

## 电针联合西乐葆缓解大鼠胫骨癌痛

毛应启梁<sup>1</sup>, 任典寰<sup>1</sup>, 米文丽<sup>1</sup>, 刘琼<sup>1</sup>, 王彦青<sup>1,2,3</sup>

1. 复旦大学上海医学院中西医结合系, 上海 200032
2. 复旦大学脑科学研究院针刺原理研究所, 上海 200032
3. 复旦大学医学神经生物学国家重点实验室, 上海 200032

**目的:**建立大鼠胫骨癌痛模型,观察电针和西乐葆对大鼠胫骨癌痛的缓解作用。

**方法:**采用经皮穿刺技术将大鼠乳腺癌细胞 Walker 256 接种至雌性 Wistar 大鼠胫骨骨髓腔内,建立大鼠胫骨癌痛模型。大鼠造模后,采用电针和西乐葆灌胃治疗,观察其对大鼠骨肿瘤引起的机械性痛觉超敏的影响。

**结果:**模型组大鼠后肢逐渐产生机械性痛觉超敏,接种后第 16 天胫骨近心端可见显著的肿瘤生长。单用电针或西乐葆 5 mg/(kg·d) 治疗大鼠,与模型组相比其机械性疼痛阈值差异无统计学意义;治疗后第 22 天和第 26 天,西乐葆 10 mg/(kg·d) 组大鼠后肢机械性疼痛阈值较溶剂对照组提高 ( $P < 0.05$ );治疗后第 10、18 和 23 天,电针合用西乐葆 5 mg/(kg·d) 组大鼠机械性疼痛阈值高于模型组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

**结论:**电针与小剂量西乐葆具有协同作用,合用可以增强对大鼠胫骨癌痛的镇痛效果。

**关键词:** 骨癌痛; 电针; 西乐葆; 镇痛; 大鼠

**中图分类号:** R2-031; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1672-1977(2008)08-0830-06

Maoying QL, Ren DH, Mi WL, Liu Q, Wang YQ. *J Chin Integr Med/ Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao.* 2008; 6(8): 830-835.  
Received December 15, 2007; published online August 15, 2008.  
Free full text (PDF) is available at [www.jcimjournal.com](http://www.jcimjournal.com).  
Indexed/abstracted in and full text link-out at PubMed.  
Forward linking and reference linking via CrossRef.  
DOI: 10.3736/jcim20080812

Open Access

## Analgesic effects of electroacupuncture combined with Celebrex on rats with tibial cancer pain

Qi-liang MAO-YING<sup>1</sup>, Dian-huan REN<sup>1</sup>, Wen-li MI<sup>1</sup>, Qiong LIU<sup>1</sup>, Yan-qing WANG<sup>1,2,3</sup>

1. Department of Integrative Medicine and Neurobiology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China
2. Institute of Acupuncture Research, Institutes of Brain Science, Fudan University, Shanghai 200032, China
3. State Key Laboratory of Medical Neurobiology, Fudan University, Shanghai 200032, China

**Objective:** To establish a proper experimental model of bone cancer pain in rat for acupuncture research, and observe the pain-relieving effect of electroacupuncture (EA) and/or Celebrex on bone cancer pain in rats.

**Methods:** The rat model of bone cancer pain was established by percutaneous direct puncture technique and inoculating the rat mammary gland carcinoma cells Walker 256 into tibial medullary cavity directly, and evaluated by detecting the bone tumor growth and mechanical allodynia. The effects of daily EA treatment and/or Celebrex treatment on the rat mechanical allodynia after intratibial Walker 256 inoculation was observed in this study.

