

• 基础研究 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2026.01.008

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20250723.1557.004\(2025-07-24\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20250723.1557.004(2025-07-24))

鞘内注射 agomiR-138-5p 对大鼠骨癌痛及脊髓 NF- κ B p65、p-p65 蛋白表达的影响*

余剑芒^{1,2} 杭黎华^{3 Δ}

(1. 天门市第一人民医院麻醉科,湖北天门 431700;2. 武汉科技大学职业危害识别与控制湖北省重点实验室,武汉 430065;3. 昆山市第一人民医院麻醉科,江苏昆山 215300)

[摘要] **目的** 探讨鞘内注射 agomiR-138-5p 对骨癌痛大鼠疼痛行为学及脊髓 NF- κ B p65、磷酸化 p65(p-p65)蛋白表达水平的影响。**方法** 从 GEO 数据库下载数据集 GSE137326,利用 R 软件筛选差异表达基因,并通过 TargetScan 和 miRDB 在线预测其上游靶向 miRNA。建立 SD 大鼠左胫骨 Walker256 乳腺癌细胞骨癌痛模型,采用影像学方法评估骨质破坏情况,并持续监测大鼠疼痛行为变化。将大鼠分为假手术组、骨癌痛组、骨癌痛大鼠鞘内注射阴性对照序列 agomiR NC 组(骨癌痛+agomiR NC 组)和骨癌痛大鼠鞘内注射 agomiR-138-5p 组(骨癌痛+agomiR-138-5p 组)。于造模第 15 天处死大鼠,取同侧脊髓背角组织,采用 RT-qPCR 检测 miR-138-5p 相对表达水平,Western blot 检测 NF- κ B p65、p-p65 蛋白表达水平。**结果** 生物信息学分析共筛选出 1 069 个差异表达基因,包括 1 024 个上调和 45 个下调基因,预测结果显示 miR-138-5p 可靶向结合 EZH2 基因。影像学及行为学表现证实骨癌痛模型构建成功。与假手术组比较,骨癌痛组大鼠脊髓中 miR-138-5p 相对表达水平降低,鞘内注射 agomiR-138-5p 可有效缓解疼痛($P < 0.05$)。骨癌痛组脊髓中 NF- κ B p65、p-p65 蛋白表达水平升高,而 agomiR-138-5p 干预后两者相对表达水平均降低,其中 p-p65 降低更明显($P < 0.05$)。**结论** 骨癌痛大鼠脊髓 miR-138-5p 相对表达水平下调,鞘内注射 agomiR-138-5p 能够缓解骨癌痛,并抑制脊髓中 NF- κ B p65、p-p65 蛋白的表达。

[关键词] 骨癌痛;差异表达基因;miR-138-5p;脊髓背角;NF- κ B p65

[中图法分类号] R738.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2026)01-0045-07

Effect of intrathecal injection of agomiR-138-5p on bone cancer pain in rats and protein expression of NF- κ B p65 and p-p65 in spinal cord*

YU Jianmang^{1,2}, HANG Lihua^{3 Δ}

(1. Department of Anesthesiology, Tianmen Municipal First People's Hospital, Tianmen, Hubei 431700, China; 2. Hubei Provincial Key Laboratory of Occupational Hazard Identification and Control, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430065, China; 3. Department of Anesthesiology, Kunshan Municipal First People's Hospital, Kunshan, Jiangsu 215300, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect of agomiR-138-5p intrathecal injection on the pain behaviors and expression levels of NF- κ B p65 protein and phosphorylated p65 (p-p65) protein in the spinal cord of the rats with bone cancer pain. **Methods** The dataset GSE137326 was download from the Gene Expression Omnibus (GEO), the R software was used to screen the differentially expressed genes, and their upstream target miRNA was online predicted by TargetScan and miRDB. The bone cancer pain model of Walker256 breast cancer cells in the left tibia of SD rats was established. The bone destruction situation was evaluated by the imageologic method. The change of rat pain behaviors was persistently monitored. The rats were divided into the sham operation group, bone cancer pain group, intrathecal injection of negative control sequence agomiR NC group (bone cancer pain+agomiR NC group) and bone cancer pain rats intrathecal injection of agomiR-138-5p group (bone cancer pain+agomiR-138-5p group). The rats were killed on 15 d after modeling. The spinal dorsal horn tissues on the same side were taken. The miR-138-5p relative expression level was measured by RT-qPCR, and the expression levels of NF- κ B p65 protein and p-p65 protein were measured by Western

* 基金项目:职业危害识别与控制湖北省重点实验室联合基金项目(JF2023-Y12)。 Δ 通信作者, E-mail: zhanglihua@foxmail.com。

blot. **Results** A total of 1 069 differentially expressed genes were screened by bioinformatics analysis, including 1 024 up-regulated and 45 down-regulated genes, and the prediction results indicated that miR-138-5p could target and bind to the EZH2 gene. The imageologic and behavioristic manifestations verified that the bone cancer pain model was successfully established. Compared with the sham operation group, the miR-138-5p relative expression level in the bone cancer pain group was decreased. The intrathecal injection of agomiR-138-5p could effectively relieve the pain ($P < 0.05$). The NF- κ B p65 and p-p65 protein expression levels in spinal cord of the bone cancer pain group were increased, but after agomiR-138-5p intervention, their relative expression levels were decreased, in which the decrease of p-p65 was more significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The spinal cord miR-138-5p relative expression level in bone cancer pain rats is down-regulated, the intrathecal injection of agomiR-138-5p could alleviate the bone cancer pain and inhibit the NF- κ B p65 and p-p65 protein expression in spinal cord.

