 并在 7~14 天保持了较低的水平, 提示小鼠左后足出现了明显的痛觉过敏。

2. 电针对 BCP 模型小鼠疼痛过敏的干预作用

为了检测电针是否对 BCP 小鼠有镇痛效应, 在造模后第 8~14 天, 给予小鼠电针干预治疗, 每

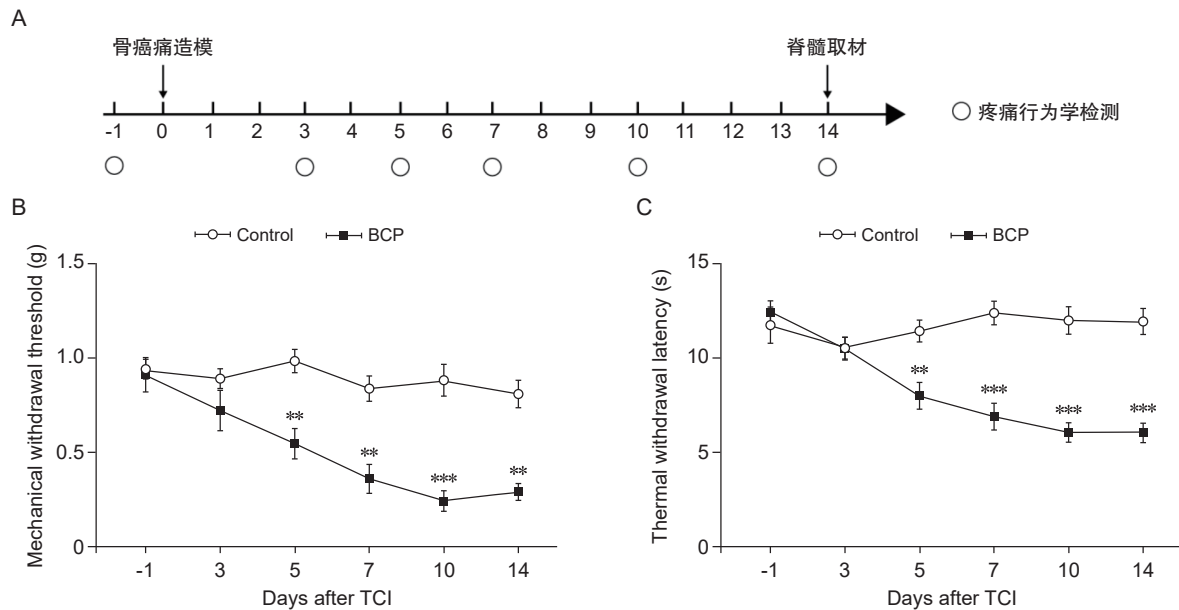


图 1 骨癌痛模型建立和评价 ($n = 6, \bar{x} \pm SEM$)
(A) 实验流程图, 包括造模时间、行为学测定时间、取材时间; (B) 不同时间点的机械刺激缩足反射阈值; (C) 不同时间点的热缩足反射潜伏期
 $**P < 0.01$, $***P < 0.001$, 与对照组相比

Fig. 1 Bone cancer pain modelling and evaluation ($n = 6, \bar{x} \pm SEM$)
(A) The following flow chart provides a comprehensive overview of the experimental procedure, delineating the temporal framework encompassing modelling, behavioural measurements, and sampling; (B) Mechanical withdrawal threshold at different time points; (C) Thermal withdrawal latency at different time points.
 $**P < 0.01$, $***P < 0.001$, compared with control group.

