

# 华蟾素胶囊联合美施康定对肺腺癌EGFR突变骨转移癌痛患者中circRNAs差异表达的影响

郭宣娇<sup>1</sup>, 曹丽芳<sup>1</sup>, 郭冬梅<sup>2</sup>, 徐超<sup>2</sup>, 王爱桃<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>内蒙古科技大学包头医学院研究生院, 内蒙古 包头

<sup>2</sup>内蒙古自治区人民医院麻醉科, 内蒙古 呼和浩特

<sup>3</sup>内蒙古自治区口腔医院麻醉科, 内蒙古 呼和浩特

收稿日期: 2026年3月15日; 录用日期: 2026年4月9日; 发布日期: 2026年4月15日

## 摘要

**目的:** 筛选并分析华蟾素胶囊联合美施康定治疗肺腺癌EGFR突变骨转移癌痛患者血浆中差异表达的环状RNA (circular RNA, circRNAs), 通过临床数据追踪、生物信息学方法探讨该联合方案调控癌痛的潜在分子机制。**方法:** 选取肺腺癌EGFR突变骨转移癌痛患者60例, 随机分为联合治疗组和单一用药组, 每组各30例; 另从两组中各随机选取6例患者作为测序亚组, 采集测序亚组患者治疗前后血浆标本, 用于circRNAs高通量测序分析。追踪两组患者疼痛达标时间、美施康定日均用量、不良反应发生率。采用高通量测序技术检测测序亚组血浆circRNAs表达谱, 以 $|\log_2(FC)| > 1.5$ 且 $FDR < 0.05$ 为标准筛选差异表达circRNAs, 组间比较采用t检验, 并对差异circRNAs进行生物信息学分析。分析临床疗效指标与关键circRNAs表达变化的相关性。**结果:** 联合治疗组疼痛达标时间显著短于单一用药组, 美施康定日均用量显著低于单一用药组, 不良反应总发生率显著低于单一用药组( $P < 0.05$ )。联合治疗组与单一用药组相比, 共筛选出710个差异表达circRNAs ( $P < 0.05$ ), 其中326个上调, 384个下调。GO分析显示, 差异circRNAs亲本基因主要富集于转录调控活性、蛋白质翻译后修饰、细胞内信号转导调控等生物学过程与分子功能; KEGG通路分析提示, 差异circRNAs主要富集于癌症相关通路、激素信号转导、物质代谢与转运等通路。**结论:** 华蟾素胶囊联合美施康定可显著提升镇痛效率、减少阿片类药物用量并降低不良反应, 并可显著改变肺腺癌EGFR突变骨转移癌痛患者血浆circRNAs表达谱。circRNAs可能作为联合治疗调控网络中的关键节点, 通过重塑miRNA功能取向, 介导中药与阿片类药物协同抗肿瘤及镇痛效应。hsa\_circ\_0039161、hsa\_circ\_0001707等关键circRNAs有望成为疗效评估潜在生物标志物, 为阐明中西医结合治疗癌痛的分子机制及实现癌痛精准治疗提供新的理论依据与研究方向。

## 关键词

肺腺癌, EGFR突变, 骨转移, 癌性疼痛, 环状RNA, 生物标志物

\*通讯作者。

**文章引用:** 郭宣娇, 曹丽芳, 郭冬梅, 徐超, 王爱桃. 华蟾素胶囊联合美施康定对肺腺癌 EGFR 突变骨转移癌痛患者中 circRNAs 差异表达的影响[J]. 临床医学进展, 2026, 16(4): 3098-3109. DOI: 10.12677/acm.2026.1641568

# Effects of Huachansu Capsules Combined with MS Contin on Differentially Expressed circRNAs in Plasma of Patients with EGFR-Mutant Lung Adenocarcinoma and Bone Metastasis-Related Cancer Pain

Xuanjiao Guo<sup>1</sup>, Lifang Cao<sup>1</sup>, Dongmei Guo<sup>2</sup>, Chao Xu<sup>2</sup>, Aitao Wang<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Graduate School, Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou Inner Mongolia

<sup>2</sup>Department of Anesthesiology, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot Inner Mongolia

<sup>3</sup>Department of Anesthesiology, Inner Mongolia Stomatological Hospital, Hohhot Inner Mongolia

Received: March 15, 2026; accepted: April 9, 2026; published: April 15, 2026

## Abstract

**Objective:** To screen and analyze the differentially expressed circular RNAs (circRNAs) in the plasma of patients with EGFR-mutant lung adenocarcinoma complicated with bone metastasis-related cancer pain who were treated with Huachansu Capsules combined with MS Contin, and to explore the potential molecular mechanism of this combined regimen in regulating cancer pain through clinical data tracking and bioinformatics methods. **Methods:** A total of 60 patients with EGFR-mutant lung adenocarcinoma and bone metastasis-related cancer pain were enrolled and randomly divided into a combined treatment group and a monotherapy group, with 30 cases in each group. Additionally, 6 patients were randomly selected from each group to form a sequencing subgroup, and plasma samples of patients in the sequencing subgroup were collected before and after treatment for high-throughput sequencing analysis of circRNAs. The pain relief time, daily dosage of MS Contin and incidence of adverse reactions were tracked in both groups. High-throughput sequencing technology was used to detect the plasma circRNA expression profiles of the sequencing subgroup. Differentially expressed circRNAs were screened with the criteria of  $|\log_2(\text{FC})| > 1.5$  and  $\text{FDR} < 0.05$ , independent samples t-test was used for inter-group comparison, and bioinformatics analysis was performed on the differentially expressed circRNAs. The correlation between clinical efficacy indicators and the expression changes of key circRNAs was analyzed. **Results:** The pain relief time of the combined treatment group was significantly shorter than that of the monotherapy group, the total consumption of MS Contin equivalent dose was significantly lower than that of the monotherapy group, and the total incidence of adverse reactions was significantly lower than that of the monotherapy group ( $P < 0.05$ ). A total of 710 differentially expressed circRNAs were identified in the combined treatment group compared with the monotherapy group ( $P < 0.05$ ), including 326 up-regulated and 384 down-regulated ones. Gene Ontology (GO) analysis showed that the parental genes of the differentially expressed circRNAs were mainly enriched in biological processes and molecular functions such as transcriptional regulatory activity, post-translational protein modification, and regulation of intracellular signal transduction. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis indicated that these differentially expressed circRNAs were mainly enriched in cancer-related pathways, hormone signal transduction, substance metabolism and transport pathways, etc.