[**Key words**] bone cancer pain; differentially expressed genes; miR-138-5p; spinal dorsal horn; NF- κ B p65

骨癌痛是一种复杂且持续的慢性疼痛,通常由癌细胞转移至脊髓腔或骨组织引起,是癌症患者常见的并发症之一。患者常表现为逐渐加重的持续性疼痛,并伴有难以预测的突破性疼痛发作^[1]。然而,目前骨癌痛的具体发生机制尚未完全阐明,这也导致其治疗上存在困难。尽管传统的“三阶梯镇痛”疗法在一定程度上能够控制疼痛,但仍有约 50% 的骨癌痛患者面临镇痛不足或治疗反应不佳的问题^[2]。因此,急需开发新的药物治疗策略,以实现针对癌症患者的个体化疼痛管理,从而缓解疼痛症状并改善其生活质量。在这一背景下,阐明骨癌痛的内在机制对于发展有效治疗模式至关重要。

越来越多的证据表明,微 RNA (microRNA, miRNA) 作为一类具有重要调控功能的小分子,参与多种疼痛相关蛋白的转录与翻译过程^[3-4]。miRNA 是一类长度为 18~25 个核苷酸的单链非编码 RNA,可通过与 mRNA 的 3' 或 5' 非翻译区结合,进而介导靶 mRNA 降解或调控蛋白质翻译^[4]。大量研究表明,miRNA 在癌症及其转移过程中发挥关键调控作用。据报道,miR-138 不仅广泛参与多种恶性肿瘤的进展并具有肿瘤抑制功能,还在成骨-破骨平衡中扮演重要角色^[5]。此外,miR-138-5p 也被证实参与促进乳腺癌的远处转移与疾病进展^[6]。核因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 是免疫系统中诱导基因表达的关键调节因子,在哺乳动物中,NF- κ B 家族包括 p50 (NF- κ B1)、p52 (NF- κ B2)、p65 (RelA)、c-Rel 与 RelB 5 个相关转录因子,广泛参与神经炎症、肿瘤等多种生理与病理过程。NF- κ B 的主要活性形式为由 p50 和 p65 组成的异源二聚体^[7],其经典激活途径涉及相关受体触发 IKK 复合物,进而促使 I κ B 磷酸化并降解,释放 NF- κ B 进入细胞核;该通路的终止依赖于负反馈机制(如 I κ B 再生、A20 对 IKK 的抑制)及其他抑制蛋白的作用,以维持动态平衡。另有研究指出,部分 miRNA 能够调控 NF- κ B 信号通路的活性^[8]。慢性疼痛相关研

究中发现,miR-138 参与调控坐骨神经损伤^[9]和部分坐骨神经结扎^[10]等神经病理性疼痛。在神经系统中,miR-138 呈低表达状态,并通过发挥神经保护及抗炎作用参与缓解疼痛过程。因此,本研究旨在探讨 miR-138 在骨癌痛发生、发展中的作用机制,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

成年 SD 大鼠(雌性,体重 90~120 g 或 130~170 g)购自昭衍(苏州)新药研发有限公司,随后被饲养在江苏大学附属昆山医院动物实验中心。大鼠保持昼夜各 12 h 的节律,能自由摄取食物和水,并控制室温(22±1)℃。待大鼠适应环境 3 d 后,体重 90~120 g 的大鼠被用于癌性腹水的培养,体重 130~170 g 的大鼠用于模型建立及后续的相关实验。本研究已通过天门市第一人民医院伦理委员会批准(审批号:科研会审第 20250241 号),且严格遵循国际疼痛研究协会(international association for the study of pain, IASP)科学研究大纲,确保实验符合伦理规范与科学要求。

1.1.2 试剂与仪器

Walker256 乳腺癌细胞株(苏州大学附属第一医院实验中心惠赠);逆转录试剂盒(江苏康为世纪生物科技股份有限公司);DMEM 高糖培养基(美国 Sigma-Aldrich 公司);山羊兔抗体(英国 Abcam 公司);rno-miR-138-5p agomiR 试剂(广州市锐博生物科技有限公司);纤毛刺激针(意大利 Ugo Basile 公司);Stoelting 超净台(苏州市净化设备总厂);MRI 仪(上海联影医疗科技股份有限公司);X 线摄片机(德国西门子公司);实时荧光定量 PCR 系统(美国 Ambion 公司);凝胶成像分析系统(德国耶拿分析仪器公司);蛋白电泳装置(美国 Bio-Rad 公司);荧光显微镜(日本 Olympus 公司);灭菌移液器枪头(美国 Sigma-Aldrich 公司)。

