

基于PI3K/Akt信号通路探讨复方苦参注射液联合唑来膦酸对骨癌痛小鼠的镇痛作用

伊航¹, 黄祥^{2*}

(1. 华中农业大学校医院, 湖北 武汉 430070; 2. 湖北中医药大学黄家湖医院胃肠外科, 湖北 武汉 430070)

摘要: **目的** 探讨复方苦参注射液联合唑来膦酸对骨癌痛 (BCP) 小鼠的镇痛作用。**方法** 雄性 BALB/c 小鼠随机分为假手术组、模型组、唑来膦酸组 (100 μg/kg, 静脉注射)、复方苦参注射液组 (8 mL/kg, 腹腔注射) 及联合用药组, 每组 10 只, 采用胫骨髓腔内注射 CT26. WT 结肠癌细胞的方法建立 BCP 模型, 造模后给药 20 d。采用机械性缩足阈值 (PWT) 和热缩腿潜伏期 (TWL) 评估镇痛效果; Western blot 法检测脊髓组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、Iba-1 蛋白表达; ELISA 法检测脊髓组织 IL-1β、TNF-α、RANKL、OPG 水平和胫骨组织 IL-1β、TNF-α 水平; Micro-CT 检测胫骨微结构参数 (BMD、Tb. N、Tb. Th、Tb. Sp)。**结果** 与假手术组比较, 模型组小鼠 PWT 和 TWL 降低 ($P < 0.05$); 脊髓组织 OPG 水平降低 ($P < 0.05$), p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、Iba-1 蛋白表达和 IL-1β、TNF-α、RANKL 水平升高 ($P < 0.05$); 胫骨 BMD、Tb. N、Tb. Th 降低 ($P < 0.05$), Tb. Sp 升高 ($P < 0.05$); 胫骨组织 IL-1β、TNF-α 水平升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 各给药组小鼠 PWT 和 TWL 升高 ($P < 0.05$); 脊髓组织 OPG 水平升高 ($P < 0.05$), p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、Iba-1 蛋白表达和 IL-1β、TNF-α、RANKL 水平降低 ($P < 0.05$); 胫骨 BMD、Tb. N、Tb. Th 升高 ($P < 0.05$), Tb. Sp 降低 ($P < 0.05$); 胫骨组织 IL-1β、TNF-α 水平降低 ($P < 0.05$), 联合用药组作用优于单用药组 ($P < 0.05$)。**结论** 唑来膦酸与复方苦参注射液在减轻结直肠癌骨转移疼痛方面具有协同作用, 前者通过减少骨破坏和外周伤害性刺激, 从而间接抑制脊髓 PI3K/Akt 信号通路的激活和神经炎症, 与复方苦参注射液对该通路的直接抑制作用形成互补, 实现对 BCP 小鼠更优的镇痛效果。

关键词: 复方苦参注射液; 唑来膦酸; 骨癌痛; 炎症; PI3K/Akt 信号通路; mTOR; Iba-1

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)05-1682-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.05.037

结直肠癌是全球范围内常见的恶性肿瘤, 其骨转移是晚期患者剧烈疼痛的主要原因之一^[1-3]。骨癌痛 (bone cancer pain, BCP) 机制复杂, 兼具神经病理性疼痛和炎症性疼痛的特点, 传统止痛疗法往往难以取得满意效果^[4-5]。唑来膦酸作为一种常用的双磷酸盐类药物, 通过抑制破骨细胞活性来减轻骨破坏, 从而缓解疼痛^[6-7]。越来越多的研究表明, 磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路在多种疼痛, 特别是神经病理性疼痛的发生和维持中起到重要作用, 该通路参与调控炎症反应、神经元兴奋性、中枢敏化等过程^[8-10]。复方苦参注射液是一种中药制剂, 具有抗肿瘤、免疫调节作用, 并应用于多种肿瘤的辅助治疗中^[11-12], 临床上联合唑来膦酸治疗骨癌痛已显示出良好的协同作用, 能显著缓解患者疼痛并改善预后^[13-14]。