**Results:** Significant mechanical allodynia in ipsilateral hind paw and tumor growth in proximal end of tibial bone of rats in the untreated group were observed after intratibial Walker 256 inoculation. The mechanical allodynia

**基金项目:** 国家自然科学基金青年基金项目 (No. 30500678); 霍英东基金会高等院校青年教师基金 (No. 0246-05-FN360009); 复旦大学上海医学院青年骨干科研启动基金项目 (No. 07J03)

Correspondence: Yan-qing WANG, PhD, Associate Professor; Tel: 021-54237496; E-mail: wangyanqing@shmu.edu.cn

thresholds in rats that received EA or 5 mg/ (kg · d) Celebrex treatment showed no significant difference as compared with that of rats in the untreated group. However, the mechanical allodynia thresholds of rats in 10 mg/ (kg · d) Celebrex group showed significant increase after 22- and 26-day treatment as compared with that in the methyl cellulose (MC) group. There was significant difference between rats with EA combined with 5 mg/ (kg · d) Celebrex treatment and rats in the untreated group after 10-, 18- and 23-day treatment.

**Conclusion :** EA and 5 mg/ (kg · d) Celebrex have synergistic effect on pain relieving and their combined use may enhance the analgesic effect on bone cancer pain.

**Keywords :** bone cancer pain; electroacupuncture; Celebrex; analgesia; rats

癌痛是临床上常见的慢性病理性疼痛,严重影响了肿瘤患者的生活质量。研究表明,针刺和环氧合酶 2(cyclooxygenase 2, COX-2) 抑制剂有缓解癌痛作用<sup>[1-3]</sup>,但有一定的局限性。针药结合是提高镇痛效应的重要途径<sup>[4]</sup>,不仅能减少药物用量及不良反应,还能有效克服针刺镇痛效果有限的缺点。本研究在改进的大鼠胫骨癌痛模型上,应用电针和(或)COX-2 抑制剂西乐葆治疗,观察其对骨癌痛大鼠后肢机械性超敏的影响,为临床推广针刺镇痛应用,提高镇痛疗效提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 雌性 Wistar 大鼠,体质量(70 ± 10)g 者 3 只(用于腹水瘤传代),体质量(150 ± 10)g 者 152 只(用于癌痛模型制作与电针或药物治疗),由上海实验动物中心提供,许可证号为 SCXK(沪)2007-0005。动物饲养于 12 h/12 h 昼夜交替,室温(24 ± 0.5) 的环境中,自由摄食和饮水,在实验环境中适应 1 周后进行实验。

1.2 Walker 256 大鼠乳腺癌细胞 大鼠乳腺癌腹水瘤细胞 Walker 256 购自上海生物医学工程研究所。取 0.5 ml 腹水瘤(细胞数约 2.5 × 10<sup>7</sup> 个/ml)接种至(70 ± 10)g 雌性 Wistar 大鼠腹腔内,6~7 d 后抽取 5 ml 腹水,加入等量 PBS 充分混匀后 1 300 r/min 离心 3 min, PBS 重悬,计数并离心收集细胞,调整到所需细胞浓度(1 × 10<sup>8</sup> 个/ml),置于冰盒内备用。将配置后的 Walker 256 细胞用沸水浴处理 3 min 制备热灭活细胞。

1.3 大鼠胫骨癌痛模型的制作 对动物的处理符合国际实验动物使用准则。本研究参照 Medhurst 等<sup>[5]</sup>报道的大鼠胫骨癌痛模型进行改进,采用微量进样器直接经皮穿刺,向 Wistar 大鼠胫骨骨髓腔内接种 Walker256 大鼠乳腺癌细胞,建立新的大鼠胫骨癌痛模型<sup>[6]</sup>。基本步骤如下:大鼠腹腔注射 8% 水合氯醛(5 ml/kg 体质量)麻醉后,右侧膝关节部位剃毛,表面皮肤用 70% 酒精消毒;左手指固定膝关节使其表面皮肤紧张,然后用 7 号针头在膝关节处(髌韧带外侧缘)沿胫骨纵轴走向往胫骨远端钻

孔,深约 1 cm,用微量注射器(10 μl)向胫骨骨髓腔内注射肿瘤细胞建立胫骨癌痛模型。微量进样器依次吸入:1 μl 空气、2 μl 明胶海绵水溶液、1 μl 空气、4 μl 肿瘤细胞、1 μl 空气。另有大鼠注射 4 μl PBS 或热灭活细胞做为对照。接种后留针片刻。