1.2 方法

1.2.1 数据库筛选目的基因及 miRNA

在基因表达 GEO 数据库中搜索并下载骨癌痛相关基因表达数据集 GSE137326, 利用 R 语言 Lima 包等函数分析骨癌痛大鼠脊髓背角差异表达基因, 将筛选出的目的基因输入在线数据库 TargetScan、miRDB, 预测其上游靶向结合的 miRNA。

1.2.2 实验分组

24 只大鼠用于模型验证实验, 分为对照组、Sham 组和 BCP 组, 每组 8 只。另 32 只大鼠用于药物干预实验, 分为假手术组、骨癌痛组、骨癌痛大鼠鞘内注射阴性对照序列 agomiR NC 组(骨癌痛 + agomiR NC 组)和骨癌痛大鼠鞘内注射 agomiR-138-5p 组(骨癌痛 + agomiR-138-5p 组), 每组 8 只。在 15 d 的实验周期中, 持续进行疼痛行为学检测, 然后在第 15 天处死大鼠, 每组中 4 只进行 RT-qPCR 用于提取 cDNA, 另 4 只行 Western blot 实验用于提取蛋白质。

1.2.3 骨癌痛模型建立

采用注射 Walker256 大鼠乳腺癌细胞株建立模型, 首先腹腔注射 4% 水合氯醛(400 mg/kg)麻醉大鼠, 待大鼠角膜反射消失后, 持无菌刀片削减大鼠左胫骨上部皮肤约 0.1 cm, 暴露胫骨平台, 用 22 G 针穿破骨质后, 使用 25 μ L 微注射器提取 10 μ L(1×10^5) 肿瘤细胞进入骨髓腔。停留 30 s 后拔出针, 用骨蜡封闭骨穿刺孔, 外涂青霉素钾, 肌肉和皮肤层用组织胶处理。建模过程严格遵循无菌原则, 排除腿部明显肿胀、伤口愈合不良的大鼠。

1.2.4 鞘内置管及给药

参照研究[11]中的鞘内置管方法, 于模型建立第 6 天将骨癌痛大鼠麻醉并固定于俯卧位手术台上。在胸腰椎段中间做 1 个长约 1 cm 的切口。分离脊柱两侧的肌肉, 暴露棘突, 保持过屈体位, 并在棘突下插入 PE-10 导管。当导管突破硬脑膜时, 大鼠的尾巴轻微摆动。导管的另一端通过两耳之间的皮下隧道进行鞘内给药, 连续 3 d 注射 8 万单位的青霉素钾到右髋关节以预防感染。大鼠苏醒后, 通过试管注射 2% 利多卡因 10 μ L, 用 10 μ L 生理盐水封闭试管。如果出现双下肢运动障碍, 则插管成功, 排除无瘫痪或单侧下肢麻木和永久性神经损伤的大鼠。

于模型建立第 6 天行脊髓鞘内置管, 于模型建立第 9~14 天, 每天 1 次连续注射药物 6 次。鞘内给药稀释选用 RNase-free 水将药物粉末溶解成浓度为 0.1 nmol/ μ L, 每次 10 μ L。

1.2.5 疼痛行为学测试

每天在同一时段测定各组大鼠行走痛评分及机械缩足阈值。上午 8:30, 将大鼠放在光滑的 PVC 桌

上(60 cm \times 60 cm)自由行走, 观察行走过程是否异常, 0 分为正常, 1 分为稍有跛行, 3 分为明显跛行, 2 分为跛行程度介于 1 分与 3 分之间, 4 分为左脚完全离开地面。上午 9:00 用 Von Frey 纤维丝(美国标准 1、2、4、6、6、8、10、15、26 g)检测大鼠机械疼痛敏感性, 刺激大鼠右后肢足底中部皮肤, 测量 3 次取平均值。

1.2.6 影像学检测

每组选取 2 只大鼠, 在第 0、6、9、12、15 天进行 MRI 及 X 射线检查评估 Walker256 接种引起的骨破坏程度。预先给予腹腔注射 300 mg/kg 的 4% 水合氯醛, 镇静后摆放大鼠至四肢伸展位, MRI 检测参数为 FOV 35 \times 35、分辨率 144 \times 100, X 射线检测参数为 46 kV、0.5 mA。

1.2.7 RT-qPCR

用 RNA 纯化试剂盒法提取组织总 RNA, 加尾法进行 cDNA 合成 mRNA。使用 2 \times miRNA qPCR master mix SYBR Green I 和 LightCycler 480 II 实时 PCR 系统对 cDNA 进行扩增和定量(退火温度 66 $^{\circ}$ C, 40 个循环), 检测 miR-138-5p 相对表达水平。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对实验结果进行统计分析, 每个标本设计 3 个复孔取平均值, 以 U6 为内参, 若 $2^{-\Delta\Delta Ct} > 1$, 说明目的基因表达水平升高, 反之降低。