鉴于复方苦参注射液对 PI3K/Akt 信号通路有明确的抑制作用, 本研究旨在深入探讨唑来膦酸与该制剂联合用药对结直肠癌骨转移疼痛的作用机制。

1 材料

1.1 动物 雄性 BALB/c 小鼠, 6~8 周龄, 体重 18~22 g, 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (沪) 2022-0004], 饲养于湖北中医药大学动物房 [实验动物使用许可证号 SYXK (鄂) 2023-0067], 温度 20~25 °C, 相对湿度 40%~60%, 12 h/12 h 光照/黑暗循环 (7:00/19:00), 自由进食饮水, 适应性喂养 1 周。动物实验方案经湖北中医药大学黄家湖医院伦理委员会批准 (批准号 2024-005)。

1.2 细胞 小鼠结肠癌细胞系 CT26. WT 购自中国科学院细胞库, 加入含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素溶液的 RPMI-1640 培养基, 置于 37 °C、

收稿日期: 2025-10-21

基金项目: 湖北省教育厅科学研究计划指导性项目 (B2022111)

作者简介: 伊航 (1982—), 男, 主治医师, 研究方向为外科。E-mail: Yinhang5956@163.com

*通信作者: 黄祥 (1981—), 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向为普通外科。E-mail: 993496309@qq.com

5% CO₂ 培养箱中培养。

1.3 药物与试剂 唑来膦酸(正大天晴药业集团股份有限公司, 国药准字 H20113138); 复方苦参注射液(山西振东制药股份有限公司, 国药准字 Z14021231)。RPMI-1640 培养基、胎牛血清、青霉素-链霉素溶液(美国 Gibco 公司, 批号 11875093、10270106、15140122); TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司, 批号 15596026); 二喹啉甲酸(BCA)法蛋白浓度测定试剂盒、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶制备试剂盒(上海碧云天生物技术股份有限公司, 货号 P0013B、P0012、P0012A); PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)、p-mTOR、抗离子钙结合衔接分子1(ionized calcium binding adapter molecule 1, Iba-1)、 β 肌动蛋白(β -actin)抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司, 货号 4228S、4257S、4060S、4691S、5536S、2983S、17198S、4970S); 山羊抗兔 IgG 二抗(英国 Abcam 公司, 货号 ab6721); 白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、核因子 κ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL)、骨保护素(osteoprotegerin, OPG) ELISA 检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司, 货号 SEKM-0002、SEKM-0034、SEKM-0391、SEKM-0410)。

1.4 仪器 Von Frey 纤维丝(美国 Stoelting 公司); 热刺激仪(意大利 Ugo Basile 公司, 型号 37370); 荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司, 型号 QuantStudio 5); 蛋白电泳系统、转膜系统(美国 Bio-Rad 公司, 型号 Mini-PROTEAN Tetra、Trans-Blot Turbo); Odyssey 双色红外激光成像系统(美国 LI-COR 公司, 型号 9120); 酶标仪(美国 PerkinElmer 公司, 型号 EnSight); 倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司, 型号 CKX53); 显微计算机断层扫描(micro-computed tomography, Micro-CT)系统(德国 Bruker 公司, 型号 Skyscan 1272)。

2 方法

2.1 模型建立 小鼠经异氟烷气体吸入麻醉(厢式麻醉后改用鼻吸入维持), 暴露左侧胫骨上段位置, 取 1 mL 注射器针头, 在胫骨粗隆处与骨面呈 30°~40°进行钻孔, 50 μ L 微量注射器抽取 20 μ L CT26. WT 细胞悬液($1 \times 10^8 / \mu$ L), 由穿刺针孔缓

慢注入骨髓腔内, 拔出注射器后迅速用医用骨水泥封闭针孔, 局部用生理盐水冲洗, 缝合伤口, 创口处涂抹金霉素眼膏以预防感染; 假手术组小鼠左侧胫骨上段注入相同体积(20 μ L)生理盐水, 其余操作同模型组。