**Conclusion: Huachansu Capsules combined with MS Contin can significantly improve analgesic efficiency, reduce opioid dosage and decrease adverse reactions, and also remarkably alter the plasma circRNA expression profile in patients with EGFR-mutant lung adenocarcinoma and bone metastasis-related cancer pain. circRNAs may serve as key nodes in the regulatory network of the combined therapy, and mediate the synergistic anti-tumor and analgesic effects of traditional Chinese medicine combined with opioids by reshaping the functional orientation of miRNAs. Key circRNAs such as hsa\_circ\_0039161 and hsa\_circ\_0001707 are expected to be potential biomarkers for therapeutic efficacy evaluation, which provides a new theoretical basis and research direction for clarifying the molecular mechanism of integrated traditional Chinese and Western medicine in the treatment of cancer pain and realizing precise treatment of cancer pain.**

## Keywords

Lung Adenocarcinoma, EGFR Mutation, Bone Metastasis, Cancer Pain, Circular RNA, Biomarkers

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 前言

肺癌是全球发病率及死亡率最高的恶性肿瘤之一，其中非小细胞肺癌(NSCLC)约占 85%，肺腺癌(LUAD)为最主要病理亚型[1][2]。表皮生长因子受体(EGFR)突变是肺腺癌关键驱动基因，靶向治疗显著改善了此类患者预后[3]。但疾病进展过程中，约 30%~40%肺腺癌患者会出现骨转移，继发剧烈、持续性癌性疼痛，严重影响晚期患者生活质量与生存预后[4][5]。癌痛规范化管理是肿瘤支持治疗的核心内容。

阿片类药物为中重度癌痛治疗的基础药物，硫酸吗啡缓释片(美施康定)作为临床常用强阿片类药物，镇痛效果确切，但长期应用易出现耐受、成瘾、便秘、呼吸抑制等不良反应，且部分患者镇痛效果不佳，临床应用受限[6][7]。因此，探索增效减毒、改善镇痛应答的联合治疗方案，具有重要临床价值。

中医药在肿瘤姑息治疗与癌痛管理中具有独特优势。华蟾素胶囊为中华大蟾蜍皮提取物制成的中药制剂，具有解毒、消肿、止痛功效[8]。临床研究证实，华蟾素胶囊单用或联合放化疗可有效缓解癌痛，并对阿片类药物具有潜在增敏作用[9]。但其联合美施康定治疗肺腺癌骨转移癌痛的分子机制，尤其从表观遗传层面的调控机制尚未阐明。

环状 RNA (circRNAs)是一类具有共价闭合环状结构的内源性非编码 RNA，结构稳定、表达特异，可通过 miRNA 海绵、结合 RNA 结合蛋白、编码功能性小肽等方式，在肿瘤发生发展、转移、治疗抵抗及疼痛调控中发挥关键作用[10]-[12]。circRNAs 在体液中稳定性高、易于检测，是极具临床转化价值的液体活检标志物[13]。

基于此，本研究提出科学假说：华蟾素胶囊联合美施康定可能通过调控肺腺癌 EGFR 突变骨转移癌痛患者血浆特定 circRNAs 表达谱，进而参与癌痛调控。本研究采用高通量测序结合生物信息学分析，系统筛选并鉴定联合治疗相关差异 circRNAs，探讨其潜在功能与调控通路，旨在从 circRNAs 水平揭示中西医结合镇痛机制，为寻找疗效监测生物标志物、实现癌痛精准治疗提供实验依据与理论基础。

## 2. 研究对象与分组

选取 2023 年 8 月~2025 年 8 月内蒙古自治区人民医院收治的肺腺癌 EGFR 突变骨转移癌痛患者 60 例。

## 2.1. 纳入标准

① 经病理学或细胞学确诊为晚期肺腺癌，EGFR 基因敏感突变，合并骨转移及癌痛；② 中重度癌痛，数字疼痛评分法(NRS) > 4 分，既往未接受阿片类药物镇痛或镇痛效果不佳；③ 能够配合疼痛评估及随访，自愿参与本研究；④ 年龄 18~80 岁，意识清楚、沟通良好、依从性良好；⑤ 预计生存期  $\geq 3$  个月；⑥ 治疗后可达到有效镇痛应答(NRS  $\leq 3$  分)。

## 2.2. 排除标准

① 合并精神疾病、严重神经系统疾病；② 因严重不良反应无法耐受研究药物；③ 无法口服给药；④ 一般状况差、合并肿瘤急症、生命体征不稳定或重要器官功能衰竭；⑤ 对华蟾素胶囊、吗啡类药物过敏，存在用药禁忌，妊娠或哺乳期女性；⑥ 药物滥用史、自杀倾向或其他不适合入组情况。