日 1 次, 分别在第 0、7、8、10、12、14 天进行行为学检测 (见图 2A)。实验结果显示, 与模型组比较, 模型 + 治疗组小鼠 MWT 和 TWL 均有明显上升 ($P < 0.05$, 见图 2B, 2C)。以上结果提示电针可以有效缓解 BCP 小鼠的疼痛过敏。

3. BCP 小鼠脊髓中 CXCR4 及其相关信号分子的表达变化和电针对其的干预作用

在造模后的第 14 天进行脊髓取材进行免疫印迹实验。与对照组相比, 模型组 CXCR4、NLRP3、caspase-1、IL-1 β 蛋白表达明显升高 ($P < 0.001$), 而经过电针干预治疗后, 模型 + 治疗组这些分子的蛋白表达相较于模型组显著降低 ($P < 0.05, P < 0.01$, 见图 3)。以上结果提示在骨癌痛小鼠脊髓中 CXCR4 信号通路被激活, 而电针的干预可以抑制以上信号分子的激活。

4. 外源性的 SDF-1 注射激动 CXCR4 逆转电针对 BCP 小鼠的镇痛效应

为了进一步确认电针是通过抑制 CXCR4 信号通路发挥对 BCP 小鼠的镇痛效应, 对小鼠进行了外源性的 SDF-1 鞘内注射 ($2 \mu\text{g}/10 \mu\text{l}$)。从造模后的第 12 天开始, 在电针治疗前 1 h, 给予小鼠连续 3 天

的激动剂鞘内注射 (见图 4A)。与模型 + 电针 + 溶剂组相比, 模型 + 电针 + 激动剂组的 MWT 和 TWL 明显降低 ($P < 0.05$, 见图 4B, 4C)。CXCR4、NLRP3、caspase-1、IL-1 β 的免疫印迹结果也显示, 与溶剂组相比, 激动剂组这些分子的蛋白表达显著升高 ($P < 0.01, P < 0.001$, 见图 5)。以上结果表明 CXCR4 的激活逆转了电针对 BCP 小鼠的镇痛效应。

讨 论

疼痛是癌症病人面临的严重问题, 它不仅给病人带来身体上的痛苦, 且影响病人的心理健康和生活质量^[19], 而目前对于癌痛的治疗手段往往伴随着严重的不良反应^[20], 因此寻找更加有效、不良反应更小的治疗方法具有非常重要的临床意义。本研究通过在小鼠股骨腔注射肺腺癌细胞建立 BCP 小鼠模型, MWT 和 TWL 下降表明 BCP 模型成功建立。免疫印记结果显示 BCP 建模后小鼠 L₄~L₆ 脊髓中 CXCR4、NLRP3、caspase-1 和 IL-1 β 的蛋白表达升高, 这与既往的研究一致^[21,22]。随后通过给予小鼠电针治疗确定电针对 BCP 小鼠具有一定的镇痛效应, 在