2.2 分组及给药 将小鼠随机分为假手术组、模型组、唑来膦酸组、复方苦参注射液组和联合用药组, 每组 10 只, 复方苦参注射液组腹腔注射 8 mL/kg 相应药物^[15], 唑来膦酸组静脉注射 100 μ g/kg 相应药物^[16], 联合用药组腹腔注射 8 mL/kg 复方苦参注射液和静脉注射 100 μ g/kg 唑来膦酸, 假手术组和模型组腹腔注射生理盐水, 造模后每天给药 1 次, 持续 20 d。

2.3 疼痛行为学评估

2.3.1 机械性缩足阈值(PWT) 将小鼠置于底部为钢丝网格(1 cm \times 1 cm)的有机玻璃盒中(20 cm \times 20 cm \times 30 cm)适应 30 min, 采用 Von Frey 纤维刺激左后足足底中心皮肤, 强度由小到大, 每根弯曲至适当程度后停留 2~3 s, 3 次测量间隔 10 s, 取能引起 50% 缩足反应的最小纤维克数值作为机械缩足反射阈值(PWT)。如果没有缩足反射, 则采用更大克数的纤维继续测量, 最大值为 26 g。

2.3.2 热缩腿潜伏期(TWL) 将 20 cm \times 20 cm \times 30 cm 有机玻璃罩放置在一块厚度 2 mm 的玻璃板上, 小鼠置于其中, 玻璃下方是热刺激仪的红外光热探头, 热刺激直接施加在双侧后足的足心部位, 热探头温度设定为 52 $^{\circ}$ C, 自动切断时间为 25 s, 以期避免组织实质性损伤, 同一位置测量 3 次, 每次间隔至少 10 min, 取平均值, 作为热缩足反射阈值。

2.3.3 评估时间点 为明确 BCP 模型成功建立的时间及痛敏稳定期, 在造模后定期监测小鼠疼痛行为学。于造模后第 3 天开始, 每 3 d 测定 PWT 和 TWL, 当连续 2 个时间点两者变化率 $<10\%$ 、组间差异无统计学意义时判定为痛敏进入稳定期, 于次日给药。于造模后及用药第 20 天, 对各组小鼠进行疼痛行为学评估。

2.4 组织样本收集 于用药第 20 天, 小鼠经异氟烷厢式诱导麻醉后改用鼻吸入维持深度麻醉, 完整分离造模侧胫骨, 剔除软组织, 置于 4% 多聚甲醛中固定 24 h, 于 70% 乙醇中保存, 用于 Micro-CT 扫描、ELISA 检测。沿着小鼠肋弓剖开胸腔, 暴露心脏, 经左心室升主动脉根部灌注 200 mL 生理盐水(体积流量 10 mL/min), 冲洗干净血管内血液,

迅速剥取腰段 L4~L6 节段脊髓, -70 °C 保存, 用于 Western blot、ELISA 检测。

2.5 Western blot 法检测脊髓组织相关蛋白表达 制备脊髓组织总蛋白样品, -70 °C 保存, BCA 法测量蛋白浓度, 样品经变性处理用 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离, 采用湿转法转移到聚偏二氟乙烯膜上, 5% 牛血清白蛋白封闭 2 h, TBST 洗涤 3 次, 分别加入一抗 p-Akt (1 : 500)、Akt (1 : 1 000)、mTOR (1 : 1 000)、Iba-1 (1 : 1 000)、 β -actin (1 : 5 000), 4 °C 孵育 12 h, TBST 洗涤 3 次, 加入二抗 (1 : 5 000), 室温孵育 1 h, TBST 洗涤 4 次, 采用双色红外荧光成像系统检测膜上蛋白表达, ImageJ 软件对条带灰度值进行分析。以 β -actin 为内参, 进行标准化。

2.6 胫骨 Micro-CT 扫描 参数设置为扫描电压 90 kV; 电流 100 μ A; 分辨率 8 μ m; 360° 旋转; 步进 0.5°。扫描完成后, 采用 NRecon 软件进行三维重建, 选取胫骨生长板远端下方 1 mm、长度 2 mm 的松质骨区域, CT-An 软件定量分析骨微结构参数, 包括骨密度 (bone mineral density, BMD)、骨小梁数量 (trabecular number, Tb. N)、骨小梁厚度 (trabecular thickness, Tb. Th)、骨小梁分离