## 2.3. 分组与治疗方案

采用随机数字表法将患者分为两组(各 30 例)，另从两组中各随机选取 6 例患者，组成测序亚组(每组 6 例)，用于血浆 circRNAs 高通量测序分析，测序亚组基线资料与所在大组无显著差异( $P > 0.05$ )，具有代表性。**单一用药组(C 组)**：口服美施康定，起始剂量 10 mg，每 12 h 1 次；每 12 h 评估疼痛，若 NRS > 3 分或影响睡眠，剂量调整，直至 NRS  $\leq 3$  分并维持该剂量。**联合治疗组(D 组)**：在美施康定用法、用量同 C 组基础上，联合华蟾素胶囊 0.5 g/次，每日 3 次口服，镇痛达标标准同前。美施康定剂量调整严格遵循 WHO 癌痛三阶梯止痛原则，全程监测患者不良反应并及时处理。

## 2.4. 临床指标追踪与检测

所有 60 例患者均纳入临床疗效及安全性分析，由专职医护人员全程追踪并记录以下指标。

### 2.4.1. 疼痛达标时间

从开始给药至患者 NRS 评分  $\leq 3$  分并稳定维持 24 h 的时间，精确至小时，每 12 h 评估 1 次 NRS 评分并记录。

### 2.4.2. 美施康定日均用量

治疗 1 周后，计算患者美施康定日均用量，同时记录剂量调整次数及最终维持剂量。

### 2.4.3. 不良反应发生率

参照《癌痛药物治疗不良反应评价标准》，记录治疗期间便秘、恶心呕吐、嗜睡等不良反应发生情况，按轻度(无需干预)、中度(对症处理可缓解)、重度(需停药/减量)分级，计算总发生率及各单项不良反应发生率。

## 3. 实验方法

### 3.1. 血浆样本采集与处理

仅对测序亚组每组 6 例患者采集血浆标本，分别于治疗前及疼痛缓解达标后(NRS  $\leq 3$  分，维持 24 h 以上)，采集患者清晨空腹外周静脉血 5 mL，使用 EDTA 抗凝管收集。血液样本采集后 2 h 内，于 4℃、3000 rpm 条件下离心 15 min，小心吸取上层血浆(避免触及血细胞层)，分装于无 RNA 酶 EP 管中，每管 1 mL，立即置于 -80℃ 超低温冰箱保存，全程避免反复冻融，用于后续总 RNA 提取。

### 3.2. 总 RNA 提取与质量检测

采用 Trizol 试剂(Invitrogen 公司，美国)提取血浆总 RNA，具体操作严格按照试剂盒说明书进行：取

200  $\mu\text{L}$  血浆, 加入 600  $\mu\text{L}$  Trizol 试剂, 涡旋振荡器充分混匀, 室温静置 5 min; 加入 200  $\mu\text{L}$  氯仿, 剧烈振荡 15 s, 室温静置 3 min 后, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12,000 g 离心 15 min; 吸取上层水相, 转移至新的无 RNA 酶 EP 管中, 加入等体积异丙醇, 颠倒混匀, 室温静置 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12,000 g 离心 10 min; 弃去上清液, 可见管底白色 RNA 沉淀, 加入 1 mL 75% DEPC 水配制的乙醇, 轻轻颠倒洗涤沉淀, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、7500 g 离心 5 min; 弃去乙醇, 室温晾干沉淀(约 5~10 min, 避免过度干燥), 加入 20  $\mu\text{L}$  无 RNA 酶水, 吹打溶解后置于-80 $^{\circ}\text{C}$  保存。

使用 NanoDrop 2000 分光光度计(Thermo Fisher Scientific 公司, 美国)检测 RNA 浓度与纯度, 要求 A260/A280 比值在 1.8~2.0 之间, 提示 RNA 纯度良好、无蛋白质污染; 采用 Agilent 2100 生物分析仪(Agilent 公司, 美国)检测 RNA 完整性, RNA 完整性数(RIN) > 7.0 视为合格, 确保样本质量满足后续高通量测序要求。

### 3.3. circRNAs 高通量测序与鉴定

取 2  $\mu\text{g}$  合格总 RNA, 加入 Rnase R 酶(Epicentre 公司, 美国) 37 $^{\circ}\text{C}$  孵育 30 min, 消化去除线性 RNA, 富集 circRNAs。随后按照 Illumina TruSeq Stranded Total RNA Library Prep Kit (Illumina 公司, 美国)说明书构建测序文库, 具体步骤包括 RNA 片段化、cDNA 合成、接头连接、PCR 扩增等。文库构建完成后, 采用 Agilent 2100 生物分析仪进行文库质量检测(文库片段大小集中在 200~300 bp 为合格), 合格后在 Illumina NovaSeq 6000 测序平台(Illumina 公司, 美国)进行 150 bp 双端测序(PE150), 测序服务由北京诺禾致源科技股份有限公司完成。

原始测序数据(raw data)采用 Fastp 软件(v0.23.1) [14]进行质控过滤, 去除含有接头污染、低质量序列( $Q \leq 20$  的碱基占比 > 50%)及含 N 较多(N 占比 > 10%)的序列, 获得高质量清洁数据(clean data)。使用 Hisat2 软件(v2.2.1) [15]将 clean data 与人类参考基因组(GRCh38)进行比对, 评估测序数据的基因组匹配度。采用 find\_circ 软件(v1.2) [16] [17]与 CIRI2 软件(v2.0.6) [17]联合鉴定 circRNAs, 取两种软件鉴定结果的交集, 提升 circRNAs 鉴定的灵敏度与可靠性。