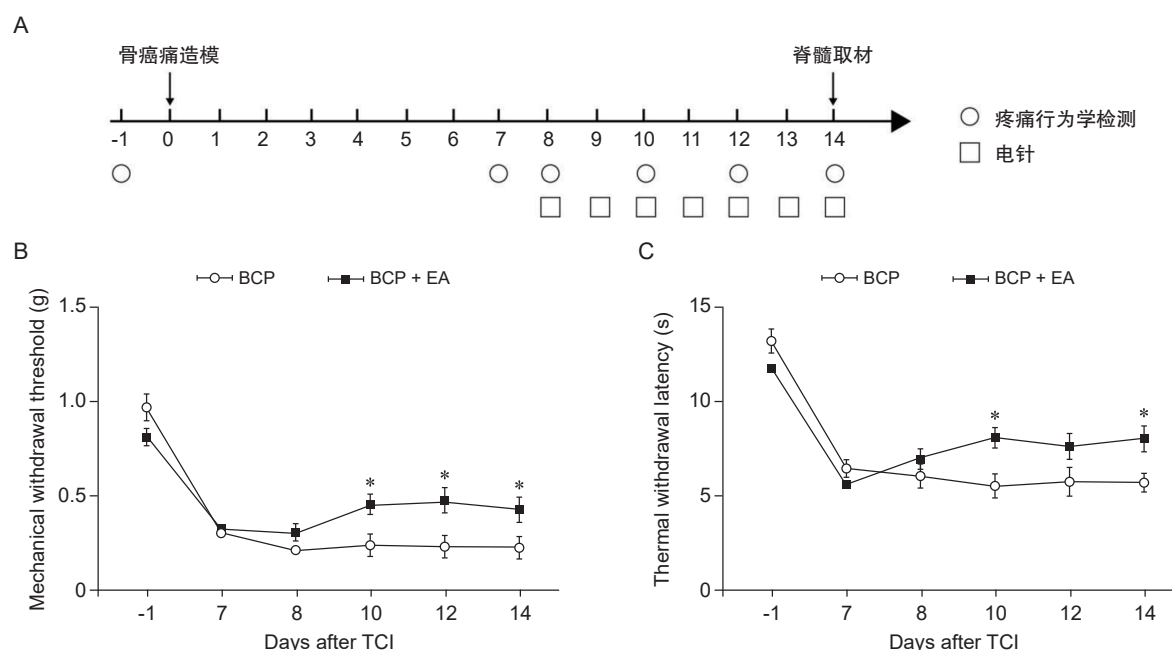


图2 电针对小鼠的镇痛效应 ($n = 6$, $\bar{x} \pm SEM$)

(A) 实验流程图, 包括造模时间、行为学测定时间、取材时间和电针干预时间, 电针干预参数: 治疗频率 2 Hz、时间 30 min、刺激电流 0.5 mA; (B) 电针干预后机械刺激足反射阈值变化; (C) 电针干预后热缩足反射潜伏期变化

* $P < 0.001$, 与 BCP 组相比

Fig. 2 Analgesic effects of electroacupuncture in mice ($n = 6$, $\bar{x} \pm SEM$)

(A) The following flow chart provides a comprehensive overview of the experimental procedure, delineating the time frame including modelling, behavioural measurements, sampling, and electro-acupuncture interventions, parameters of electroacupuncture intervention: treatment frequency 2 Hz, duration 30 min, stimulation current 0.5 mA; (B) Changes in mechanical withdrawal threshold after electroacupuncture intervention; (C) Changes in thermal withdrawal latency after electroacupuncture intervention.

* $P < 0.01$, compared with BCP group.

机制上可能与电针可以抑制小鼠脊髓上 CXCR4 介导的 NLRP3 通路激活有关。更重要的是电针的镇痛效果和相关的细胞分子表达变化均可以被 CXCR4 的激活剂所逆转。以上结果说明电针对 BCP 模型小鼠的镇痛效应可能与电针可以抑制 CXCR4-NLRP3 通路激活有关。

脊髓中活化的胶质细胞可以释放趋化因子或者细胞因子导致神经元敏化, 从而促进骨癌痛^[4]。Shen 等^[21]研究发现, BCP 模型中 SDF-1 在脊髓星形胶质细胞中表达增加, 作用于神经元上的 CXCR4 从而诱发疼痛。还有研究发现, NLRP3 在脊髓背角上的神经元、小胶质细胞、星形胶质细胞均有表达, NLRP3 的激活可以诱导小胶质细胞活化从而引起神经炎症导致中枢敏化, 而且通过药理学抑制 NLRP3 可以缓解骨癌痛^[22]。最新研究证据表明, CXCR4-NLRP3 信号轴在疼痛调控中具有重要作用。在小鼠坐骨神经慢性压迫损伤模型中, 靶向抑制 CXCR4 可通过调控脊髓胶质细胞中 TXNIP/

