

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.04.005

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.04.005>

MiR-124 靶向调控 CX3CR1 影响骨癌痛小鼠痛觉

胡焱, 冯丹, 李少军

(武汉市第一医院疼痛科, 武汉 430022)

[摘要] 目的: 探讨microRNA-124(miR-124)与趋化因子受体CX3CR1的调控机制及其对骨癌痛(bone cancer pain, BCP)小鼠痛觉行为的影响。方法: 将Lies肺癌细胞注入小鼠左侧胫骨的骨髓腔内, 构建BCP模型; 将健康雄性小鼠64只随机分为8组($n=8$): BCP组、Sham组、Sham+Veh组、BCP+Veh组、BCP+miR-NC组、BCP+miR-124 mimics组、BCP+CX3CR1in组、BCP+miR-124+CX3CR1组; 分别检测各组小鼠的热缩足潜伏期(thermal withdrawal latency, TWL)和机械性缩足反射阈值(mechanical withdrawal threshold, MWT); RT-qPCR和Western印迹法分别检测BCP小鼠中miR-124和CX3CR1的表达; 双荧光素报告基因实验和Western印迹法验证miR-124和CX3CR1之间的靶向调控关系。结果: MiR-124在BCP小鼠中表达下调; 过表达miR-124能提高其TWL和MWT值; CX3CR1是miR-124的靶基因; 敲低CX3CR1可显著提高TWL和MWT值; 过表达CX3CR1能够显著逆转miR-124上调对BCP小鼠痛觉行为的影响。结论: MiR-124通过抑制CX3CR1参与调控BCP小鼠的痛觉。

[关键词] 骨癌痛; miR-124; CX3CR1; MWT; TWL

MiR-124 participates in pain in mice with bone cancer pain by targeting CX3CR1

HU Han, FENG Dan, LI Shaojun

(Department of Pain, First Hospital of Wuhan, Wuhan 430022, China)

Abstract **Objective:** To investigate the regulatory mechanism of microRNA-124 (miR-124) and CX3C chemokine receptor 1 (CX3CR1) and their effects on pain behaviors in mice with bone cancer pain (BCP). **Methods:** The Lies lung cancer cells were injected into the bone marrow cavity of the left tibia of the mouse to establish a BCP model. Sixty-four healthy male mice were divided into eight groups ($n=8$): BCP group, Sham group, Sham+Veh group, BCP+Veh group, BCP+miR-NC group, BCP+miR-124 group, BCP+CX3CR1in group, BCP+miR-124+CX3CR1 group. RT-qPCR and Western blot were performed to measure the levels of miR-124 and CX3CR1 in BCP mice. Thermal withdrawal latency (TWL) and mechanical withdrawal threshold (MWT) assays were conducted to determine heat pain threshold and mechanical withdrawal threshold, respectively. The relationship between miR-

收稿日期 (Date of reception): 2018-11-12

通信作者 (Corresponding author): 冯丹, Email: fengdanvipvd@163.com

基金项目 (Foundation item): 武汉市卫生和计划生育委员会科研项目 (WX17D04)。This work was supported by the Health and Family Planning Commission of Wuhan Municipality, China (WX17D04).

124 and CX3CR1 was confirmed by luciferase reporter and western blot assays. **Results:** The level of miR-124 was downregulated in BCP mice. Moreover, overexpression of miR-124 increased the values of TWL and MWT. CX3CR1 is a direct target gene of miR-124. CX3CR1 knockdown significantly elevated values of TWL and MWT. Interestingly, upregulation of CX3CR1 undermined the effects of miR-124 overexpression on pain in BCP mice. **Conclusion:** MiR-124 was involved in pain of BCP mice via inhibiting CX3CR1.

Keywords bone cancer pain; miR-124; CX3CR1; mechanical withdrawal threshold; thermal withdrawal latency