采用转录本每百万读数(TPM, Transcripts Per Million)法对 circRNAs 表达量进行标准化处理[18], 消除不同样本测序深度差异的影响。使用 R 语言中的 DESeq2 软件包(v1.42.0) [19]对标准化后的表达矩阵进行差异表达分析, 筛选标准设定为:  $|\log_2(\text{FC})| > 1.5$  且错误发现率(FDR) < 0.05, 最终获得联合治疗组与单一用药组之间具有统计学意义的差异表达 circRNAs (Differentially Expressed circRNAs, DECs)。

### 3.4. 生物信息学分析

采用 R 语言 clusterProfiler 软件包(v4.8.1) [20]对筛选出的差异 circRNAs 亲本基因进行基因本体论(GO)功能富集分析及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析, 设定  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义, 明确差异 circRNAs 参与的生物学过程、分子功能、细胞组分及信号通路。

circRNAs 可通过竞争性结合微小 RNA (miRNA)发挥调控作用[21], 采用 miRanda 软件[22]预测差异表达 circRNAs 可能结合的靶 miRNA, 筛选条件设定为 Score > 150 且 Energy < -20, 获得高置信度靶 miRNA。利用 Cytoscape 软件(v3.8.2) [23]构建 circRNA-miRNA 调控网络, 直观展示二者的互作关系。

### 3.5. 统计学分析

采用 SPSS 26.0 统计软件(IBM 公司, 美国)进行数据分析。计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 组内治疗前后比较采用配对 t 检验, 组间比较采用独立样本 t 检验; 计数资料以率(%)或构成比表示, 组间比较采用  $\chi^2$  检验。P < 0.05 为差异具有统计学意义。

## 4. 结果

### 4.1. 两组患者基线资料比较

联合治疗组和单一用药组各 30 例患者, 在年龄、性别、体重指数(BMI)、基线 NRS 评分等一般资料方面比较, 均无显著差异( $P > 0.05$ ); 测序亚组每组 6 例患者, 其基线资料也无显著差异( $P > 0.05$ ), 提示各组基线资料均衡可比, 详见表 1。

**Table 1.** Comparison of baseline data between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

**表 1.** 两组患者基线资料比较( $\bar{x} \pm s$ )

一般资料	联合治疗组 (n = 30)	单一用药组 (n = 30)	$t/\chi^2$ 值	P 值	测序亚组 联合组(n = 6)	测序亚组 单一组(n = 6)	$t/\chi^2$ 值	P 值
年龄(岁)	61.83 ± 6.03	60.83 ± 6.03	0.64	0.52	59.50 ± 7.23	61.33 ± 5.39	-0.50	0.63
性别(男/女, 例)	16/14	15/15	0.07	0.80	3/3	2/4	0.34	0.56
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.47 ± 1.75	22.18 ± 1.73	0.65	0.52	21.82 ± 1.99	22.35 ± 1.51	-0.52	0.61
基线 NRS 评分 (分)	6.60 ± 0.97	6.50 ± 0.97	0.40	0.69	6.17 ± 0.98	6.50 ± 0.84	-0.63	0.54

### 4.2. 两组患者临床疗效及安全性指标比较

联合治疗组 30 例患者的疼痛达标时间显著短于单一用药组, 美施康定日均用量显著低于单一用药组( $P < 0.001$ ); 联合治疗组不良反应总发生率显著低于单一用药组( $P < 0.05$ ), 其中便秘、恶心呕吐、嗜睡发生率亦低于单一用药组, 提示联合治疗镇痛效果更优, 且安全性更高, 详见表 2。

**Table 2.** Comparison of clinical efficacy and safety indicators between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ , n = 30)

**表 2.** 两组患者临床疗效及安全性指标比较( $\bar{x} \pm s$ , n = 30)

指标	联合治疗组(n = 30)	单一用药组(n = 30)	$t/\chi^2$ 值	P 值
疼痛达标时间(h)	33.2 ± 7.1	57.8 ± 9.5	11.625	<0.001
美施康定日均用量	56.33 ± 8.50	71.67 ± 9.13	-6.73	<0.001
不良反应总发生率(% , 例)	30.0 (9/30)	76.7 (23/30)	13.636	<0.001
便秘发生率(% , 例)	20.0 (6/30)	63.3 (19/30)	10.892	0.001
恶心呕吐发生率(% , 例)	16.7 (5/30)	46.7 (14/30)	4.812	0.028
嗜睡发生率(% , 例)	3.3 (1/30)	30.0 (9/30)	6.405	0.011

### 4.3. 测序数据质控与 circRNAs 鉴定

测序亚组每组 6 例, 共 12 例患者, 治疗前后共 24 份血浆样本进行 circRNAs 高通量测序, 原始数据经 Fastp 软件质控过滤后, 各样本获得的 clean data 均大于 10 Gb, Q30 碱基百分比(质量值  $\geq 30$  的碱基占总碱基的比例)均在 95% 以上, 表明测序数据质量可靠、误差较小。将 clean data 与人类参考基因组 (GRCh38) 进行比对, 平均比对效率为 96.8%, 提示测序序列与人类基因组匹配度高。