NLRP3 炎症轴激活来缓解神经病理性疼痛^[23]。此外, 在椎间盘退变模型中, SDF-1 的释放可激活 CXCR4, 进而通过 NF- κ B/NLRP3 信号通路介导髓核细胞焦亡, 导致腰痛发生; 而调控 SDF1/CXCR4-NF- κ B-NLRP3 信号轴则可有效抑制髓核细胞焦亡, 缓解椎间盘退变相关疼痛^[24]。这些研究结果提示, CXCR4-NLRP3 信号轴作为外周敏化的关键调控通路, 可能为疼痛治疗提供新的分子靶点。本研究显示, 肿瘤细胞在股骨内生长可以激活小鼠脊髓中细胞膜上的 CXCR4, 进一步介导细胞内 NLRP3 信号通路转导, 导致疼痛的发生。

多个实验已经证明电针在骨癌痛治疗中的有效性^[25,26]。足三里和昆仑穴电针治疗对炎性疼痛、神经病理性疼痛和癌症相关性疼痛均有显著的治疗效果, 然而其机制目前尚不明确。Wang 等^[27]通过对 BCP 大鼠背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 的磷酸化蛋白质组学分析, 结果显示哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信

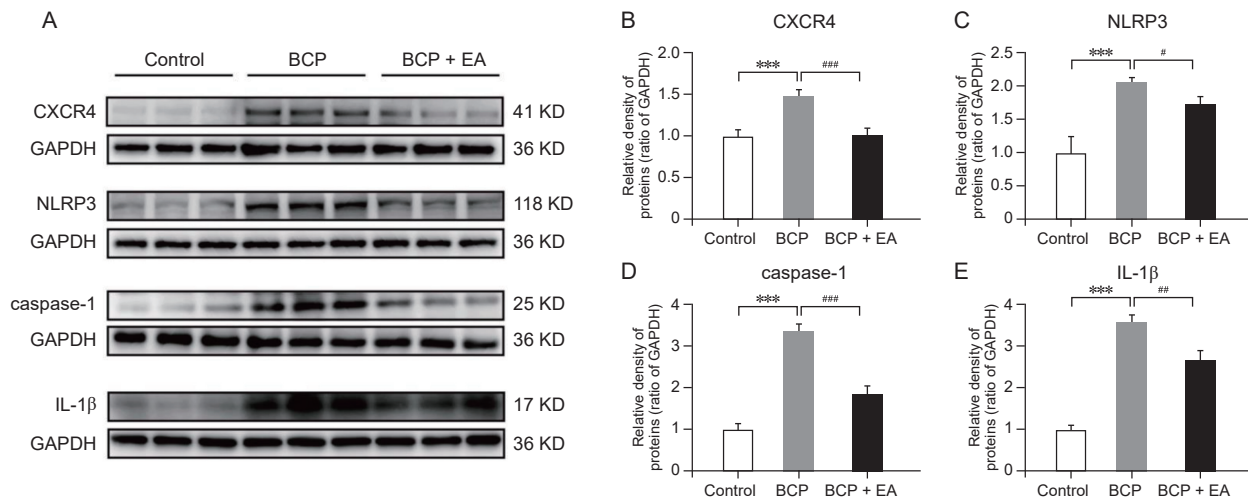


图 3 电针降低小鼠脊髓内 CXCR4、NLRP3、caspase-1、IL-1 β 的表达 ($n = 6$, $\bar{x} \pm SEM$)
(A) 免疫印迹法检测小鼠 L₄~L₆ 脊髓中 CXCR4、NLRP3、caspase-1、IL-1 β 以及 GAPDH 表达的代表图像; (B-E) 经 GAPDH 标准化后的蛋白表达统计图
*** $P < 0.001$, 与对照组相比; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与 BCP + EA 组相比

Fig. 3 Expression levels of CXCR4, NLRP3, caspase-1, and IL-1 β in the spinal cord of mice ($n = 6$, $\bar{x} \pm SEM$)
(A) Representative images of CXCR4, NLRP3, caspase-1, IL-1 β , and GAPDH expression in the spinal cord of mice from L₄~L₆ detected by immunoblotting; (B-E) Statistical images of protein expression after normalization to GAPDH.
*** $P < 0.001$, compared with control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with BCP + EA group.