肿瘤引起的疼痛严重破坏了患者的生存质量, 骨癌痛(bone cancer pain, BCP)是常见也是最严重的一种癌疼痛, 如原发性骨肿瘤、肺癌、乳腺癌、前列腺癌等继发的骨转移都会引起患者剧痛。BCP的机制复杂^[1]。因此, 深入研究BCP发生机制及探讨更有效的缓解BCP的方法和途径, 对癌症患者的日常生活和提高其生存质量具有重要意义。研究^[2-4]表明: miRNAs在疼痛的发生和维持中起重要的调控作用, miRNAs不仅广泛表达于背根神经节(dorsal root ganglion, DRG), 同时表达于与疼痛传导通路相关的脊髓及脊髓以上的中枢, 与疼痛的发生或调节密切相关。有报道^[5]称: 在BCP发展过程中, miR-212在脊髓中表达量升高, 连续鞘内注射LNA-anti-miR-212可以缓解骨癌小鼠疼痛行为。已经有研究^[4]表明脊髓水平的miR-124能够调节BCP, 在骨癌小鼠中鞘内注射miR-124模拟物, 可在早期减轻癌症疼痛。CX3CR1是一种趋化因子受体, 在神经损伤或周围炎症与疼痛相关的小胶质细胞上表达增加, 可能参与大鼠BCP的发生与维持^[6-7], 阻断CX3CR1的表达, 可减轻疼痛^[8-9], 但CX3CR1在小鼠BCP模型中的研究较少, CX3CR1参与小鼠BCP的分子机制仍有待研究。本项工作拟通过研究miR-124与CX3CR1之间的靶向调控关系, 探讨二者在小鼠BCP中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器

RPMI1640培养液、DMEM培养液、 α -MEM培养液胎牛血清、TRIzol试剂、胰蛋白酶、LipofectamineTM2000均购于美国赛默飞公司; 组织/细胞miRNA提取试剂盒购于哈尔滨新海基因检测有限公司; miR-124反转录试剂盒及荧光定量试剂盒均购于大连宝生物公司; miR-NC, miR-124 mimics, CX3CR1抑制物和CX3CR1过表达载体分别于上海拓然生物科技有限公司合成和构建; Western印记实验相关试剂、试剂耗材购于广州豪

凯生物科技有限公司; GAPDH抗体、CX3CR1抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗均购于上海碧云天生物技术公司; 荧光素酶报告基因检测试剂盒购于美国Promega公司; VonFrey针刺痛觉测试套件购于美国Danmic公司, 足底痛觉测量仪购于上海玉研科学仪器有限公司。

1.1.2 动物

64只健康SPF级昆明种小鼠由凯学生物科技(上海)有限公司提供, 体重18~22 g, 6~8周龄, 雄性。小鼠自由饮水, 进食; 室温控制在(25±2) °C, 昼夜节律交替, 所有动物至少适应相应的饲养环境1周。本实验按照国际疼痛学会(International Association for the Study Pain, IASP)关于应用清醒动物进行疼痛实验研究纲要的要求来实施和完成, 并获武汉大学实验动物伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 细胞制备

Lewis肺癌细胞、HEK-293细胞均购自中科院上海细胞库, 分别培养于10%胎牛血清的RPMI1640培养基和DMEM培养基中, 培养条件: 含有5%CO₂的37 °C恒温培养箱。

1.2.2 BCP小鼠模型建立和蛛网膜下腔置管

参考相关文献[10]建立小鼠骨癌模型。将小鼠麻醉后仰卧定位, 左侧后肢剃毛, 切开其关节, 1 mL注射器针头按股骨长轴方向钻孔入股骨骨髓腔, 然后用微量进样器往骨髓腔内接20 μ L含有 2×10^5 个Lewis肺癌细胞的 α -MEM, 制作BCP组模型, Sham组接种不含Lewis肺癌细胞的 α -MEM, 留针片刻后退出针头, 骨蜡封针孔, 生理盐水清晰伤口, 缝合, 青霉素软膏覆盖伤口, 待小鼠苏醒后放回鼠笼。参考相关文献[11], 于模型建立完成后即刻进行小鼠蛛网膜下腔置管, 剔除运动功能出现障碍的小鼠, 以小鼠后肢出现麻痹现象说明置管成功, 实验时每次给药后用生理盐水清理。建模成功率为25%。

1.2.3 动物分组及给药

将小鼠分为8组, 每组8只: BCP组、

Sham组、Sham小鼠+PBS(Sham+Veh组)、BCP小鼠+PBS(BCP+Veh组)、BCP小鼠+miR-NC(BCP+miR-NC组)、BCP小鼠+miR-124 mimics(BCP+miR-124 mimics组)、BCP小鼠+CX3CR1抑制物(BCP+CX3CR1in组)、BCP小鼠+miR-124 mimics+CX3CR1过表达载体(BCP+miR-124+CX3CR1组)。按照分组要求进行鞘内给药处理, miR-NC, miR-124 mimics, CX3CR1抑制剂和pcDNA3.0CX3CR1剂量均为5 μ g, Veh组则注入5 μ L PBS, 小鼠出现甩尾动作表明注射成功。