度 (trabecular separation, Tb. Sp)。

2.7 ELISA 法检测脊髓组织 IL-1 β 、TNF- α 、RANKL、OPG 水平和胫骨组织 IL-1 β 、TNF- α 水平 按照试剂盒说明书检测脊髓组织匀浆中 IL-1 β 、TNF- α 、RANKL、OPG 水平, 以及胫骨组织匀浆中 IL-1 β 、TNF- α 水平, 其中胫骨组织取自 Micro-CT 扫描后的同一批样本。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处理, 数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 多组间比较首先进行正态性检验和方差齐性检验, 若数据符合正态分布、方差齐性, 则采用单因素方差分析, 事后检验采用 LSD 法; 若数据不符合正态分布或方差不齐, 则采用非参数检验 Kruskal-Wallis H 检验, 事后检验采用 Dunn-Bonferroni 法。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 复方苦参注射液联合唑来膦酸对 BCP 小鼠镇痛效应的影响 造模后 12~15 d, 造模组 (模型组、唑来膦酸组、复方苦参注射液组、联合用药组) 小鼠 PWT 和 TWL 趋于稳定, 各组间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 1。最终确定, 造模后第 16 天开始给药。

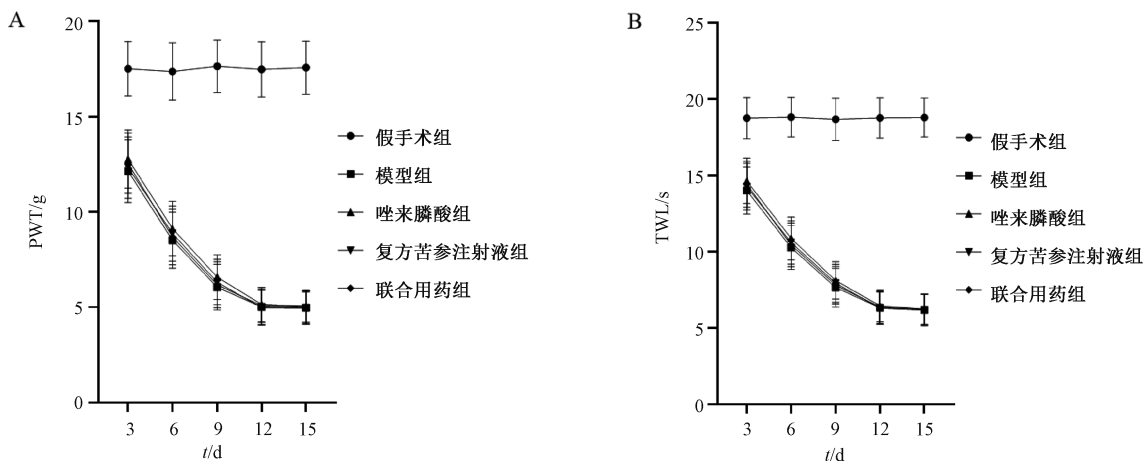


图 1 造模后至用药前各组小鼠 PWT (A) 和 TWL (B) ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

给药第 20 天, 与假手术组比较, 模型组小鼠 PWT 和 TWL 降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 唑来膦酸组、复方苦参注射液组和联合用药组小鼠 PWT 和 TWL 升高 ($P < 0.05$), 以联合用药组作用更明显 ($P < 0.05$), 见表 1。

3.2 复方苦参注射液联合唑来膦酸对 BCP 小鼠脊髓组织中 PI3K/Akt 信号通路和小胶质细胞活化相关蛋白表达的影响 与假手术组比较, 模型组小鼠脊髓组织中 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/

表 1 各组小鼠 PWT 和 TWL 比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	PWT/g	TWL/s
假手术组	17.61 \pm 1.48	18.87 \pm 1.30
模型组	4.91 \pm 0.82*	6.15 \pm 1.02*
唑来膦酸组	7.85 \pm 1.23 [#] Δ	8.93 \pm 1.30 [#] Δ
复方苦参注射液组	10.72 \pm 1.45 [#] Δ	12.19 \pm 1.58 [#] Δ
联合用药组	15.18 \pm 1.70 [#]	16.88 \pm 1.83 [#]