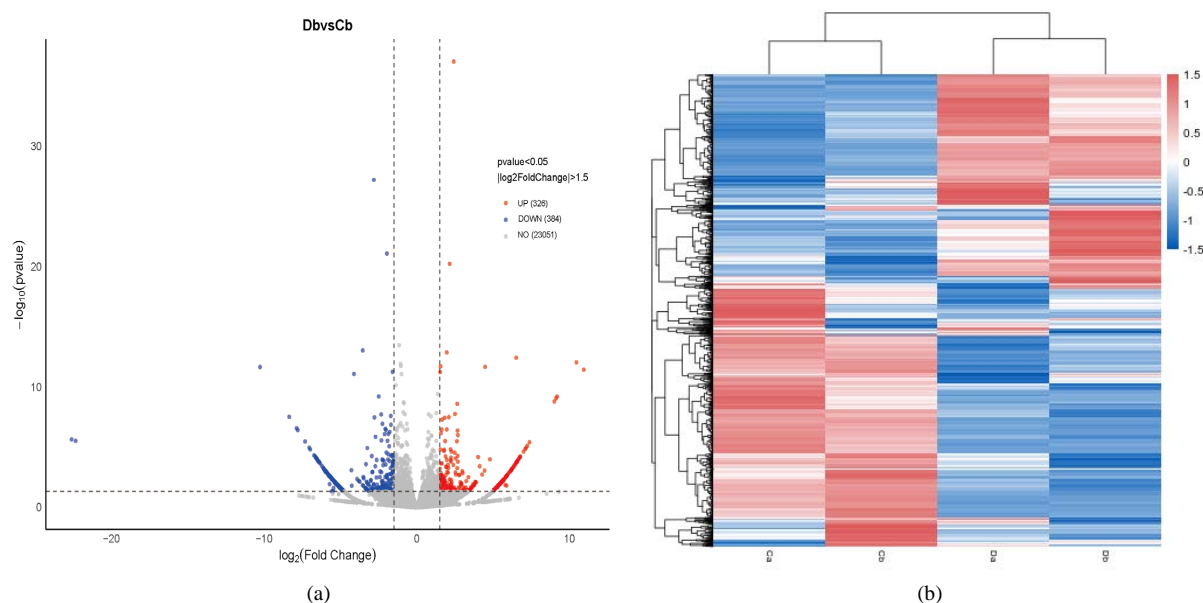
采用 find\_circ 与 CIRI2 软件联合鉴定, 共获得 27,806 个独特的 circRNAs 分子, 这些 circRNAs 广泛分布于人类所有染色体上(除 Y 染色体外), 其中大部分(约 78.3%)由 2~5 个外显子通过反向剪接形成, 少

量来源于内含子或基因间区,符合 circRNAs 的典型生成特征。

#### 4.4. 差异表达 circRNAs 筛选

以 $|\log_2(\text{FC})| > 1.5$ 且 $\text{FDR} < 0.05$ 为筛选标准,比较测序亚组中联合治疗组与单一用药组患者治疗后血浆 circRNAs 表达谱,共鉴定出 710 个差异表达 circRNAs ( $P < 0.05$ )。其中,与单一用药组相比,联合治疗组中表达显著上调的 circRNAs 有 326 个,表达显著下调的 circRNAs 有 384 个。

火山图直观展示了所有 circRNAs 的差异表达情况,其中红色点代表上调的差异 circRNAs,蓝色点代表下调的差异 circRNAs,灰色点代表无显著差异的 circRNAs (图 1(a)); 聚类热图显示,差异 circRNAs 能够将联合治疗组与单一用药组的样本清晰地区分开,表明两组样本的 circRNAs 表达模式具有高度组别特异性(图 1(b))。



注:(a) 火山图,每个点代表一个 circRNA,横坐标为 $\log_2(\text{FC})$ ,纵坐标为 $-\log_{10}(\text{FDR})$ ;红色代表上调的差异 circRNAs,蓝色代表下调的差异 circRNAs,灰色代表无显著差异的 circRNAs;(b) 聚类热图,行代表差异 circRNAs,列代表样本,颜色深浅代表 circRNAs 表达水平高低(红色代表高表达,蓝色代表低表达)。

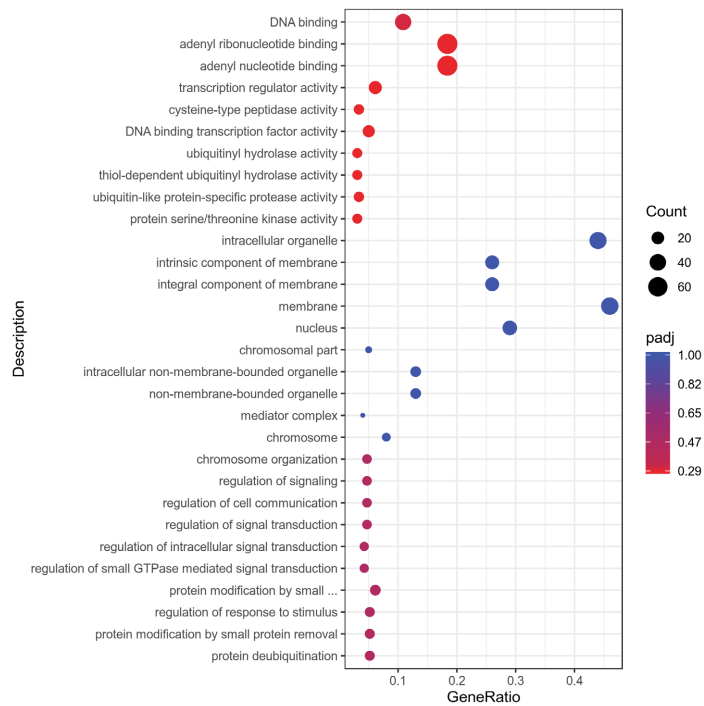
**Figure 1.** Analysis diagram of differentially expressed circRNAs