1.2.4 行为学测定

用VonFrey细丝测定小鼠的机械性缩足反射阈值(mechanical withdrawal threshold, MWT), 用热辐射法测定小鼠热缩足潜伏期(thermal withdrawal latency, TWL)。手术前测定BCP组和Sham组的基础阈值, 并在手术后1, 3, 5, 7, 10, 14 d分别测定MWT和TWL。

将1个有机玻璃箱放在金属筛网上, 保持实验环境安静, 待小鼠在玻璃箱内适应20 min后, 用VonFrey纤维丝垂直刺激小鼠足底, 持续时间不超过4 s, 当出现明显的抬足或舔足行为则视为阳性反应, 否则视为阴性反应。测定从2 g开始, 当该力度的刺激不能引起阳性反应, 则给予相邻大一级力度的刺激; 出现阳性反应则给予相邻小一级力度的刺激, 连续进行, 直至出现第1次阳性和阴性反应的跨越, 再连续测定4次。最大力度不超过15 g, >15 g记为15 g。每次刺激间隔为15 s。用热辐射刺激仪照射小鼠足底, 照射开始至小鼠出现抬腿回避时记为TWL。热刺激强度在整个实验过程中保持一致, 设置自动切断时间为30 s, 以免造成热辐射损伤。为避免前一次刺激对下一次刺激造成的影响, 同一部位刺激的间隔时间为5 min, 连续测定5次, 计算平均值为小鼠TWL。计算MWT和TWL值^[12-13]。

1.2.5 细胞转染

待HEK-293细胞长至80%融合度, 以适当密度接种至6孔细胞板中, 按照LipofectamineTM2000转染试剂说明书, 将miR-NC, miR-124 mimics, pcDNA3.0 vector, CX3CR1过表达载体pcDNA CX3CR1转染至细胞, 并设置空白细胞作为对照。48 h后, 参照Western印迹法分别检测CX3CR1蛋白表达水平。

1.2.6 双荧光素酶报告基因检测 miR-124 与 CX3CR1 基因的靶向关系

通过Targetscan在线分析预测库预测miR-124与CX3CR1 3'-UTR的结合位点。将长至80%融合度的

HEK-293细胞, 胰蛋白酶消化后以适当密度接种至6孔细胞培养板中, 参照LipofectamineTM2000转染试剂说明书将构建好的野生型CX3CR1-3'-UTR-WT和突变型CX3CR1-3'-UTR-MUT的荧光素酶报告质粒及miR-NC, miR-124 mimics共转染至细胞, 按照双试剂盒操作步骤检测各组细胞荧光素酶活性。

1.2.7 RT-qPCR 检测脊髓水平 miR-124 表达

分别将Sham组和BCP组小鼠取3只处死, 取L₃-L₅节段脊髓组织、液氮冻存。将脊髓组织在液氮中研磨, 采用TRIzol试剂提取组织总RNA, 采取组织/细胞miRNA提取试剂盒分离出miR-124, 参照对应的反转录试剂盒说明书步骤合成cDNA, 以U6为参照, 计算miR-124的相对表达量。MiR-124引物为miR-124-F, 5'-GGGCGTGTTTCACAGCGGAC-3', miR-124-R, 5'-CAGTGCGTGTCTGGAGT-3'; U6-F, 5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3', U6-R, 5'-GGAACGCTTCACGAATTTG-3'。

1.2.8 Western 印迹法检测 CX3CR1 表达

用碧云天快速蛋白提取试剂盒提取1.2.5中转染HEK-293细胞和1.2.7中脊髓组织的总蛋白, 并参照BCA蛋白检测试剂盒检测总蛋白的浓度。经沸水浴变性后, 取20 μ g变性蛋白上样至SDS-PAGE凝胶孔中进行电泳。经80 V电压电泳0.5 h后, 换成120 V电压电泳1 h。采用湿转法将蛋白凝胶转至PVDF膜后, 置于含有5%去脂奶粉的封闭液中4 $^{\circ}$ C下孵育过夜。以PBST洗膜3次后, 再在4 $^{\circ}$ C下将PVDF膜转入1:2 000稀释的一抗中反应过夜, 经PBST洗膜3次后, 加入1:10 000稀释的二抗于37 $^{\circ}$ C下孵育1 h。化学发光显影, 以凝胶成像系统采集图像, ImageJ分析目的条带的灰度值, 以GAPDH为内参, 计算目的蛋白的相对表达情况。