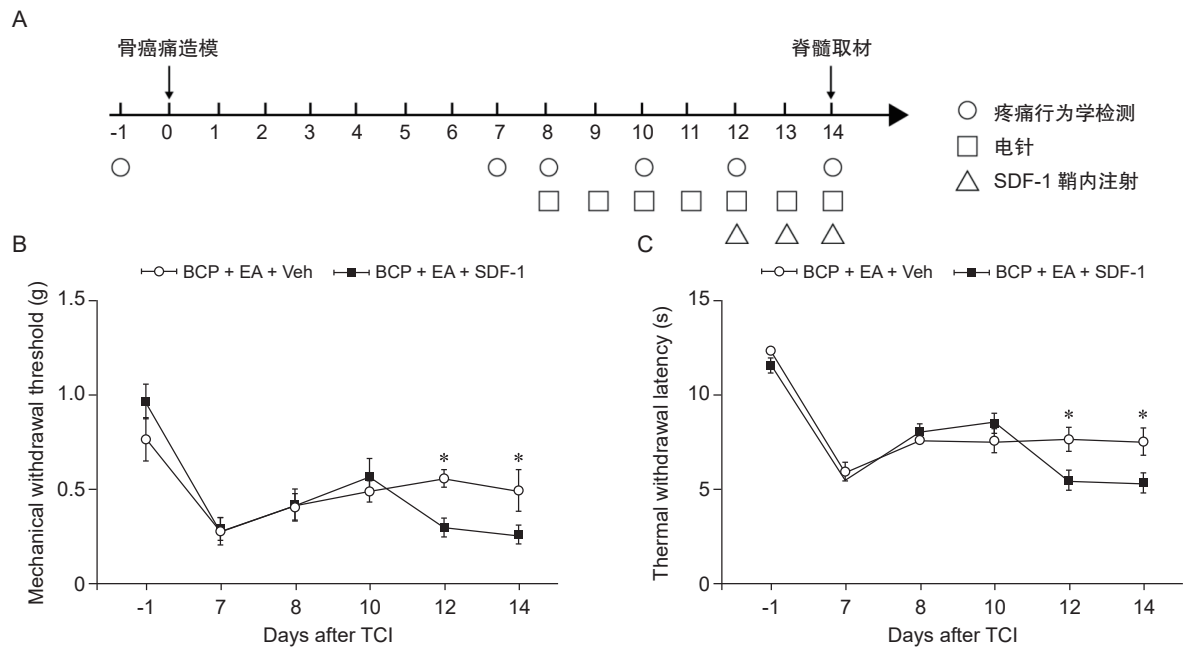


图 4 鞘内注射 SDF-1 逆转电针对小鼠的镇痛效应 ($n = 6$, $\bar{x} \pm SEM$)
(A) 实验流程图, 包括造模时间、行为学测定时间、取材时间、电针干预时间以及 SDF-1 鞘内注射时间; (B) SDF-1 鞘内注射后机械刺激缩足反射阈值变化; (C) SDF-1 鞘内注射后热缩足反射潜伏期变化
* $P < 0.05$, 与 BCP + EA + Veh 组相比

Fig. 4 Intrathecal injection of SDF-1 reverses the analgesic effect of electroacupuncture in mice ($n = 6$, $\bar{x} \pm SEM$)
(A) The following flow chart provides a comprehensive overview of the experimental procedure, delineating the timeframe including modelling, behavioural measurements, sampling, electro-acupuncture interventions and intrathecal injection of SDF-1; (B) Changes in mechanical withdrawal threshold after intrathecal injection of SDF-1; (C) Changes in thermal withdrawal latency after intrathecal injection of SDF-1.
* $P < 0.05$, compared with BCP + EA + Veh group.