**图 1.** 差异表达 circRNAs 分析图

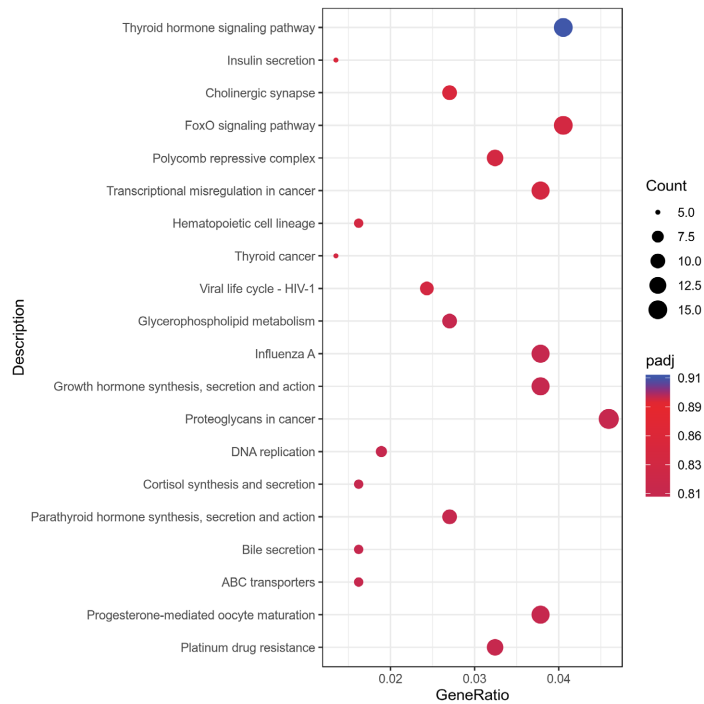
#### 4.5. GO 与 KEGG 富集分析

对 710 个差异表达 circRNAs 的亲本基因进行 GO 功能富集分析,结果显示(图 2(a)):在分子功能(MF)层面,差异基因主要富集于腺苷核糖核苷酸结合、转录调控活性、半胱氨酸型肽酶活性、DNA 结合转录因子活性、泛素样蛋白特异性蛋白酶活性等;在细胞组分(CC)层面,主要富集于细胞器部分、膜整体成分、细胞核、中介复合体、染色体等结构;在生物学过程(BP)层面,主要富集于染色体组织、细胞通信调控、细胞内信号转导调控、小蛋白修饰介导的蛋白修饰与去除、蛋白质去泛素化等过程。

KEGG 通路分析表明(图 2(b)),差异 circRNAs 的亲本基因主要富集于四大核心生物学过程相关通路,分别为激素信号转导通路、癌症发生发展相关通路、代谢重编程通路及特定物质转运通路。其中,代谢通路相关基因的富集比例最高(28.6%),且统计显著性最强( $P < 0.001$ ),提示代谢通路可能是联合治疗调控癌痛及肿瘤进展的核心通路。



(a)



(b)

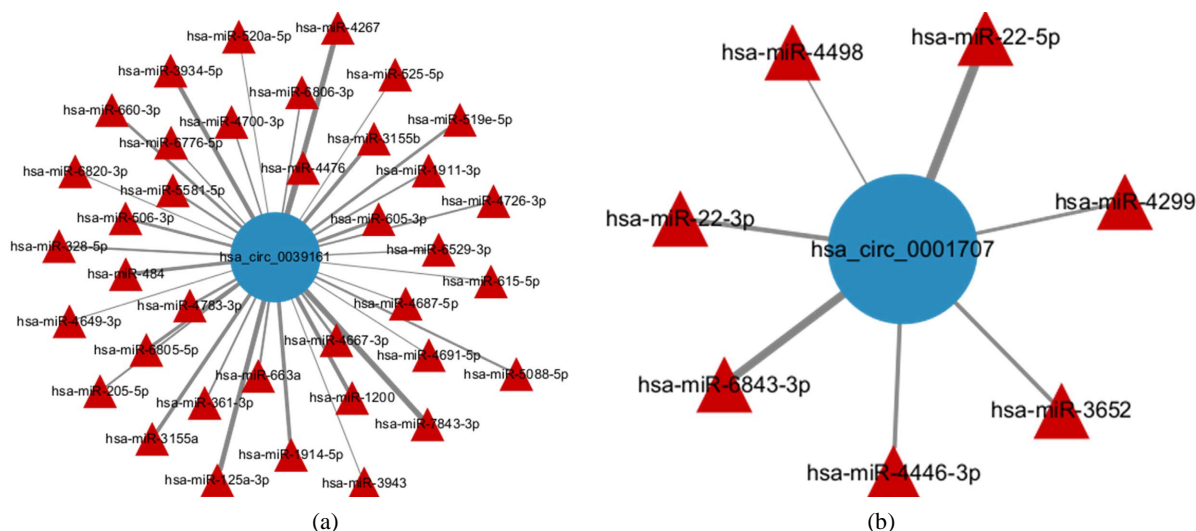
注: (a) GO 功能富集分析气泡图, 横坐标为富集因子, 纵坐标为 GO 条目, 气泡大小代表富集的基因数量, 气泡颜色代表 P 值(颜色越深, P 值越小, 富集越显著); (b) KEGG 通路富集分析气泡图, 横坐标为富集因子, 纵坐标为 KEGG 通路名称, 气泡大小代表富集的基因数量, 气泡颜色代表 P 值(颜色越深, P 值越小, 富集越显著)。