1.2.8 Western blot

取腰膨大脊髓组织, 加入含复合酶抑制剂的 RIPA 裂解液(250 μ L/标本), 经机械匀浆和高速离心(12 000 g \times 15 min)获取上清液。定量与电泳: 采用 BCA 法精确测定蛋白浓度后, 制备含还原剂的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳上样体系, 经凝胶电泳分离目标蛋白。转印与封闭: 采用湿转法将蛋白转移至聚偏氟乙烯膜, 使用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭液(50 mL/膜)室温封闭 2 h。抗体孵育: 一抗选用兔源 NF- κ B p65 蛋白抗体(1 : 1 000, 美国 CST 公司)及磷酸化 p65(p-p65, S536)抗体(1 : 1 000, 英国 Abcam 公司), 内参为 β -actin(1 : 5 000, 英国 Abcam 公司), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。二抗采用山羊抗兔 IgG(1 : 5 000, 英国 Abcam 公司)室温摇床孵育 2 h, 间隔以 TBST 缓冲液充分洗脱。Western blot 检测各组大鼠脊髓中 NF- κ B p65、p-p65 蛋白表达水平。

1.3 统计学处理

采用 R4.4.3 软件分析 GEO 芯片数据, 并由 RStudio 软件进行可视化; 采用 SPSS22.0 软件进行数据分析, 统计图采用 GraphPad Prism8.0 软件绘制, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 比较采用 *t* 检验或单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

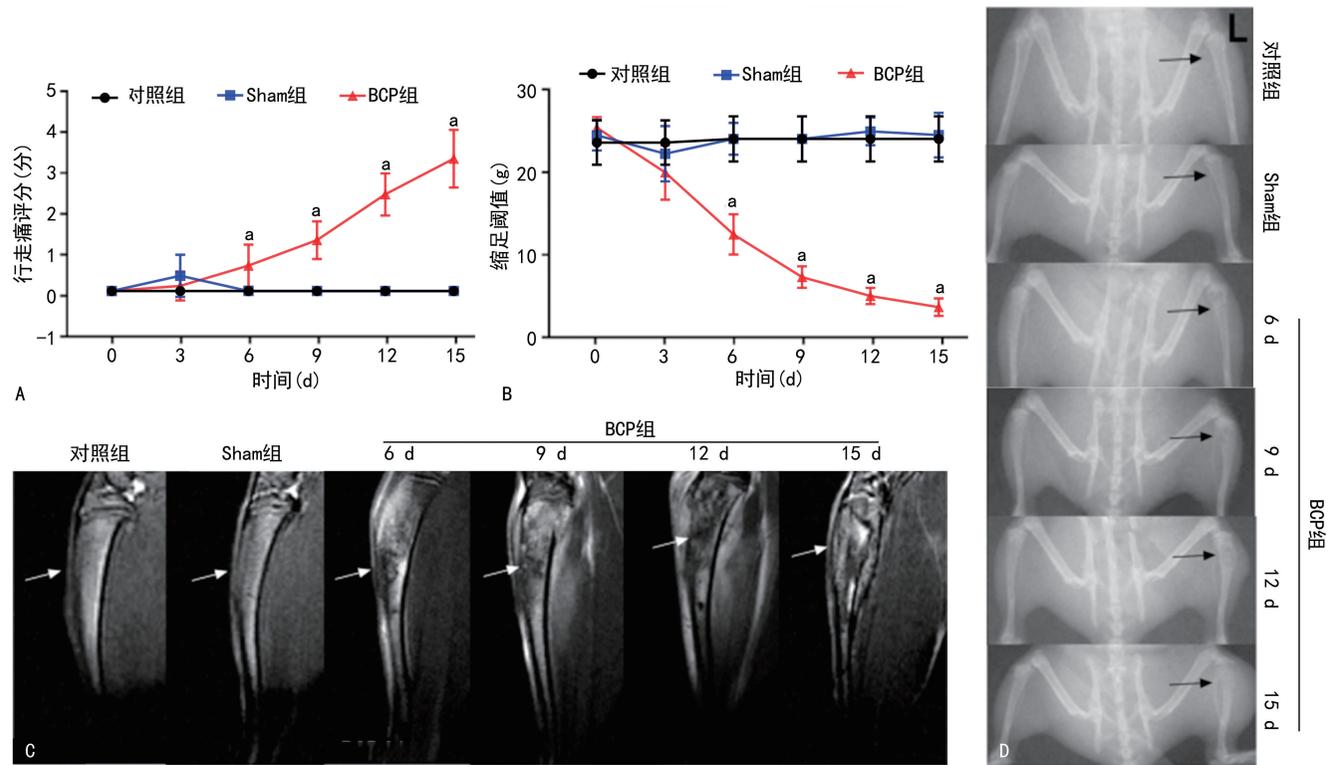
2.1 GSE137326 骨癌痛数据集分析

生物信息学分析共筛选出 1 069 个差异表达基因,包括 1 024 个上调和 45 个下调基因,筛选其中 1 个名为 EZH2 的上调基因,输入 TargetScan 及 miRDB 网站预测其上游 miRNA,结果显示 miR-138-5p 可能为其靶向 miRNA。