注: 与假手术组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, [#] $P < 0.05$; 与联合用药组比较, Δ $P < 0.05$ 。

mTOR 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，唑来膦酸组、复方苦参注射液组和联合用药组小鼠脊髓组织中 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)，以联合用药组更明显 ($P < 0.05$)，见图 2、表 2。

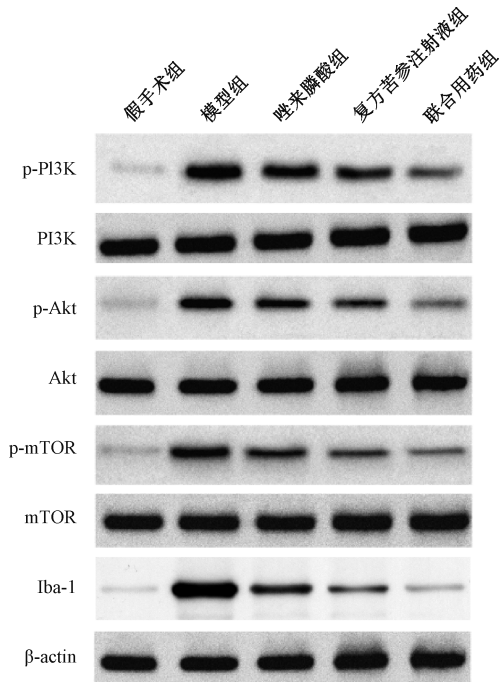


图 2 各组小鼠脊髓组织 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-mTOR、mTOR 蛋白条带

表 2 各组小鼠脊髓组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR、Iba-1 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-mTOR/mTOR	Iba-1/ β -actin
假手术组	0.12 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.22 ± 0.05	0.21 ± 0.04
模型组	0.92 ± 0.13*	0.97 ± 0.09*	0.93 ± 0.11*	1.05 ± 0.12*
唑来膦酸组	0.71 ± 0.11 [#] Δ	0.68 ± 0.12 [#] Δ	0.70 ± 0.05 [#] Δ	0.78 ± 0.09 [#] Δ
复方苦参注射液组	0.56 ± 0.05 [#] Δ	0.40 ± 0.05 [#] Δ	0.55 ± 0.09 [#] Δ	0.56 ± 0.07 [#] Δ
联合用药组	0.28 ± 0.01 [#]	0.29 ± 0.07 [#]	0.23 ± 0.08 [#]	0.28 ± 0.05 [#]

注：与假手术组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ；与联合用药组比较， Δ $P < 0.05$ 。

表 3 各组小鼠脊髓组织中 IL-1 β 、TNF- α 水平比较 (pg/mg, $\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	IL-1 β	TNF- α
假手术组	46.85 ± 7.55	31.22 ± 5.18
模型组	128.91 ± 16.32*	91.56 ± 11.05*
唑来膦酸组	105.73 ± 13.88 [#] Δ	75.31 ± 9.42 [#] Δ
复方苦参注射液组	75.29 ± 10.15 [#] Δ	52.78 ± 7.82 [#] Δ
联合用药组	51.05 ± 8.21 [#]	35.94 ± 6.07 [#]

注：与假手术组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ；与联合用药组比较， Δ $P < 0.05$ 。

Tb. Sp 的趋势，但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，以联合用药组更明显 ($P < 0.05$)，见表 5。

3.6 复方苦参注射液联合唑来膦酸对 BCP 小鼠胫骨组织 IL-1 β 、TNF- α 水平的影响 与假手术组比

3.3 复方苦参注射液联合唑来膦酸对 BCP 小鼠脊髓组织炎症因子水平的影响 与假手术组比较，模型组小鼠脊髓组织中 IL-1 β 、TNF- α 水平升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，唑来膦酸组、复方苦参注射液组和联合用药组小鼠脊髓组织中 IL-1 β 、TNF- α 水平降低 ($P < 0.05$)，以联合用药组更明显 ($P < 0.05$)，见表 3。