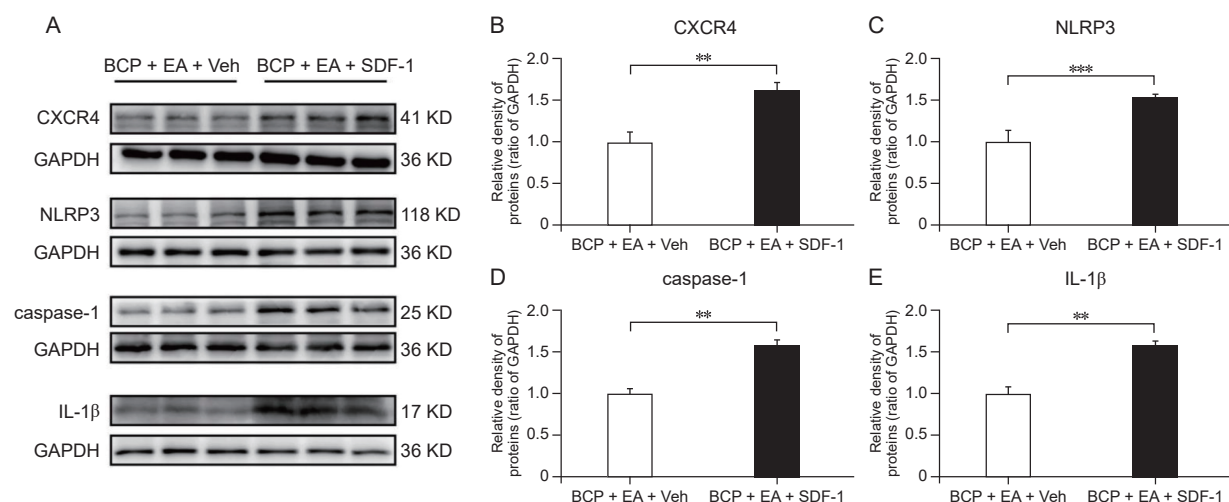


图 5 鞘内注射 SDF-1 逆转了电针对小鼠脊髓内 CXCR4、NLRP3、caspase-1、IL-1β 的抑制作用 ($n = 6, \bar{x} \pm SEM$) (A) 免疫印迹法检测小鼠 L₄~L₆ 脊髓中 CXCR4、NLRP3、caspase-1、IL-1β 以及 GAPDH 表达的代表图像; (B-E) 经 GAPDH 标准化后的蛋白表达统计图

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与 BCP + EA + Veh 组相比

Fig. 5 Intrathecal injection of SDF-1 reverses the inhibitory effects of electroacupuncture on CXCR4, NLRP3, caspase-1, and IL-1β in the mouse spinal cord ($n = 6, \bar{x} \pm SEM$)

(A) Representative images of CXCR4, NLRP3, caspase-1, IL-1β, and GAPDH expression in the spinal cord of mice from L₄~L₆ detected by immunoblotting; (B-E) Statistical images of protein expression after normalization to GAPDH.

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, compared with BCP + EA + Veh group.

号通路在 BCP 模型中显著升高且在电针治疗后表达下降。Tian 等^[28]发现电针可以通过抑制 BCP 大鼠 DRG 中的嘌呤能 P2X₃ 受体 (purinergic P2X₃ receptor, P2X₃R) 的过表达发挥镇痛效应。而在复杂性区域疼痛综合征模型中研究者通过电针抑制脊髓背角神经元 CXCR4 和 NLRP3 的激活,并减弱了脊髓背角脊髓细胞的过度激活从而改善大鼠的异常疼痛行为^[17,29]。因此本研究假设 CXCR4-NLRP3 通路和电针治疗骨癌痛的机制有关。本研究结果表明,骨癌痛模型小鼠经过电针治疗后,MTW 和 TWL 明显提高,CXCR4、NLRP3、caspase-1 和 IL-1β 的表达相比模型组显著降低,表明电针可以抑制 BCP 模型小鼠脊髓中 CXCR4 通路的激活。为了进一步探究电针是否通过 CXCR4 发挥镇痛效应,给予小鼠鞘内注射 SDF-1 (CXCR4 特异配体)。行为学结果显示,CXCR4 的激活逆转了电针的镇痛效应。