1.3 统计学处理

采用SPSS 20.0软件进行数据分析。数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 两组间的比较采用独立样本t检验, 多组间比较采用单因素方差分析。P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BCP 小鼠模型的建立

与Sham组比较, BCP组的TWL和MWT从第1天开始降低, 且在第14天降低最为显著, 差异具有统计学意义(P<0.001, 图1), 表明成功构建小鼠BCP模型。

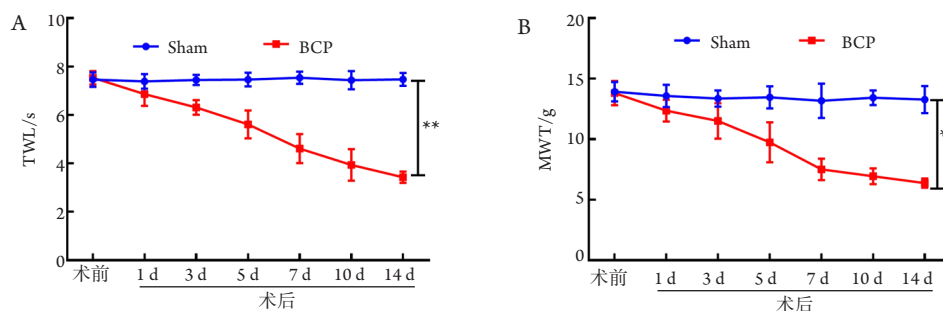


图1 小鼠BCP模型的建立($n=8$)

Figure 1 Establishment BCP mice model($n=8$)

(A)TWL法检测Sham组和BCP组小鼠热痛阈值；(B)MWT法检测Sham组和BCP组小鼠机械缩退阈值。与Sham组比较，** $P<0.01$ 。

(A) TWL method was used to detect the thermal pain threshold in the Sham group and BCP group; (B) MWT method was performed to measure the mechanical shrinkage threshold in the Sham group and BCP group. Compared with the Sham group, ** $P<0.01$.

2.2 正常小鼠和 BCP 小鼠中 miR-124 的表达水平

RT-qPCR检测Sham组和BCP组小鼠脊髓水平miR-124的表达，检测结果显示：第3天，与Sham组相比，miR-124在BCP组小鼠的表达开始下降($P<0.001$)，第5~14天miR-124表达显著下降，且差异具有统计学意义($P=0.001$ ；图2)。

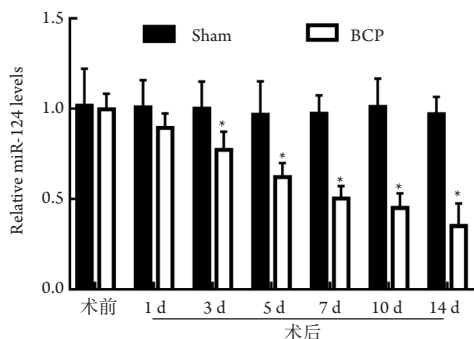


图2 MiR-124 在BCP小鼠中的表达($n=8$)

Figure 2 Expression of miR-124 in BCP mice($n=8$)

与Sham组比较，* $P<0.05$ 。

Compared with sham group, * $P<0.05$.

2.3 miR-124 对 BCP 小鼠痛觉的影响

与BCP+miR-NC组比较，BCP+miR-124 mimics组小鼠的TWL和MWT值均在第14天显著升高，且差异具有统计学意义($P=0.002$)，但仍比与Sham+Veh组低($P=0.001$ ；图3)。

2.4 CX3CR1 是 miR-124 的靶基因

Targetscan在线预测分析库预测发现miR-124与CX3CR1 3'-UTR存在结合位点(图4A)；双荧光素酶报告基因实验结果显示：miR-124能够明显降低CX3CR1-3'-UTR-WT的荧光素酶活性($P<0.001$)，而不影响CX3CR1-3'-UTR-MUT的荧光素酶活性(图4B)，表明CX3CR1是miR-124的靶基因。在第14天检测BCP小鼠CX3CR1的表达，Western印迹法检测结果发现：与miR-NC组相比，miR-124 mimics组小鼠的CX3CR1的表达显著下调，且差异具有统计学意义($P=0.001$ ；图4C, 4D)，表明过表达miR-124可负调控BCP小鼠中CX3CR1蛋白表达。

2.5 CX3CR1 对 BCP 小鼠痛觉的影响

与BCP+Veh组小鼠比较，注射了CX3CR1 inhibitor的BCP+CX3CR1in组小鼠的TWL值和MWT升高($P<0.001$ ；图5)，表明敲低CX3CR1可降低骨痛癌小鼠的疼痛。