2.2 造模后 3 组大鼠疼痛行为学检测及影像学检查

从第 6 天起,BCP 组大鼠痛行为学差异逐渐增大,至第 15 天差异最明显。与 Sham 组比较,BCP 组行走痛评分从最开始的 0 分升高至第 15 天的 (3.25 ± 0.71) 分 ($P < 0.01$),PWT 从 (25.54 ± 1.30) g 降低至第 15 天的 (3.46 ± 1.07) g ($P < 0.01$)。对照组与 Sham 组大鼠胫骨影像学无明显异常,骨密度正

常,骨小梁完整,骨皮质连续;造模第 6 天 BCP 组 MRI 示胫骨外周骨皮质断裂,骨髓腔有炎症及肿瘤细胞浸润,胫骨旁肌肉组织开始肿胀,骨质破坏逐步发展;而造模第 15 天 BCP 组 MRI 可见胫骨外周骨皮质断裂更严重,呈虫蚀状骨破坏,骨髓腔炎性及肿瘤细胞浸润加深,胫骨旁肌肉组织肿胀更明显,表明骨质破坏随时间不断加重。造模第 6 天 BCP 组 X 线片可见左胫骨上端骨密度减低,骨小梁缺损,骨皮质不连续,已现骨质破坏迹象;而造模第 15 天 BCP 组 X 线片可见左胫骨上端骨质破坏加剧,骨密度减低更明显,骨小梁缺损扩大,骨皮质不连续加重,呈云雾状骨破坏,见图 1。



A:造模后 3 组行走痛评分比较 ($n=8$); B:造模后 3 组缩足阈值比较 ($n=8$); C:MRI 检测胫骨骨质破坏情况,箭头示病灶; D:X 射线检测胫骨骨质破坏情况,箭头示病灶; $^a: P < 0.05$,与 Sham 组比较。

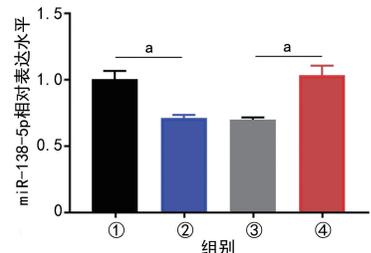
图 1 造模后 3 组大鼠疼痛行为学检测及影像学检查

2.3 大鼠脊髓背角 miR-138-5p 的相对表达水平

与假手术组比较,骨癌痛组第 15 天大鼠脊髓 miR-138-5p 相对表达水平明显降低 ($P < 0.05$),骨癌痛 + agomiR-138-25p 组大鼠脊髓 miR-138-5p 相对表达水平明显升高 ($P < 0.05$),见图 2。

2.4 鞘内注射 agomiR-138-5p 对大鼠疼痛行为学的影响

与骨癌痛组比较,骨癌痛 + agomiR-138-5p 组行走痛评分在造模第 12 天开始改善,至第 15 天时改善效果更为明显 ($P < 0.05$),缩足阈值在第 12、15 天显示出明显改善 ($P < 0.05$),见图 3。



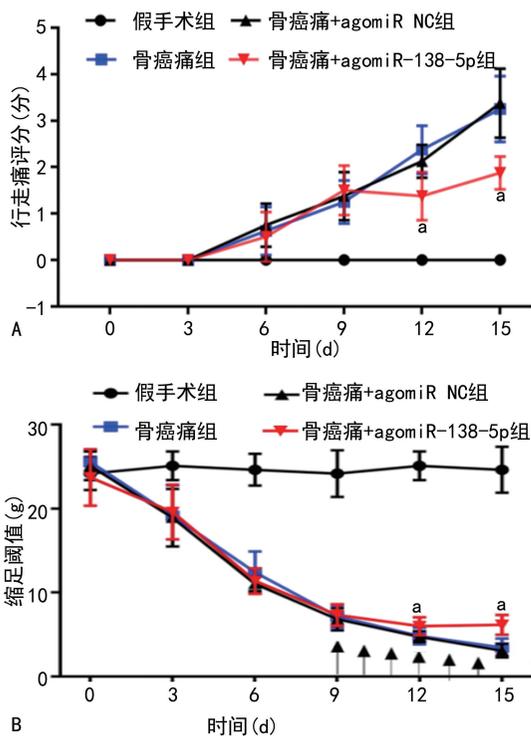
①:假手术组;②:骨癌痛组;③:骨癌痛 + agomiR NC 组;④:骨癌痛 + agomiR-138-25p 组; $^a: P < 0.05$ 。

图 2 RT-qPCR 检测大鼠脊髓背角 miR-138-5p 的相对表达水平 ($n=4$)