3.4 复方苦参注射液联合唑来膦酸对 BCP 小鼠骨破坏标志物的影响 与假手术组比较，模型组小鼠脊髓组织中 RANKL 水平升高 ($P < 0.05$)，OPG 水平降低 ($P < 0.05$)；与模型组比较，唑来膦酸组和联合用药组小鼠脊髓组织中 RANKL 水平降低 ($P < 0.05$)，OPG 水平升高 ($P < 0.05$)，复方苦参注射液组有降低 RANKL 水平、升高 OPG 水平的趋势，但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，以联合用药组更明显 ($P < 0.05$)，见表 4。

3.5 复方苦参注射液联合唑来膦酸对 BCP 小鼠胫骨骨微结构参数的影响 与假手术组比较，模型组小鼠胫骨 BMD、Tb. N、Tb. Th 降低 ($P < 0.05$)，Tb. Sp 升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，唑来膦酸组和联合用药组小鼠胫骨 BMD、Tb. N、Tb. Th 升高 ($P < 0.05$)，Tb. Sp 降低 ($P < 0.05$)，复方苦参注射液组有升高 BMD、Tb. N、Tb. Th 及降低

表 4 各组小鼠脊髓组织中 RANKL、OPG 水平比较 (pg/mg, $\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	RANKL	OPG
假手术组	55.33 ± 8.79	130.40 ± 18.21
模型组	182.45 ± 22.18*	65.11 ± 9.55*
唑来膦酸组	95.88 ± 12.04 [#] Δ	105.67 ± 15.36 [#] Δ
复方苦参注射液组	178.50 ± 21.11 Δ	71.22 ± 10.03 Δ
联合用药组	68.77 ± 9.87 [#]	125.99 ± 17.02 [#]

注：与假手术组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ；与联合用药组比较， Δ $P < 0.05$ 。

较，模型组小鼠胫骨组织 IL-1 β 、TNF- α 水平升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，唑来膦酸组和联合用药组小鼠胫骨组织 IL-1 β 、TNF- α 水平降低 ($P < 0.05$)，复方苦参注射液组有降低 IL-1 β 、TNF- α

表5 各组小鼠胫骨 Micro-CT 骨微结构参数比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	BMD/(g·cm ⁻³)	Tb.N/(1·mm ⁻¹)	Tb.Th/mm	Tb.Sp/mm
假手术组	0.28±0.03	2.35±0.21	0.18±0.02	0.32±0.04
模型组	0.15±0.02*	1.02±0.15*	0.09±0.01*	0.85±0.08*
唑来膦酸组	0.21±0.02 [#] △	1.68±0.18 [#] △	0.13±0.01 [#] △	0.56±0.06 [#] △
复方苦参注射液组	0.16±0.02 [△]	1.15±0.16 [△]	0.10±0.01 [△]	0.78±0.07 [△]
联合用药组	0.26±0.03 [#]	2.12±0.20 [#]	0.16±0.02 [#]	0.38±0.05 [#]

注：与假手术组比较，**P*<0.05；与模型组比较，[#]*P*<0.05；与联合用药组比较，[△]*P*<0.05。

水平的趋势，但差异无统计学意义 (*P*>0.05)，以联合用药组更明显 (*P*<0.05)，见表6。

表6 各组小鼠胫骨组织 IL-1β、TNF-α 水平比较 (pg/mg, $\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	IL-1β	TNF-α
假手术组	42.35±6.78	28.56±4.92
模型组	156.82±18.45*	112.35±13.67*
唑来膦酸组	108.65±14.23 [#] △	82.45±10.32 [#] △
复方苦参注射液组	148.73±17.56 [△]	105.62±12.89 [△]
联合用药组	51.28±7.63 [#]	33.78±5.46 [#]