1.4 大鼠胫骨肿瘤生长检测 实验结束后大鼠以水合氯醛麻醉处死,直接取新鲜胫骨,观察胫骨肿瘤生长情况。

1.5 大鼠机械性痛觉超敏测定 在室温(22 ± 1) 的安静环境中,采用弗莱毛(von Frey hair, Stoelting, Wood Dale, 美国)细丝测定机械性痛觉超敏来评定癌痛大鼠疼痛状况。测定时将大鼠置于底为网格的特制有机玻璃格子(26 cm × 20 cm × 14 cm)内,适应 20 min 后,根据 Dixon<sup>[7]</sup>介绍的 up-and-down 法,将一系列 von Frey 细丝(0.4、0.6、1.4、2.0、4.0、6.0、8.0、15.0 g)从 2.0 g 力度开始参照 up-and-down 方法刺激大鼠移植侧脚掌中部皮肤,观察大鼠缩足反应<sup>[6]</sup>。无反应记为“O”,有反应记为“X”。如果第一根毛刺激没有反应,则给予大一级力度的毛刺激;如果有反应则改用小一级力度的毛刺激,反复类推,从有反应的那一次开始测 5 次,得到一串以“O”或“X”组合的序列,将该序列和最后一根毛的力度(f)输入软件计算出机械性疼痛阈值作为机械性痛阈值。50% 缩足反应阈值(g) = (10<sup>[Xf+k]</sup>)/10 000。其中 Xf = log(f); 为各个毛力度取 log 后的均差,在此约等于 0.224;k 为根据测量所得“X”、“O”序列查表后得到的值,此部分查表和计算均由软件自动处理。为避免频繁或长时间的刺激造成动物耐受或痛敏,每根毛每次刺激时间为 1~2 s,前后两次不同刺激间隔 10 min;实验中间隔 4 d 以上测量一次机械性痛觉超敏,即弗莱毛实验。

1.6 电针治疗方法 室温(22 ± 1) 的安静环境中,将大鼠躯干固定于特制固定器上,头部与四肢可自由活动,待动物静置 20 min 后,将针灸针刺入动物右侧足三里(ST 36,位于膝关节后外侧,腓骨小头下约 5 mm 处,直刺 7 mm)与昆仑穴(BL 60,位于后肢外踝与跟腱之间的凹陷中,直刺 3 mm),通过 G6805-1A 型多功能电针治疗仪(上海华谊医用仪

器厂)给予疏密波,疏波频率约 4 Hz,串长 2.5 s,密波频率约 100 Hz,串长 5 s,强度以引起大鼠后肢肌肉轻微抖动而不嘶叫为宜(约 1 mA)。大鼠自造模后第 4 天起予电针治疗,治疗时间为 30 min,1 次/d,直至整个实验结束。

1.7 西乐葆配制与给药方法 甲基纤维素(methyl cellulose, MC)由国药集团化学试剂有限公司进口分装,批号为 F20050119,0.5 g 溶于双蒸水中定容至 100 ml,配成 0.5% 甲基纤维素溶液。西乐葆,0.2 g/胶囊,由西尔大药厂波多黎各分厂生产,普强苏州制药有限公司进口分包装,生产批号为 520,分包装批号为 0407062,用 0.5% 甲基纤维素水溶液配成所需浓度(质量浓度 0.05%、0.1% 和 0.3%)。以特制的灌胃针进行灌胃给药。

1.8 实验分组与设计 为评价胫骨癌痛大鼠模型制作是否成功,实验设计将 40 只 Wistar 大鼠随机分为正常组、PBS 组、热灭活肿瘤细胞组和 Walker 256 肿瘤细胞组(模型组),每组 10 只。所有大鼠在造模前以及造模后第 4、8、12 和 16 天采用弗莱毛测定后肢机械性痛阈,造模 16 d 后取胫骨观察肿瘤生长情况。

24 只 Wistar 大鼠胫骨骨髓腔接种肿瘤细胞后随机分为模型组和电针组,每组 12 只。分别于造模前和电针治疗后第 6、12、18 和 23 天采用弗莱毛测定后肢机械性痛阈。