2.5 各组大鼠脊髓 NF- κ B p65、p-p65 蛋白表达水平

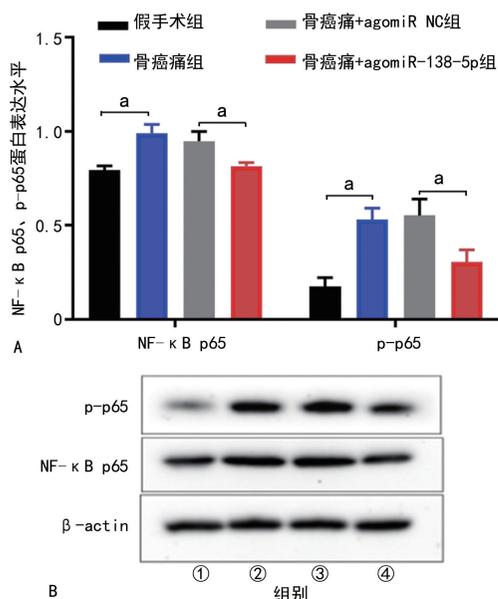
比较

第 15 天,与假手术组比较,骨癌痛组脊髓 NF- κ B p65、p-p65 相对表达水平升高 ($P < 0.05$);与骨癌痛+agomiR NC 组比较,骨癌痛+agomiR-138-5p 组脊髓 NF- κ B p65、p-p65 相对表达水平降低 ($P < 0.05$),见图 4。



A: 各组行走痛评分比较 ($n=8$); B: 各组缩足阈值比较, 箭头示鞘内给药时间 ($n=8$); ^a: $P < 0.05$, 骨癌痛+agomiR-138-5p 组与骨癌痛+agomiR NC 组、骨癌痛组比较。

图 3 鞘内注射 agomiR-138-5p 后大鼠疼痛行为学改变



A: 各组大鼠脊髓 NF- κ B p65、p-p65 蛋白表达水平比较 ($n=4$); B: 各组大鼠脊髓 NF- κ B p65、p-p65 蛋白 Western blot 结果; ^a: $P < 0.05$; ①: 假手术组; ②: 骨癌痛组; ③: 骨癌痛+agomiR NC 组; ④: 骨癌痛+agomiR-138-25p 组。

图 4 各组大鼠脊髓 NF- κ B p65、p-p65 蛋白表达水平比较

3 讨论

骨组织是乳腺癌、前列腺癌及肺癌等多种常见恶性肿瘤晚期易发生转移的部位。据统计,约 75% 的晚期癌症患者伴随慢性疼痛,其中骨癌痛尤为常见,已成为最具破坏性和突出的临床表现之一^[12]。随着肿瘤治疗手段的不断进步,患者生存期明显延长,骨癌痛的发生率亦随之上升。尽管在骨癌痛进展过程中,可通过常规镇痛药物得到一定控制,但无明显诱因的自发性疼痛仍难以有效缓解。目前针对骨癌痛的治疗手段效果不尽如人意,多伴随预后不良及相关副作用^[13]。此外,长期且剧烈的骨癌痛还会导致患者功能衰退及精神障碍,严重影响其生活质量,这一问题不容忽视^[14]。

考虑女性乳腺癌骨转移发生率较高^[15],且雌性大鼠对急性伤害性刺激的反应较雄性更为敏感^[16],本研究选用成年雌性 SD 大鼠构建模型。已有研究指出,建模后第 6~15 天是研究骨癌痛机制的关键窗口期^[17]。因此,在建模第 6 天置入导管,使其适应 3 d 后给予 miRNA agomiR 干预,并于第 15 天采集标本。

多项研究证实,miRNA 分子在骨癌痛的病理进程中发挥关键作用^[18-19]。骨癌痛的发病机制具有多维性,其中神经系统炎症浸润与肿瘤侵袭性生长之间的相互作用,可促使多种致痛介质(如生长因子、细胞因子、前列腺素及内皮素等)释放,这些物质被广泛认为是引发疼痛产生与持续的核心因素^[20]。miR-138 作为一种在进化上高度保守且在神经系统中特异性高表达的 miRNA 分子^[21],近年来因其在调控神经元及神经胶质细胞炎症反应中展现的潜在治疗价值,已成为研究热点^[22-23]。本研究发现,在骨癌痛模型大鼠的脊髓背角中,miR-138-5p 表达明显下调;鞘内注射 agomiR-138-5p 可有效缓解疼痛相关行为,首次揭示 miR-138-5p 参与大鼠骨癌痛的发生、发展。