2.6 MiR-124 靶向调控 CX3CR1 影响小鼠痛觉

与BCP+miR-NC组小鼠比较，注射了miR-124 mimics的BCP+miR-124组小鼠的热痛阈值和机械缩退阈值都显著升高($P<0.001$)，而与BCP+miR-124组小鼠相比，同时注射miR-124 mimics和CX3CR1过表达载体的BCP+miR-124+CX3CR1组小鼠的热痛阈值和机械缩退阈值都显著降低($P=0.001$ ；图6)，表明CX3CR1可部分逆转miR-124对BCP小鼠痛觉行为的调控。

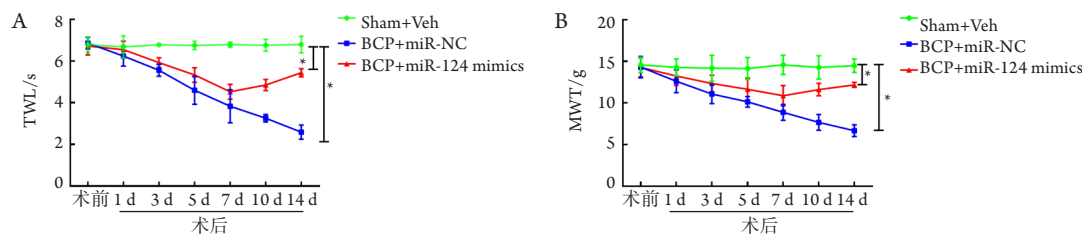


图3 MiR-124对BCP小鼠痛觉的影响(n=8)

Figure 3 Effect of miR-124 on pain in BCP mice (n=8)

(A)TWL检测小鼠的热痛阈值；(B)MWT检测小鼠的机械缩退阈值。与Sham+Veh组比较, *P<0.05。

(A) TWL was conducted to detect the thermal pain threshold in mice; (B) MWT was employed to evaluate the mechanical shrinkage threshold in mice. Compared with the Sham + Veh group, *P<0.05.

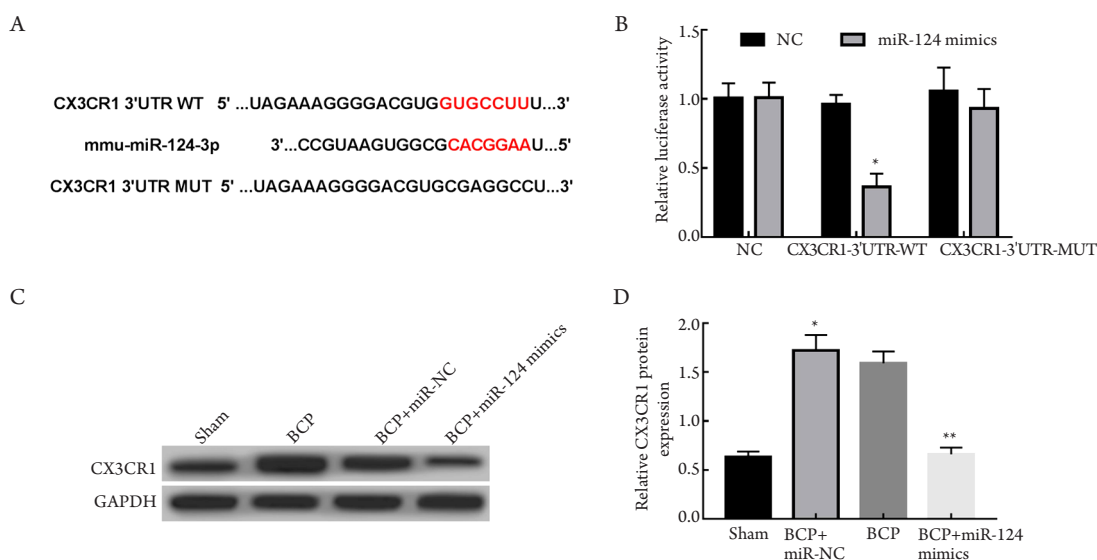


图4 CX3CR1是miR-124的靶基因

Figure 4 CX3CR1 is the target gene of miR-124

(A)MiR-124 与CX3CR1的结合位点的预测；(B)miR-NC或miR-124 mimics与报告质粒共转染后HEK293细胞的双荧光素酶活性检测结果；(C, D)Western 印迹法检测CX3CR1蛋白表达。与Sham组比较, *P<0.05；与BCP+miR-NC组比较, **P<0.01。

(A) Binding sites between miR-124 and CX3CR1; (B) miR-NC or miR-124 mimics and CX3CR1-3'UTR-WT or CX3CR1-3'UTR-MUT were co-transfected into HEK293 cells; (C, D) Western blot were introduced to detect the protein level of CX3CR1. Compared with the Sham group, *P<0.05; compared with the BCP+miR-NC group, **P<0.01.