40 只 Wistar 大鼠胫骨骨髓腔接种肿瘤细胞后随机分为 4 组:MC 对照组(MC 灌胃,  $n = 12$ )、西乐葆 5 mg/(kg·d)组( $n = 12$ )、西乐葆 10 mg/(kg·d)组( $n = 8$ )和西乐葆 30 mg/(kg·d)组( $n = 8$ )。造模后第 4 天开始灌胃给药,每天早晚 8 时各 1 次。分别在西乐葆治疗前和治疗后第 6、13、18、22 和 26 天采用弗莱毛测定机械性痛阈进行西乐葆剂量筛选。因前期治疗镇痛效果不明显,西乐葆 5 mg/(kg·d)组治疗后第 26 天时未予检测。

48 只 Wistar 大鼠胫骨骨髓腔接种肿瘤细胞后随机分为模型组、电针组、西乐葆 5 mg/(kg·d)组、电针合用西乐葆 5 mg/(kg·d)组,每组 12 只。大鼠在造模后第 4 天开始给予西乐葆灌胃治疗和/或电针治疗,西乐葆于每天早、晚 8 时各 1 次灌胃,电针治疗 1 次/d,每次 30 min,分别在治疗前及治疗后第 6、10、18、23 天测定大鼠后肢机械性痛阈情况。

1.9 统计学方法 计量资料实验数据以  $\bar{x} \pm s_x$  表示。应用 SPSS 10.0 软件进行统计,采用单因素方差分析,检验水准为  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 大鼠胫骨接种肿瘤细胞后胫骨肿瘤生长情况

与正常组大鼠胫骨相比, Walker 256 肿瘤细胞组大鼠胫骨近端 1/3 骨缘不规则,表面凹凸不平,色略黄,质地变脆易碎(见图 1)。进一步的骨病理切片 HE 染色显示, Walker 256 肿瘤细胞组胫骨内存在显著的肿瘤生长,骨组织破坏,而正常组、PBS 以及热灭活细胞对照组未见有明显的骨质破坏,与文献报道一致<sup>[6]</sup>。



图 1 正常和 Walker 256 肿瘤细胞接种后第 16 天大鼠胫骨  
Figure 1 Tibial bone of a normal control rat and Walker 256 tumor-bearing rat 16 d after tumor inoculation

2.2 大鼠胫骨接种肿瘤细胞对机械性痛觉超敏的影响 与正常组大鼠相比,模型组大鼠在接种肿瘤细胞后第 8、12 和 16 天,大鼠接种侧后肢机械性疼痛阈值低于正常大鼠,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。而 PBS 组和热灭活肿瘤细胞组大鼠机械性疼痛阈值与正常组大鼠相比,各个时间点差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见图 2。

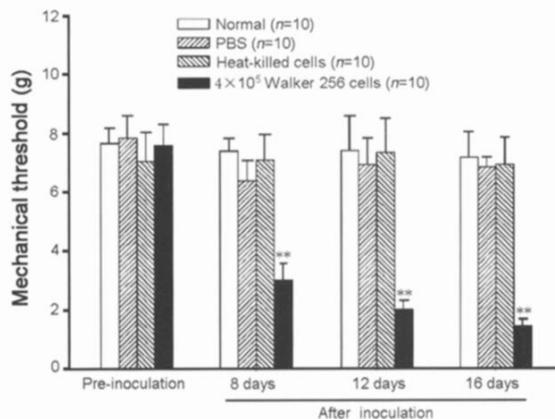


图 2 胫骨癌痛模型大鼠后肢机械性痛超敏的变化情况  
Figure 2 Changes of mechanical allodynia of the ipsilateral hind paw in rats with tibial cancer pain

\*\*  $P < 0.01$ , vs normal group.