**Figure 2.** Bubble plot of GO and KEGG enrichment for parental genes of differential circRNAs  
**图 2.** 差异 circRNAs 亲本基因 GO 与 KEGG 富集气泡图

#### 4.6. 关键 circRNA-miRNA 互作网络预测

选取测序亚组中联合治疗组中表达显著上调、且表达量较高的 2 个关键 circRNAs (hsa\_circ\_0039161 和 hsa\_circ\_0001707) 进行靶向 miRNA 预测, 进一步探索其调控机制。miRanda 软件预测结果显示: hsa\_circ\_0039161 可靶向结合 37 个 miRNA, 其中与 hsa-miR-7843-3p 的结合置信度最高(Score = 186, Energy = -29.3); hsa\_circ\_0001707 可靶向结合 7 个 miRNA, 对 hsa-miR-22-5p 的结合能力最强(Score = 172, Energy = -27.8), 且可同时吸附 hsa-miR-22-5p 和 hsa-miR-22-3p, 呈现明显的“双重海绵效应”。

利用 Cytoscape 软件分别构建 hsa\_circ\_0039161-miRNA 和 hsa\_circ\_0001707-miRNA 互作网络(图 3), 网络分析显示: hsa\_circ\_0039161 靶向结合的 miRNA 数量更多, 网络结构更复杂, 暗示其可能作为“强效 miRNA 海绵”, 通过调控多条 miRNA 介导的信号通路, 在联合治疗应答中发挥广泛调控作用; hsa\_circ\_0001707 虽靶向 miRNA 数量较少, 但可特异性调控 miR-22 家族(miR-22-5p/3p), 能更彻底地阻断 miR-22 的整个功能通路, 其调控作用更具特异性和针对性, 推测其可能通过特异性吸附 miR-22 家族来调控下游信号网络, 参与联合治疗的协同镇痛与抗肿瘤效应。



注: (a) hsa\_circ\_0039161-miRNA 互作图, 圆形节点代表 hsa\_circ\_0039161, 三角形节点代表其靶向的 miRNA, 节点大小代表结合置信度; (b) hsa\_circ\_0001707-miRNA 互作图, 圆形节点代表 hsa\_circ\_0001707, 三角形节点代表其靶向的 miRNA, 节点大小代表结合置信度。

Figure 3. Key difference circRNAs-miRNA interaction network diagram

图 3. 关键差异 circRNAs-miRNA 互作网络图

## 5. 讨论

肺腺癌 EGFR 突变患者疾病进展至晚期时, 骨转移发生率较高, 癌痛作为其最常见的伴随症状, 严重影响患者生活质量与治疗依从性[4] [5]。美施康定作为强阿片类镇痛药物, 是中重度癌痛的一线治疗选择, 但长期应用的不良反应及部分患者的镇痛抵抗的问题亟待解决[6] [7]。华蟾素胶囊作为传统中药制剂, 在癌痛治疗中具有独特优势, 但其与美施康定联合应用的分子机制尚未明确[8] [9]。本研究首次从临床疗效追踪、circRNA 表观遗传调控层面, 系统探讨了华蟾素胶囊联合美施康定治疗肺腺癌 EGFR 突变骨转移癌痛的潜在机制, 为中西医结合治疗癌痛提供了新的实验依据与理论视角。

本研究结果显示, 联合治疗组在疼痛达标时间、阿片类药物消耗量、不良反应发生率方面均显著优于单一用药组, 证实华蟾素胶囊可显著增强美施康定的镇痛效果, 减少药物用量并降低不良反应, 实现

“增效减毒”的临床价值，与既往中医药联合阿片类药物治疗癌痛的研究结论一致[6]。同时发现，与单纯使用美施康定相比，华蟾素胶囊联合美施康定治疗可导致患者血浆中 710 个 circRNAs 发生显著差异表达(326 个上调、384 个下调)，且这些差异 circRNAs 能够清晰区分两组样本，提示 circRNAs 表达谱的改变可能与联合治疗的镇痛及抗肿瘤效应密切相关，circRNAs 可能是中西医协同作用的重要调控介质。

生物信息学分析进一步揭示了差异 circRNAs 的潜在功能：GO 富集分析显示，差异 circRNAs 亲本基因主要参与转录调控、蛋白质翻译后修饰、细胞内信号转导调控等生物学过程，涉及多种分子功能与细胞组分，表明联合治疗可能通过多维度调控基因表达，影响肿瘤细胞代谢与疼痛信号传导；KEGG 通路分析显示，差异 circRNAs 主要富集于癌症相关通路、激素信号转导、物质代谢与转运及代谢重编程等通路，其中代谢通路的富集程度最高且最显著，提示代谢重编程可能是联合治疗发挥协同作用的核心机制之一。上述结果与中医药“多靶点、多途径、整体调节”的特点高度契合，表明华蟾素胶囊联合美施康定可能并非通过激活某一条经典信号通路发挥作用，而是以多靶点、网络化、微调式的调节模式，广泛调控药物代谢转运、蛋白质稳态及神经免疫状态，进而实现增效减毒的治疗效果。