既往研究表明,脊髓背角是骨癌痛大鼠中 NF- κ B 信号通路发挥作用的关键区域,鞘内注射 NF- κ B 抑制剂可明显抑制促炎因子的表达并缓解疼痛行为^[24]。尽管本研究尚未系统阐明 NF- κ B 在骨癌痛中的具体机制,但接种 Walker256 细胞后的实验数据显示该通路确实被激活。本研究发现,鞘内注射 agomiR-138-5p 可明显降低脊髓背角中 p-p65 的表达,且下降幅度大于 NF- κ B p65。值得注意的是,该结果与既往在神经性疼痛模型中的研究^[9]存在差异,后者显示 miR-138 仅抑制 p-p65 表达,对 NF- κ B p65 无影响。据此,推测在骨癌痛中,miR-138-5p 不仅可能靶向抑制 NF- κ B p65 mRNA 的转录与翻译,还可能干预该通路的激活过程。当肿瘤转移至骨骼时,癌细胞并不直接破坏骨组织,而是通过肿瘤相关基质细胞表达的

RANKL 与破骨前体细胞表面的 RANK 结合, 激活 RANKL/RANK 信号轴, 进而增强 NF- κ B 通路相关分子的表达, 促进破骨细胞增殖与分化, 最终导致骨破坏^[25]。这一过程被认为是骨癌痛发生的重要机制之一, 其中 NF- κ B p65 的激活是调控多种细胞因子异常表达的核心环节, 一旦被激活即发生核转位, 进而介导炎症因子、细胞因子及相关酶类的生成, 引发细胞肥大、凋亡及骨组织功能紊乱^[26]。未来研究将进一步探索 miR-138-5p 是否参与调控 RANKL/RANK 通路, 从而为 miR-138-5p 在骨癌痛中的作用提供更直接的实验依据。

本研究在通过 TargetScan 与 miRDB 预测 miR-138-5p 靶向 EZH2 的基础上, 对 EZH2 在骨癌痛中的作用进行了初步探讨。然而, 在前期研究中, 尽管对鞘内注射 agomiR-138-5p 后大鼠脊髓背角 EZH2 蛋白进行了 Western blot 检测, 但未获得差异有统计学意义的结果^[27], 因此暂停了针对 EZH2 的进一步实验。随后转向研究 NF- κ B p65, 发现 miR-138-5p 可抑制其表达。然而, 目前的研究仅停留在检测脊髓背角 NF- κ B p65、p-p65 蛋白水平, 尚未分析 p-p65 的核转位情况(如通过免疫荧光染色观察核内 p-p65), 也未对 NF- κ B p65 激活的具体细胞来源进行定位(如神经元、小胶质细胞或星形胶质细胞等), 因而未能充分揭示其功能变化, 有待后续深入探讨。此外, 本研究对大鼠 X 射线及 MRI 结果的分析偏重于描述性内容, 缺乏关键量化指标, 也在一定程度上影响了结果的客观性。

综上所述, miR-138-5p 参与大鼠骨癌痛的发生、发展, 其在骨癌痛大鼠脊髓中表达下调, 鞘内注射 agomiR-138-5p 可上调其表达, 并抑制 NF- κ B p65、p-p65 蛋白水平, 可有效缓解骨癌痛相关行为。

利益冲突: 所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] TAKEI D, TAGAMI K. Management of cancer pain due to bone metastasis[J]. *J Bone Miner Metab*, 2023, 41(3):327-336.
- [2] JING D, ZHAO Q, ZHAO Y, et al. Management of pain in patients with bone metastases[J]. *Front Oncol*, 2023, 13:1156618.
- [3] QI R, CAO J, SUN Y, et al. Histone methylation-mediated microRNA-32-5p down-regulation in sensory neurons regulates pain behaviors via targeting Cav3. 2 channels[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119(14):e2117209119.
- [4] ZHANG X, ZHU L, WANG X, et al. Advances in the role and mechanism of miRNA in inflammatory pain[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 161:114463.
- [5] BRITO V G B, BELL-HENSLEY A, MCALINDEN A. MicroRNA-138: an emerging regulator of skeletal development, homeostasis, and disease[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2023, 325(6):C1387-1400.
- [6] ZHANG Y, YANG M, WANG Y, et al. Identification and validation of circDOCK1/miR-138-5p/GRB7 axis for promoting breast cancer progression[J]. *Breast Cancer*, 2024, 16:795-810.
- [7] O'DEA E, HOFFMANN A. NF- κ B signaling[J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2009, 1(1):107-115.
- [8] NIU F, PAN S. MicroRNA-488 inhibits neural inflammation and apoptosis in spinal cord injury through restraint on the HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *Neuroreport*, 2021, 32(12):1017-1026.
- [9] ZHU B, GAO J, OUYANG Y, et al. Overexpression Of miR138 ameliorates spared sciatic nerve injury-induced neuropathic pain through the anti-inflammatory response in mice[J]. *J Pain Res*, 2019, 12:3135-3145.
- [10] JIN Y, XU L, XU Y. Effect of intrathecal injection of miRNA-138 on neuropathic pain in rats undergoing partial sciatic nerve ligation and its underlying mechanism [J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(6):6873-6882.
- [11] HOU Y, WANG L, GAO J, et al. A modified procedure for lumbar intrathecal catheterization in rats[J]. *Neurol Res*, 2016, 38(8):725-732.
- [12] SULISTIO M, LING N, FINKELSTEIN T, et al. The edmonton classification system for cancer pain in patients with bone metastasis: a descriptive cohort study [J]. *Support Care Cancer*, 2023, 31(5):305.
- [13] BORTOLIN A, NETO E, LAMGHARI M. Calcium signalling in breast cancer associated bone pain[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3):1902.
- [14] SYRJALA K L, JENSEN M P, MENDOZA M E, et al. Psychological and behavioral approaches to cancer pain management[J]. *J Clin On-*

col, 2014, 32(16):1703-1711.