2.3 电针对大鼠胫骨癌痛时机械性痛觉超敏的影响 电针组与模型组大鼠后肢机械性疼痛阈值在实验过程中差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 3。

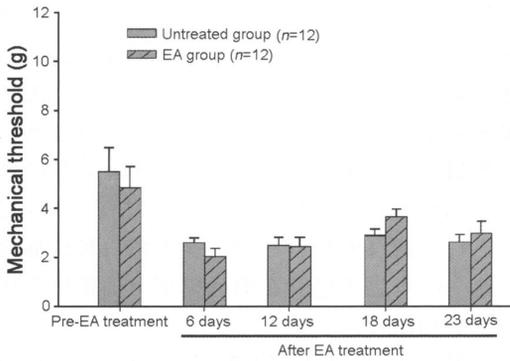


图 3 电针对胫骨癌痛大鼠机械性痛觉超敏的影响  
Figure 3 Effects of EA on mechanical allodynia of the ipsilateral hind paw in rats with tibial cancer pain

2.4 不同剂量西乐葆对大鼠胫骨癌痛时机械性痛觉超敏的影响 治疗后第 22 和 26 天,西乐葆 10 mg/(kg·d)组大鼠后肢机械性疼痛阈值高于 MC 对照组 ( $P < 0.05$ )。而西乐葆 5 和 30 mg/(kg·d)组大鼠,其右侧后肢机械性疼痛阈值与模型组大鼠相比,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 4。

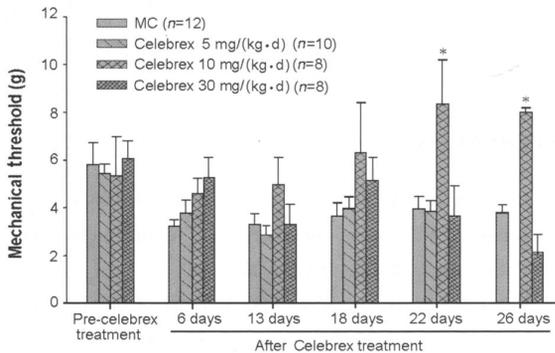


图 4 不同剂量西乐葆对胫骨癌痛大鼠机械性痛觉超敏的影响  
Figure 4 Effects of different doses of Celebrex on mechanical allodynia of the ipsilateral hind paw in rats with tibial cancer pain  
\*  $P < 0.05$ , vs MC group.

2.5 电针合用小剂量西乐葆对大鼠胫骨癌痛时机械性痛觉超敏的影响 在整个实验过程中,与模型组大鼠相比,电针组和西乐葆 5 mg/(kg·d)组大鼠右侧后肢机械性疼痛阈值无明显改变 ( $P > 0.05$ )。在治疗后第 6、18 和 23 天,电针合用西乐葆 5 mg/(kg·d)组大鼠机械性疼痛阈值高于模型组大鼠,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 5。

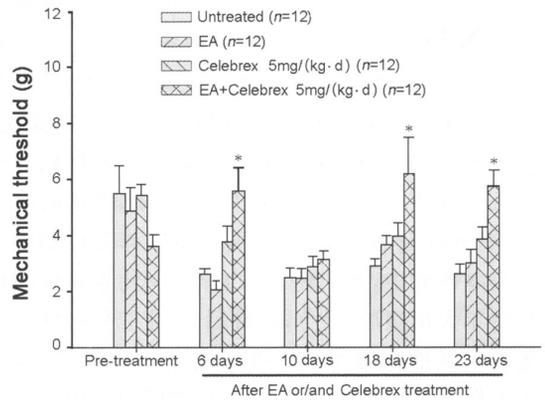


图 5 电针合用西乐葆对胫骨癌痛大鼠机械性痛觉超敏的影响  
Figure 5 Effects of EA combined with Celebrex on mechanical allodynia of the ipsilateral hind paw in rats with tibial cancer pain  
\*  $P < 0.05$ , vs untreated group.