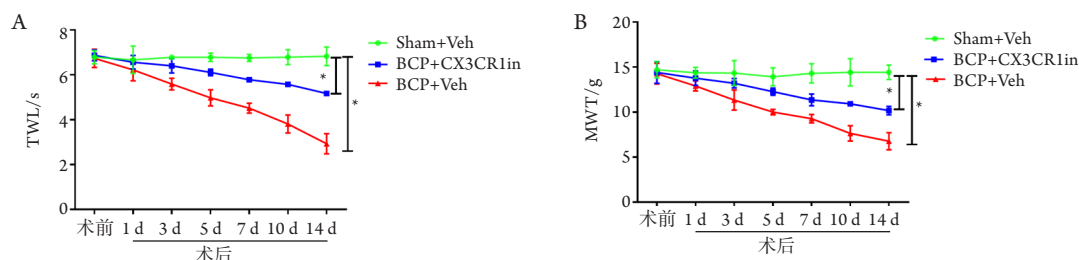


图5 CX3CR1对骨癌痛小鼠痛觉的影响(n=8)

Figure 5 Effect of CX3CR1 on pain in BCP mice(n=8)

(A)TWL检测小鼠的热痛阈值；(B)MWT检测小鼠的机械缩退阈值。与Sham+Veh组比较, *P<0.05。

(A) TWL was detected in BCP mice; (B) MWT was measured in BCP mice. Compared with the Sham + Veh group, *P<0.05.

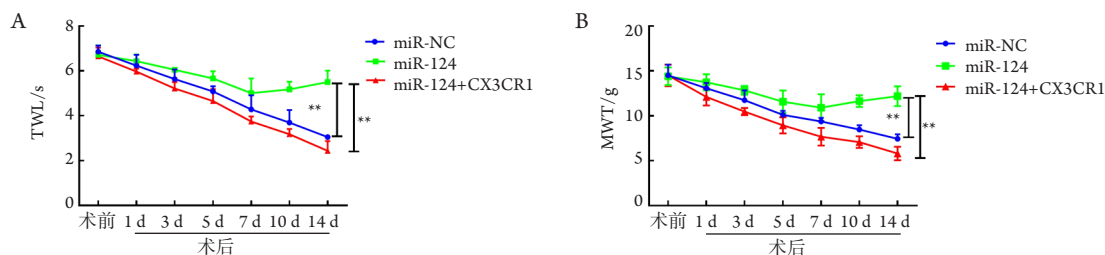


图6 miR-124靶向调控CX3CR1影响小鼠痛觉($n=8$)

Figure 6 miR-124 was involved the pain of BCP mice by targeting CX3CR1 ($n=8$)

(A)TWL检测小鼠的热痛阈值；(B)MWT检测小鼠的机械缩退阈值。与BCP+miR-NC组相比，** $P<0.01$ 。

(A) TWL was detected in BCP mice; (B) MWT was measured in BCP mice. Compared with BCP + miR-NC group, ** $P<0.01$.

3 讨论

BCP机制十分复杂，深入探讨BCP的发生机制，对于提高患者生活质量和功能状态意义重大。研究^[14-15]表明：BCP存在痛觉敏化现象，即BCP模型中癌细胞和基质细胞导致的持续痛和爆发痛都含有伤害感受性疼痛和神经病理性的成分，可使骨质和神经纤维发生变化。MiRNAs可通过与靶基因mRNA的碱基互补配对进而调控靶基因表达。MiRNA在神经系统内表达丰富，影响神经系统细胞分化和细胞周期，参与慢性疼痛病理生理相关基因的调节机制。有研究^[16]发现小鼠BCP过程中miR-93表达降低，进而激活ROCK2/LIMK/Cofilin通路，鞘内注射ROCK抑制剂可抑制该通路的活化，缓解小鼠BCP症状。Gandla等^[17]报道在骨转移性疼痛小鼠模型DRG神经元内miRNA调节的全基因组筛选中，发现miR-34c-5p具有促痛性。MiRNA-124作为哺乳动物神经系统特异性的miRNA，在神经系统的发育、肿瘤、损伤等过程发挥重要作用^[18]，但在小鼠BCP中的作用仍不够明确。本研究揭示miR-124在小鼠BCP中发挥的功能及其可能的分子机制。