- [15] COLEMAN R E. Clinical features of metastatic bone disease and risk of skeletal morbidity[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(20):6243-6249.
- [16] BLAND S T, SCHMID M J, DER-AVAKIAN A, et al. Expression of c-fos and BDNF mRNA in subregions of the prefrontal cortex of male and female rats after acute uncontrollable stress[J]. Brain Res, 2005, 1051(1):90-99.
- [17] HANG L H, CHEN H M, YU J M, et al. Evidence of the involvement of spinal α B-crystallin in the maintenance of bone cancer pain in rats [J]. Pharmacol Rep, 2020, 72(1):208-213.
- [18] KUANG J, XU M, XU C, et al. MiR-199a-3p mediates bone cancer pain through upregulation of dnmt3a expression in spinal dorsal horn neurons[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2023, 682:97-103.
- [19] 陈桂英, 高山, 何沿虹, 等. 鞘内注射 miR-365 反义锁核酸对小鼠骨癌痛行为的影响[J]. 中华疼痛学杂志, 2020, 16(2):106-111.
- [20] NERI J M, SIQUEIRA P E A, OLIVEIRA A L C S L, et al. Anticancer, anti-inflammatory and analgesic activities of aminoalcohol-based quinoxaline small molecules [J]. Acta Cir Bras, 2024, 39:e395124.
- [21] SPECK S L, WEI X, SEMENKOVICH C F. Depalmitoylation and cell physiology: APT1 as a mediator of metabolic signals[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2024, 326(4):C1034-1041.
- [22] ZHU J, OUYANG X, LIU Y, et al. LncRNA GAS5 modulates Schwann cell function and en-

hances facial nerve injury repair via the miR-138-5p/CXCL12 axis[J]. J Mol Histol, 2024, 55(5):741-752.

- [23] DENG Y, CHEN D, GAO F, et al. Exosomes derived from microRNA-138-5p-overexpressing bone marrow-derived mesenchymal stem cells confer neuroprotection to astrocytes following ischemic stroke via inhibition of LCN2 [J]. J Biol Eng, 2019, 13:71.
- [24] WANG Y, NI H, LI H, et al. Nuclear factor kappa B regulated monocyte chemoattractant protein-1/chemokine CC motif receptor-2 expressing in spinal cord contributes to the maintenance of cancer-induced bone pain in rats[J]. Mol Pain, 2018, 14:1744806918788681.
- [25] ELGOHARY H H, KAMAL M M, RIZK S M, et al. The expression profile of the RANK/RANKL/OPG pathway in breast cancer stem cells isolated from breast cancer cell lines[J]. J Cell Biochem, 2025, 126(4):e70028.
- [26] CHENG F, YAN F F, LIU Y P, et al. Dexmedetomidine inhibits the NF- κ B pathway and NLRP3 inflammasome to attenuate papain-induced osteoarthritis in rats [J]. Pharm Biol, 2019, 57(1):649-659.
- [27] CHEN H, YU J, HANG L, et al. Evidence of the involvement of spinal EZH2 in the development of bone cancer pain in rats [J]. J Pain Res, 2021, 14:3593-3600.

(收稿日期:2025-06-28 修回日期:2025-09-30)

(编辑:袁皓伟)

(上接第 44 页)

- [21] 王曾庚, 聂祥碧, 郭经华, 等. 参附对急性肺损伤大鼠热休克蛋白 70 表达的影响[J]. 南昌大学学报, 2011, 51(10):22-24.
- [22] 李扬, 杨博, 陈绍洋, 等. 参附注射液预处理对大鼠脑缺血-再灌注损伤后 HSP70 和 HSP90 表达的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 2010, 26(1):51-53.
- [23] 王峰, 尚立芝, 曹珊, 等. 参附注射液预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤后 HSP70 基因表达的影响[J]. 河南中医学院学报, 2007, 22(1):36-38.

[24] 陈玉培, 牟崇明, 季道如, 等. 参附注射液干预对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. 重庆医科大学学报, 2005, 30(2):220-223.

- [25] MAHATI E, LI P, KURATA Y, et al. M3 muscarinic receptor signaling stabilizes a novel mutant human ether-a-go-go-related gene channel protein via phosphorylation of heat shock factor 1 in transfected cells[J]. Circ J, 2016, 80(12):2443-2452.

(收稿日期:2025-06-18 修回日期:2025-09-14)

(编辑:张芑捷)