### 3 讨论

癌痛即恶性肿瘤引起的疼痛,是临床上常见的慢性病理性疼痛之一,严重影响了患者的生活质量。在肿瘤晚期或转移性肿瘤患者中,约有 75%~95% 的患者因伴有严重的疼痛而需要接受治疗。WHO 倡导对癌痛实施三阶梯疗法<sup>[8]</sup>,并取得了一定的成效。但是由于阿片类药物具有成瘾性、耐受性和不良反应等缺点,或者是患者对该类药物无反应,加上癌痛本身机制的复杂性,以至于仍有约 45% 的癌痛得不到有效控制<sup>[8,9]</sup>。随着对肿瘤的诊断技术和治疗方法的改进,恶性肿瘤患者的生存时间正不断延长,相应地,他们对提高生活质量的要求也越来越迫切。

自 1998 年 Wacnik 等首次报道小鼠癌痛模型以来,又有多个癌痛模型相继问世<sup>[10]</sup>,如 2002 年 Medhurst 等<sup>[5]</sup>报道的大鼠胫骨癌痛模型,即将转移性大鼠乳腺癌细胞 (metastatic rat mammary tumor, MRMT-1) 经手术接种至大鼠胫骨骨髓腔内,造成动物一系列的疼痛行为变化以及胫骨骨质破坏。以往的癌痛模型,通常是采用体外培养技术进行肿瘤细胞培养,接种时先在肿瘤接种部位做一皮肤切口,而后在相应的骨上钻孔接种肿瘤细胞,如小鼠癌痛模型,通常是将培养的溶骨纤维肉瘤细胞 NCTC 2472 经手术接种至小鼠股骨<sup>[11,12]</sup>、肱骨<sup>[13]</sup>或者跟骨<sup>[14]</sup>骨髓腔内。Medhurst 等<sup>[10]</sup>报道的大鼠胫骨癌痛模型则是将离体培养的 MRMT-1 大鼠乳腺癌细胞经手术创伤接种至大鼠胫骨骨髓腔内。本课题组从 2002 年开始着手癌痛实验研究,参照 Medhurst 等<sup>[10]</sup>报道的大鼠胫骨癌痛模型和 Shwei 等<sup>[11]</sup>的小鼠股骨癌痛模型并做了改进,选用了大鼠

乳腺癌细胞 Walker 256(来源于孕白化鼠的乳腺组织自发性肿瘤,具有骨侵袭和骨溶解作用<sup>[15, 16]</sup>),将 Walker 256 细胞经皮穿刺接种至同源雌性大鼠胫骨近端骨髓腔内,成功建立新的大鼠骨癌痛模型。结果显示,胫骨接种肿瘤细胞大鼠胫骨内有显著肿瘤生长,von Frey 细丝刺激引起的机械性痛阈显著降低,提示存在痛觉超敏,说明模型制作是成功的。

在本研究中,我们将 Walker 256 乳腺癌细胞接种至幼年大鼠腹腔内<sup>[17]</sup>,接种后 1 周左右选取腹水明显的大鼠抽取腹水,经 PBS 洗涤计数收集细胞,用于大鼠癌痛模型的制作。该新建模型改用腹水瘤细胞,避免了繁琐的细胞体外培养过程。模型制作过程中,我们经过反复改进,选取胫骨上较为容易穿刺的髁间隆起作为接种进针点,采用经皮穿刺进行骨髓腔内肿瘤细胞的接种,避免了手术创伤容易引起动物伤口感染以及伤口在针刺治疗时开裂(手术切口在足三里附近)等缺点,同时也简化了造模过程,缩短了造模时间,在一定程度上减少了因细胞体外存放时间过长而引起的细胞活性改变所导致的模型间的差异。以往报道的模型大多选取膝关节附近进行开创手术<sup>[5, 11, 12]</sup>,由于膝关节经常处于活动状态,加上本课题选取同侧足三里穴(位于膝关节附近)进行电针治疗,很大程度上增加了大鼠伤口开裂和并发感染的机会,不利于手术伤口的愈合。改进后采用经皮穿刺后大大减少了开创手术引起感染,使得造模后大鼠更快地恢复,也解决了改进前扎针困难的缺点。因此与国际上报道的模型相比,本研究新建模型在保证模型稳定性的前提下,具有操作简便、手术创伤小、成功率高和重复性好的优点。本研究建立的骨癌痛模型,将为进一步探索癌痛产生机制,进行癌痛疗效观察和癌痛新药评估等提供一个有价值的研究工具。