目前电针治疗骨癌痛应用的最多电流参数为频率 2 Hz、2/100 Hz、100 Hz 和电流 0.5~2 mA^[30]。对于电针的参数设定,有研究者认为镇痛效果和频率无关,出现这种情况可能是因为目前大部分电针治疗仪参数设定和实际输出值有一定的出入,且不同设备之间也有很大的差别,因此不同研究者的参数设定会不一样。通过对其他研究者方法的总结和本研究预实验筛选,治疗频率为 2 Hz、电流

0.5 mA、刺激时间 30 min 为最佳的治疗参数。

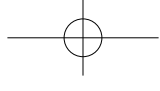
综上所述,本研究结果表明电针通过抑制 CXCR4-NLRP3 通路的激活改善 BCP 模型小鼠疼痛行为,为临床电针治疗 BCP 提供重要的思路和理论依据。

然而本研究仅证明了电针可能是通过抑制脊髓 CXCR4 信号通路激活发挥对 BCP 小鼠的镇痛效应,对于神经元和胶质细胞是否参与了这个过程,具体又是如何参与仍需进一步补充研究,且本研究仅聚焦于脊髓水平探究电针的镇痛效应,在外周水平(如 DRG)仍需要进一步深入探索。

利益冲突声明:作者声明本文无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Huang JF, Shen J, Li X, *et al.* Incidence of patients with bone metastases at diagnosis of solid tumors in adults: a large population-based study[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(7):482.
- [2] 杨雪伟,袁贤达,田越,等.淫羊藿素联合吗啡对骨癌痛小鼠的镇痛效应研究[J]. *中国疼痛医学杂志*, 2024, 30(1):28-37.
- [3] Zheng XQ, Wu YH, Huang JF, *et al.* Neurophysiological mechanisms of cancer-induced bone pain[J]. *J Adv Res*, 2021, 35:117-127.
- [4] Yang Y, Yang W, Zhang R, *et al.* Peripheral mechanism