本研究成功构建了小鼠BCP模型，结果表明：miR-124在BCP小鼠中表达显著下调，提示miR-124可能影响BCP小鼠的痛行为。在后续实验中，将miR-124 mimics注射至BCP小鼠中上调miR-124表达，TWL和MWT检测结果显示上调miR-124表达可提高BCP小鼠的热痛阈值和机械缩退阈值，表明miR-124在BCP小鼠中可能发挥抑痛作用。

为进一步探讨miR-124在BCP小鼠中发挥抑痛作用的分子机制。本研究通过Targetscan在线预测分析库发现miR-124与CX3CR1之间存在结合位点，提示CX3CR1可能是miR-124的靶基因。CX3CR1主要表达于脊髓小胶质细胞的细胞膜^[19]。

Hu等^[8]采用SD大鼠，接种乳腺癌细胞Walker 256，发现脊髓中CX3CR1的表达水平升高，鞘内注射CX3CR1中和抗体不仅延缓BCP大鼠机械性痛觉异常的发生，而且减弱BCP大鼠的痛敏反应，CX3CR1通过激活p38丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路参与BCP。Cheng等^[9]研究表明鞘内注射Walker 256细胞建立的BCP模型中，脊髓CX3CR1表达上调，胶质细胞活性增加，而白藜芦醇通过抑制脊髓胶质细胞活化和降低CX3CR1表达减轻BCP。这些研究表明CX3CR1在大鼠BCP中发挥重要作用，而关于CX3CR1在小鼠BCP中作用机制的研究较少。本研究通过双荧光素报告基因实验证实CX3CR1是miR-124的靶基因，且过表达miR-124可抑制CX3CR1表达，表明miR-124可靶向并负调控CX3CR1表达。这些数据提示CX3CR1可能参与BCP小鼠的痛觉行为。在后续研究中发现敲低CX3CR1可显著提高BCP小鼠的热痛阈值和机械缩退阈值，提示CX3CR1在BCP小鼠中发挥促痛作用。接着，在BCP大鼠中同时过表达miR-124和CX3CR1。结果表明：CX3CR1可逆转miR-124上调对BCP小鼠痛觉的影响，这些表明miR-124可通过靶向调节CX3CR1参与BCP小鼠的痛觉调节。

综上所述，miR-124负调控CX3CR1表达参与BCP的发生、发展和调制过程。MiR-124有望成为BCP诊断和治疗的新靶点。本研究为进一步明确BCP中的miRNA的功能提供了参考资料。

参考文献

1. 崔青山. 骨癌疼痛的原因、后果及治疗时机[J]. 中国疼痛医学杂志, 2014, 20(4): 196-197.
CUI Qingshan. Causes, consequences and timing of treatment for