西乐葆是一种临床上广泛应用的选择性 COX-2 抑制剂。研究表明,COX-2 抑制剂可通过抑制 COX-2 的活性从而减少在疼痛及炎性过程中 PGE<sub>2</sub> 等的产生,临床和实验研究表明 COX-2 抑制剂对癌痛也有缓解作用<sup>[18, 19]</sup>。本研究通过不同剂量的西乐葆灌胃治疗,观察其对大鼠胫骨癌痛的缓解作用,结果提示,给予西乐葆 10 mg/(kg·d) 治疗的大鼠,其右侧后肢 von Frey 细丝引起机械性痛阈与甲基纤维素溶剂对照组相比显著提高。而给予西乐葆 5 mg/(kg·d) 和 30 mg/(kg·d) 治疗的大鼠,痛阈无明显变化,提示西乐葆 5 mg/(kg·d) 无镇痛作用可能是药物浓度太低不足以达到镇痛作用,而西乐葆 30 mg/(kg·d) 组大鼠在灌胃后行为反常,互相挤压、踩踏,争抢喝水,提示大剂量西乐葆有可能产

生较强的胃肠道反应和毒副作用。这一结果提示应予适当剂量的西乐葆缓解大鼠胫骨癌痛,增加剂量会增加毒副作用。

针刺镇痛是一种非药物疗法,具有作用广、副作用小和经济简便的优点,临床实践已经证实针刺对急性痛和慢性痛都有镇痛作用。临床研究表明,针刺能有效缓解癌痛<sup>[1, 2]</sup>。因此首先对针刺能否缓解大鼠胫骨癌痛进行了研究。实验结果表明,电针组与模型组大鼠右侧后肢 von Frey 细丝引起机械性痛阈比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),提示多次电针未能有效缓解胫骨癌痛大鼠机械性痛觉超敏。这一结果提示电针在癌痛模型上的镇痛作用具有一定的局限性。

实践证实,针药结合优势互补,是提高镇痛效应的重要途径<sup>[4]</sup>。因此本研究采用电针和本来没有显著镇痛作用的西乐葆 5 mg/(kg·d) 合用观察对大鼠胫骨癌痛的镇痛作用。研究表明,单用电针或单用西乐葆 5 mg/(kg·d) 对大鼠胫骨癌痛时的机械性痛阈与模型组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而两者合用治疗一段时间后大鼠机械性痛阈高于模型组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示原本无明显镇痛效应的电针及小剂量西乐葆,合用以后在一定程度上缓解了大鼠的癌痛,提示电针与西乐葆具有协同作用。这一协同作用提示二者合用不仅减少西乐葆的用量,还可以有效增强电针在骨癌痛中的镇痛效果,但是这种协同作用的机制有待于进一步研究。

## REFERENCES

- 1 Johnstone PA, Polston GR, Niemtzow RC, *et al.* Integration of acupuncture into the oncology clinic. *Palliat Med.* 2002; 16(3): 235-239.
- 2 Pan CX, Morrison RS, Ness J, *et al.* Complementary and alternative medicine in the management of pain, dyspnea, and nausea and vomiting near the end of life. A systematic review. *J Pain Symptom Manage.* 2000; 20(5): 374-387.
- 3 Fox A, Medhurst S, Courade JP, *et al.* Anti-hyperalgesic activity of the cox-2 inhibitor lumiracoxib in a model of bone cancer pain in the rat. *Pain.* 2004; 107(1-2): 33-40.
- 4 Zhu CB, Xu SF, Wu GC, *et al.* Research on combination of acupuncture with drugs. *World J Acup-Mox.* 1997; 7(4): 54-59.
- 5 Medhurst SJ, Walker K, Bowes M, *et al.* A rat model of bone cancer pain. *Pain.* 2002; 96(1-2): 129-140.
- 6 Mao Ying QL, Zhao J, Dong ZQ, *et al.* A rat model of bone cancer pain induced by intra-tibia inoculation of