- of cancer-induced bone Pain[J]. *Neurosci Bull*, 2024, 40(6):815-830.
- [5] He Y, Guo X, May BH, *et al*. Clinical evidence for association of acupuncture and acupressure with improved cancer pain: a systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA Oncol*, 2020 1, 6(2):271-278.
- [6] Wescott MP, Kufareva I, Paes C, *et al*. Signal transmission through the CXCR4 chemokine receptor 4 (CXCR4) transmembrane helices[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(35):9928-9933.
- [7] 李园园, 胡奇妙, 台燕, 等. CXCL12/CXCR4 信号通路参与慢性痛机制的研究进展 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2019, 25(9):690-694.
- [8] Peng C, Chen XT, Xu H, *et al*. Role of the CXCR4/ALK5/Smad3 signaling pathway in cancer-induced bone pain[J]. *J Pain Res*, 2020, 13:2567-2576.
- [9] Hu XM, Zhang H, Xu H, *et al*. Chemokine receptor CXCR4 regulates CaMKII/CREB pathway in spinal neurons that underlies cancer-induced bone pain[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):4005.
- [10] Xu H, Peng C, Chen XT, *et al*. Chemokine receptor CXCR4 activates the RhoA/ROCK2 pathway in spinal neurons that induces bone cancer pain[J]. *Mol Pain*, 2020, 16:1744806920919568.
- [11] Chen C, Smith MT. The NLRP3 inflammasome: role in the pathobiology of chronic pain[J]. *Inflammopharmacology*, 2023, 31(4):1589-1603.
- [12] Chen SP, Zhou YQ, Wang XM, *et al*. Pharmacological inhibition of the NLRP3 inflammasome as a potential target for cancer-induced bone pain[J]. *Pharmacol Res*, 2019, 147:104339.
- [13] Huang A, Ji L, Huang Y, *et al*. miR-185-5p alleviates CCI-induced neuropathic pain by repressing NLRP3 inflammasome through dual targeting MyD88 and CXCR4[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 104:108508.
- [14] Crockett SD, Greer KB, Heidelbaugh JJ, *et al*. American gastroenterological association institute clinical guidelines committee. american gastroenterological association institute guideline on the medical management of opioid-induced constipation[J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(1):218-226.
- [15] Paley CA, Bennett MI, Johnson MI. Acupuncture for cancer-induced bone pain[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 2011:671043.
- [16] Zhao YX, Yao MJ, Shen JW, *et al*. Electroacupuncture attenuates nociceptive behaviors in a mouse model of cancer pain[J]. *Mol Pain*, 2024, 20:17448069241240692.
- [17] Hu Q, Zheng X, Li X, *et al*. Electroacupuncture alleviates mechanical allodynia in a rat model of complex regional pain syndrome type-I via suppressing spinal CXCL12/CXCR4 Signaling[J]. *J Pain*, 2020, 21(9-10):1060-1074.
- [18] Fan LJ, Kan HM, Chen XT, *et al*. Vascular endothelial growth factor-A/vascular endothelial growth factor2 signaling in spinal neurons contributes to bone cancer pain[J]. *Mol Pain*, 2022, 18:17448069221075891.
- [19] Clézardin P, Coleman R, Puppo M, *et al*. Bone metastasis: mechanisms, therapies, and biomarkers[J]. *Physiol Rev*, 2021, 101(3):797-855.
- [20] Arthur J, Reddy A. Opioid prescribing in an opioid crisis: what basic skills should an oncologist have regarding opioid therapy[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2019, 20(5):39.
- [21] Shen W, Hu XM, Liu YN. CXCL12 in astrocytes contributes to bone cancer pain through CXCR4-mediated neuronal sensitization and glial activation in rat spinal cord[J]. *J Neuroinflammation*, 2014, 11:75.
- [22] Hu YD, Wang ZD, Yue YF, *et al*. Inhibition of HDAC6 alleviates cancerinduced bone pain by reducing the activation of NLRP3 inflammasome[J]. *Int J Mol Med*, 2024, 53(1):4.
- [23] Huang A, Ji L, Huang Y, *et al*. miR-185-5p alleviates CCI-induced neuropathic pain by repressing NLRP3 inflammasome through dual targeting MyD88 and CXCR4[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 104:108508.
- [24] Guo D, Cheng K, Song C, *et al*. Mechanisms of inhibition of nucleus pulposus cells pyroptosis through SDF1/CXCR4-NFkB-NLRP3 axis in the treatment of intervertebral disc degeneration by Duhuo Jisheng Decoction[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 124(Pt A): 110844.
- [25] 徐文清, 曾晓铃, 徐世芬, 等. 针刺治疗骨转移癌痛的临床及机制研究进展 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2024, 30(5):363-370.
- [26] 陈卓, 肖宏宇, 程祺. 针刺联合盐酸羟考酮控释片治疗椎体转移所致重度癌性疼痛的临床观察 [J]. *上海针灸杂志*, 2021, 40(4):411-415.
- [27] 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. *front pharmacol*[J]. 2021, 12:593043.
- [28] Tian SX, Xu T, Shi RY, *et al*. Analgesic effect of electroacupuncture on bone cancer pain in rat model: the role of peripheral P2X3 receptor[J]. *Purinergic Signal*, 2023, 19(1):13-27.
- [29] Zhang Y, Chen R, Hu Q, *et al*. Electroacupuncture ameliorates mechanical allodynia of a rat model of CRPS-I via suppressing NLRP3 inflammasome activation in spinal cord dorsal horn neurons[J]. *Front Cell Neurosci*, 2022, 16:826777.
- [30] 向庆东. 基于正交设计实验的骨癌痛大鼠电针镇痛治疗方案优选 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2019.