- bone cancer pain [J]. Chinese Journal of Pain Medicine, 2014, 20(4): 196-197.
2. Gallelli L, Cione E, Caroleo MC, et al. microRNAs to monitor pain-migraine and drug treatment[J]. *Microna*, 2017, 6(3): 152-156.
 3. Chang HL, Wang HC, Chunag YT, et al. miRNA expression change in dorsal root ganglia after peripheral nerve injury[J]. *J Mol Neurosci*, 2017, 61(2): 169-177.
 4. Elramah S, Lópezgonzález MJ, Bastide M, et al. Spinal miRNA-124 regulates synaptopodin and nociception in an animal model of bone cancer pain[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 10949-10961.
 5. 侯百灵, 刘玥, 夏天娇, 等. 鞘内注射miR-212反义锁核酸对骨癌小鼠痛行为的影响 [J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2013, 22(10): 869-872.
HOU Bailing, LIU Yue, XIA Tianjiao, et al. The effect of miR-212 inhibitor on the pain behavior of bone cancer mice[J]. *Chinese Journal of Behavioral Medicine and Brain Science*, 2013, 22(10): 869-872.
 6. 柴文新, 台燕, 刘伯一, 等. 趋化因子参与慢性痛的机制研究进展[J]. *中国疼痛医学杂志*, 2017, 23(7): 518-523.
CHAI Wenxin, TAI Yan, LIU Boyi, et al. Advances in research on the mechanism of chemokines involved in chronic pain[J]. *Chinese Journal of Pain Medicine*, 2017, 23(7): 518-523.
 7. 胡计婵, 杨建平, 王丽娜, 等. 骨癌痛大鼠脊髓CX3CR1表达的变化[J]. *中华麻醉学杂志*, 2009, 29(4): 336-339.
HU Jihua, YANG Jianping, WANG Lina, et al. Change in expression of CX3CR1 in spinal cord in a rat model of bone cancer pain[J]. *Chinese Journal of Anesthesiology*, 2009, 29(4): 336-339.
 8. Hu JH, Yang JP, Lei L, et al. Involvement of CX3CR1 in bone cancer pain through the activation of microglia p38 MAPK pathway in the spinal cord[J]. *Brain Res*, 2012, 1465: 1-9.
 9. Cheng W, Zhao Y, Liu H, et al. Resveratrol attenuates bone cancer pain through the inhibition of spinal glial activation and CX3CR1 upregulation[J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2015, 28(6): 661-670.
 10. Wakabayashi H, Wakisaka S, Hiraga T, et al. Decreased sensory nerve excitation and bone pain associated with mouse Lewis lung cancer in TRPV1-deficient mice[J]. *J Bone Miner Metab*, 2017, 36(3): 274-285.
 11. 陈锐, 王华, 江伟. 小鼠经寰枢椎蛛网膜下腔置管法的建立[J]. *中国比较医学杂志*, 2013, 23(12): 44-47.
CHEN Rui, WANG Hua, JIANG Wei. Chronic catheterization of the atlantoaxial spinal subarachnoid space in mice[J]. *Chinese Journal of Comparative Medicine*, 2013, 23(12): 44-47.
 12. González-Rodríguez S, Poras H, Menéndez L, et al. Synergistic combinations of the dual enkephalinase inhibitor PL265 given orally with various analgesic compounds acting on different targets, in a murine model of cancer-induced bone pain[J]. *Scand J Pain*, 2017, 14(14): 25-38.
 13. Liu L, Gao XJ, Ren CG, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 contributes to morphine tolerance in rats with cancer-induced bone pain[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(2): 461-466.
 14. 贺小涛, 魏燕燕, 李云庆, 等. 骨癌痛的发生发展研究现状[J]. *神经解剖学杂志*, 2015, 31(3): 374-378.
HE Xiaotao, WEI Yanyan, LI Yunqing, et al. Research status of the occurrence and development of bone cancer pain[J]. *Chinese Journal of Neuroanatomy*, 2015, 31(3): 374-378.
 15. 万信念, 陈涛. 骨癌痛病理机制的研究进展[J]. *广东医学*, 2014, 35(12): 1950-1952.
WAN Xinnian, CHEN Tao. Advances in research on pathological mechanism of bone cancer pain[J]. *Guangdong Medical Journal*, 2014, 35(12): 1950-1952.
 16. 张旭东, 任鹏程, 何印斌, 等. microRNA-93靶向调控Rho相关激酶2/LIMK/Cofilin通路影响骨癌痛小鼠痛行为[J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2017, 38(8): 688-694.
ZHANG Xudong, REN Pengcheng, HE Yinbin, et al. Study on promotion of bone cancer pain via rho associated coiled-coil forming protein kinase2/LIM domain kinase/Cofilin signaling by negative regulation of microRNA in mice[J]. *International Journal of Anesthesiology and Resuscitation*, 2017, 38(8): 688-694.
 17. Gandla J, Lomada SK, Lu J, et al. miR-34c-5p functions as pronociceptive microRNA in cancer pain by targeting Cav2.3 containing calcium channels[J]. *Pain*, 2017, 158(9): 1765-1779.
 18. 邱芳, 刘玉强, 胡旺平, 等. miRNA在疼痛相关离子通道及受体中的作用研究[J]. *生命科学*, 2014, 26(9): 967-973.
QIU Fang, LIU Yuqiang, HU Wangping, et al. The role of miRNA in pain-related ion channels and receptors[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2014, 26(9): 967-973.
 19. Marchesi F, Locatelli M, Solinas G, et al. Role of CX3CR1/CX3CL1 axis in primary and secondary involvement of the nervous system by cancer[J]. *J Neuroimmunol*, 2010, 224(1): 39-44.

本文引用: 胡焱, 冯丹, 李少军. MiR-124靶向调控CX3CR1影响骨癌痛小鼠痛觉[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(4): 721-727. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.04.005

Cite this article as: HU Han, FENG Dan, LI Shaojun. MiR-124 participates in pain in mice with bone cancer pain by targeting CX3CR1 [J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(4): 721-727. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.04.005