- Walker 256 mammary gland carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006; 345(4): 1292-1298.
- 7 Dixon WJ. Efficient analysis of experimental observations. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1980; 20: 441-462.
  - 8 Mantyh PW, Clohisy DR, Koltzenburg M, *et al.* Molecular mechanisms of cancer pain. *Nat Rev Cancer.* 2002; 2(3): 201-209.
  - 9 Mercadante S. Recent progress in the pharmacotherapy of cancer pain. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2001; 1(3): 487-494.
  - 10 Mao Ying QL, Wang YQ, Wu GC. Experimental research progress in cancer pain. *Guo Wai Yi Xue Sheng Li Bing Li Ke Xue Yu Lin Chuang Fen Ce.* 2004; 24(2): 172-174. Chinese.  
毛应启梁, 王彦青, 吴根诚. 癌疼痛实验研究进展. *国外医学生理病理科学与临床分册.* 2004; 24(2): 172-174.
  - 11 Schwei MJ, Honore P, Rogers SD, *et al.* Neurochemical and cellular reorganization of the spinal cord in a murine model of bone cancer pain. *J Neurosci.* 1999; 19(24): 10886-10897.
  - 12 Honore P, Rogers SD, Schwei MJ, *et al.* Murine models of inflammatory, neuropathic and cancer pain each generates a unique set of neurochemical changes in the spinal cord and sensory neurons. *Neuroscience.* 2000; 98(3): 585-598.
  - 13 Kehl LJ, Hamamoto DT, Wacnik PW, *et al.* A cannabinoid agonist differentially attenuates deep tissue hyperalgesia in animal models of cancer and inflammatory muscle pain. *Pain.* 2003; 103(1-2): 175-186.
  - 14 Wacnik PW, Eikmeier LJ, Ruggles TR, *et al.* Functional interactions between tumor and peripheral nerve: morphology, algogen identification, and behavioral characterization of a new murine model of cancer pain. *J Neurosci.* 2001; 21(23): 9355-9366.
  - 15 Simpkins H, Lehman JM, Mazurkiewicz JE, *et al.* A morphological and phenotypic analysis of Walker 256 cells. *Cancer Res.* 1991; 51(4): 1334-1338.
  - 16 Shi B, Fu ZD, Lei XH, *et al.* Inhibitory effect of samarium-153-labeled ethylenediaminetetramethylene phosphonate (EDTMP) on bone invasion and osteolysis in Walker 256 carcinoma bearing rats. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 1997; 19(6): 423-426. Chinese with abstract in English.  
施波, 傅招娣, 雷小虹, 等. <sup>153</sup>Sm-乙二胺四亚甲基膦酸对 Walker256 癌荷瘤大鼠骨侵袭骨溶解的抑制作用. *中华肿瘤杂志.* 1997; 19(6): 423-426.
  - 17 Ao SQ, Yang XF, Zhao RC, *et al.* An animal model of cancer related hypercalcaemia induced by Walker<sub>256</sub> carcinoma in rats. *Shanghai Shi Yan Dong Wu Ke Xue.* 2000; 20(1): 37-39. Chinese with abstract in English.  
敖淑清, 杨小芳, 赵人, 等. Walker<sub>256</sub> 癌肉瘤引发大鼠高血钙模型. *上海实验动物科学.* 2000; 20(1): 37-39.
  - 18 Guo GL, Zhang XH, Yao ZX. The path of anti-mammary gland carcinoma by selective COX-2 inhibitor. *Zhonghua Shi Yan Wai Ke Za Zhi.* 2005; 22(3): 378. Chinese.  
郭贵龙, 张筱骅, 姚榛祥. 选择性环氧化酶-2 抑制剂的抗乳腺癌作用途径. *中华实验外科杂志.* 2005; 22(3): 378.
  - 19 Mercadante S. The use of anti-inflammatory drugs in cancer pain. *Cancer Treat Rev.* 2001; 27(1): 51-61.