注：与假手术组比较，**P*<0.05；与模型组比较，[#]*P*<0.05；与联合用药组比较，[△]*P*<0.05。

4 讨论

本研究证实，复方苦参注射液联合唑来膦酸对BCP小鼠具有显著的协同镇痛作用，其机制与抑制脊髓PI3K/Akt信号通路激活及神经炎症密切相关。另外，模型组小鼠表现出明显的痛敏，脊髓组织中p-Akt、Akt、mTOR蛋白表达高于假手术组，炎症因子IL-1β、TNF-α水平也升高，与PI3K/Akt信号通路在BCP发生发展中的作用相符^[17]。

从单药作用机制分析，两药呈现不同的作用特点，唑来膦酸通过抑制破骨细胞活性来改善胫骨BMD、Tb.N、Tb.Th等骨微结构参数，降低RANKL水平，升高OPG水平，同时减少胫骨局部IL-1β、TNF-α释放^[6-7]，并且在改善骨破坏的同时脊髓PI3K/Akt信号通路、Iba-1蛋白表达也轻度降低，可能通过减少外周伤害性刺激传入，从而间接抑制脊髓神经炎症；复方苦参注射液虽然对骨微结构无明显影响，但能直接抑制脊髓p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、Iba-1蛋白表达，降低脊髓IL-1β、TNF-α水平，体现其中枢抗炎作用^[18-19]。

联合用药的协同效应体现在2个层面。在镇痛效果上，联合用药组PWT和TWL几乎恢复至假手术组水平，显著优于单用药组；在分子机制上，联合用药组对PI3K/Akt信号通路蛋白及炎症因子的抑制程度最强，与假手术组相当，这种协同效应的逻辑在于唑来膦酸的间接作用首先降低了外周骨破

坏和局部炎症（如胫骨IL-1β、TNF-α水平降低），从而减少了对脊髓的伤害性输入，为复方苦参注射液直接抑制提供了更低的基线激活水平；复方苦参注射液通过直接阻断PI3K/Akt/mTOR信号通路，从而深度抑制小胶质细胞活化及中枢敏化，与唑来膦酸形成互补机制，避免了单用药时可能存在的残余激活。

小胶质细胞是中枢神经系统中的主要免疫细胞，其活化是BCP引起中枢敏化的关键环节。本研究发现，模型组小鼠脊髓Iba-1蛋白表达升高，联合用药组Iba-1蛋白表达被抑制，提示联合用药逆转了BCP引起的小胶质细胞活化。PI3K/Akt信号通路被认为是调控小胶质细胞活化的重要上游通路，本研究证实，联合用药通过协同抑制该信号通路，进而抑制小胶质细胞的活化和中枢敏化。

临床观察显示，复方苦参注射液联合唑来膦酸可显著提高骨转移癌痛缓解率^[13-14]；本研究从动物实验角度证实，该协同效应源于两者在外周骨组织与中枢神经系统的互补作用，提示联合策略可能通过多靶点干预来实现更优镇痛作用，同时不增加不良反应风险^[20]。BCP机制复杂，PI3K/Akt信号通路可能只是其中一个重要环节，联合用药可能还涉及其他信号通路或机制^[21-22]。虽然本研究证实了PI3K/Akt信号通路的作用，但复方苦参注射液和唑来膦酸如何具体影响该通路，以及是否存在直接作用靶点尚不明确，仍需进一步研究。

综上所述，唑来膦酸通过减轻骨破坏和继发性炎症反应，从而减轻对脊髓神经元的刺激，同时间接协助并增强复方苦参注射液对PI3K/Akt信号通路的直接抑制效果而发挥镇痛作用，为优化BCP的联合治疗策略提供了新的理论依据。

参考文献：

[1] Tang Q Y, Yu W. Logistic regression analysis of pathological features of bone metastasis in colorectal cancer and related influencing factors after surgery[J]. *World J Gastrointest Surg*, 2025, 17(4): 100851.

- [2] Knapp B J, Cittolin-Santos G F, Flanagan M E, *et al.* Incidence and risk factors for bone metastases at presentation in solid tumors[J]. *Front Oncol*, 2024, 14: 1392667.
- [3] Zhang J, Cai D, Hong S. Prevalence and prognosis of bone metastases in common solid cancers at initial diagnosis: a population-based study[J]. *BMJ Open*, 2023, 13(10): e069908.
- [4] Lan H, Wu B, Jin K, *et al.* Beyond boundaries; unraveling innovative approaches to combat bone-metastatic cancers[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2024, 14: 1260491.
- [5] 赖礼沐, 冯轩朗, 刘 广, 等. 结合网络分析方法探讨华蟾素防治骨癌痛的作用机制研究概况[J]. 辽宁中医杂志, 2022, 49(9): 152-157; 225.
- [6] Damaj N, Najdi T, Seif S, *et al.* Zoledronic acid in metastatic castrate-sensitive prostate cancer: a state-of-the-art review[J]. *J Bone Oncol*, 2025, 51: 100667.
- [7] Baranyi M, Rittler D, Molnár E, *et al.* Next generation lipophilic bisphosphonate shows antitumor effect in colorectal cancer *in vitro* and *in vivo*[J]. *Pathol Oncol Res*, 2020, 26(3): 1957-1969.
- [8] Fang Y, Peng X, Bu H, *et al.* Chemokine CXCL10 regulates pain behaviors *via* PI3K-Akt signaling pathway in mice[J]. *Neuropeptides*, 2022, 93: 102243.
- [9] 周 珍, 魏 婷, 姜琳娜, 等. KMT2D 调控 PI3K/Akt 信号通路促进食管鳞状细胞癌发展[J]. 解剖科学进展, 2025, 31(1): 55-57; 61.
- [10] 张东瑞, 刘振威, 张怀波. PI3K/Akt 信号通路相关蛋白在肝细胞癌中的表达及对肝切除术患者生存的预测价值[J]. 河南医学研究, 2024, 33(17): 3146-3151.
- [11] Zhang L, Wei G, Wang K, *et al.* Effect of compound Kushen injection on immune function in patients with colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1565031.
- [12] Wu J, Ma X, Wang X, *et al.* Efficacy and safety of compound Kushen injection for advanced colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials with trial sequential analysis[J]. *Integr Cancer Ther*, 2024, 23: 15347354241258458.
- [13] Zhao X, Meng T, Wang K, *et al.* Comprehensive evaluation of compound Kushen injection combined with zoledronic acid in treating bone metastasis cancer pain based on meta-analysis and decision tree model[J]. *Front Pain Res (Lausanne)*, 2025, 5: 1512925.
- [14] 林才华. 复方苦参注射液联合唑来膦酸对非小细胞肺癌骨转移疼痛的影响[J]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2020, 7(31): 165; 167.
- [15] Yang Y, Sun M, Li W, *et al.* Rebalancing TGF- β /Smad7 signaling *via* compound kushen injection in hepatic stellate cells protects against liver fibrosis and hepatocarcinogenesis[J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(7): e410.
- [16] 朱 蓉, 郭雪斌, 杨满英, 等. 补肾活血汤对乳腺癌骨转移模型裸鼠 Bax/Bcl-2 及 cleaved Caspase-3 蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(8): 133-141.
- [17] Fu X, Zhang Y, Zhang R. Regulatory role of PI3K/Akt/WNK1 signal pathway in mouse model of bone cancer pain[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 14321.
- [18] 周世海. 复方苦参注射液联合化疗对结直肠癌患者临床疗效及安全性的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2024, 51(12): 89-92.
- [19] 潘 玲. 复方苦参注射液联合唑来膦酸治疗非小细胞肺癌骨转移疼痛的疗效分析[J]. 吉林医学, 2021, 42(10): 2343-2345.
- [20] 段方方, 侯小霞, 徐 聪, 等. 复方苦参注射液联合唑来膦酸治疗晚期乳腺癌骨转移癌痛的临床观察[J]. 中国合理用药探索, 2023, 20(5): 92-96.
- [21] 王陈昆, 蒋为薇. *N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体相关性骨癌痛作用机制研究进展[J]. 中国药业, 2022, 31(21): 128-135.
- [22] 方 军, 董庆永, 刘志东, 等. 羟考酮通过 TLR4/p38MAPK 通路抑制小胶质细胞的活化缓解大鼠骨癌痛[J]. 中国免疫学杂志, 2023, 39(11): 2355-2360.