本研究重点关注了联合治疗组中显著上调的两个关键 circRNAs (hsa\_circ\_0039161 和 hsa\_circ\_0001707)，通过靶向 miRNA 预测及调控网络分析发现，二者并非传统意义上的致癌或抑癌分子，而是在联合治疗压力下被激活的关键调控节点。已有研究证实，hsa\_circ\_0039161 靶向结合的 hsa-miR-125a-3p、hsa-miR-484 等均为肺腺癌相关抑癌 miRNA，可通过抑制肿瘤细胞增殖、转移及促进凋亡发挥作用[24] [25]；hsa\_circ\_0001707 靶向结合的 miR-22 家族(miR-22-5p/3p)同样参与肺腺癌的发生发展，可调控肿瘤细胞上皮间质转化、迁移及侵袭[26]-[28]。本研究推测，在联合治疗的微环境下，hsa\_circ\_0039161 通过竞争性吸附 miR-125a-3p、miR-484 等，解除其对 FoxO 信号通路、甲状腺激素信号通路等关键代谢调控节点的抑制，进而驱动肿瘤细胞发生治疗性代谢重编程，抑制肿瘤进展并缓解癌痛；hsa\_circ\_0001707 则通过双重调控 miR-22-5p/3p，同时影响表观遗传调控复合物活性、胆碱能突触信号传导及 ABC 转运蛋白功能，在多维度上协同增强抗肿瘤效应与疼痛缓解作用。GO 和 KEGG 富集分析进一步印证，这种调控最终汇聚于转录 - 表观遗传调控、系统代谢重编程和神经信号传导三大相互关联的生物学模块，形成一个完整的治疗应答网络，最终介导了中药与阿片类药物的协同抗肿瘤及镇痛效应。

本研究的主要创新点在于：首先，将研究视角从单一的肿瘤或疼痛领域，拓展至“肿瘤 - 疼痛 - 治疗”三者交互的复杂网络，聚焦于临床亟待解决的阿片类药物不良反应及镇痛抵抗难题，具有重要的临床转化价值；其次，从 circRNAs 这一新兴的表观遗传调控层面，探讨了华蟾素胶囊联合美施康定的协同作用机制，突破了传统中西医结合研究“重疗效、轻机制”的局限，为“中药现代化”研究提供了新的切入点；最后，本研究筛选出的 hsa\_circ\_0039161 和 hsa\_circ\_0001707，具有成为评估联合疗法疗效的无创性液体活检生物标志物的潜力，通过动态监测这些 circRNAs 的表达水平，未来或可实现对患者镇痛疗效的个体化预测与监控，为癌痛精准治疗提供新的技术支撑。

本研究亦存在一些局限性，需在后续研究中进一步完善：第一，测序亚组为小样本研究(n = 12)，样本量相对较小，结论的外推性需要更大规模、多中心的临床试验进一步验证；第二，本研究主要提供了相关性证据和生物信息学预测，使机制探讨仅停留在预测层面，所提出的 circRNAs-miRNA-mRNA 调控轴尚需通过体外细胞实验(如 circRNAs 过表达、沉默实验)和动物模型(如骨转移癌痛小鼠模型)进行功能获得和功能缺失实验加以验证，明确其具体调控机制；第三，未能深入探讨差异 circRNAs 在肿瘤微环境与中枢神经系统之间是否存在信息传递，即其对癌痛的调控是作用于外周疼痛信号传导通路、中枢疼痛中枢，还是两者兼有，仍需后续研究进一步阐明；第四，本研究未检测患者治疗过程中 circRNAs 表达水平的动态变化，无法明确其与镇痛疗效及预后的相关性，后续可增加随访周期，完善相关研究。

综上, 华蟾素胶囊联合美施康定可显著调控肺腺癌 EGFR 突变骨转移癌痛患者血浆 circRNAs 表达谱, 通过 circRNA-miRNA 网络介导协同镇痛与抗肿瘤效应。hsa\_circ\_0039161、hsa\_circ\_0001707 等关键 circRNAs 有望成为疗效评估潜在生物标志物。本研究为深入理解中药联合阿片类药物的作用机制奠定了理论基础, 为癌痛的精准治疗提供了新的思路与研究方向。

## 声明

所有患者均签署知情同意书, 本研究经医院医学伦理委员会审核批准(批准号: SC-07/02KT2024119Y)。

## 基金项目

内蒙古自治区科技计划项目(2023YFSH0040)。

## 参考文献

- [1] Lin, L., Wang, D. and Chen, H. (2023) The Characteristics and Survival of Second Primary Lung Cancer after Hodgkin's Lymphoma: A Comparison with First Primary Lung Cancer Using the SEER Database. *PLOS ONE*, **18**, e0285766. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285766>
- [2] Guo, H., Zhang, J., Qin, C., Yan, H., Luo, X. and Zhou, H. (2024) Advances and Challenges of First-Line Immunotherapy for Non-Small Cell Lung Cancer: A Review. *Medicine*, **103**, e36861. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000036861>
- [3] Levantini, E., Maroni, G., Del Re, M. and Tenen, D.G. (2022) EGFR Signaling Pathway as Therapeutic Target in Human Cancers. *Seminars in Cancer Biology*, **85**, 253-275. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2022.04.002>
- [4] He, Y., Luo, W., Liu, Y., Wang, Y., Ma, C., Wu, Q., et al. (2022) IL-20RB Mediates Tumoral Response to Osteoclastic Niches and Promotes Bone Metastasis of Lung Cancer. *Journal of Clinical Investigation*, **132**, e156899. <https://doi.org/10.1172/jci157917>
- [5] Takei, D. and Tagami, K. (2023) Management of Cancer Pain Due to Bone Metastasis. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, **41**, 327-336. <https://doi.org/10.1007/s00774-022-01382-y>
- [6] 桂万弟, 宋香清, 李怡, 等. 复方万年青胶囊联合美施康定治疗 97 例肺癌重度疼痛患者的临床观察[J]. 湖南中医药大学学报, 2017, 37(12): 1408-1413.
- [7] 王子龙. 阿片镇痛及其副作用的神经机制[J]. 神经药理学报, 2025, 15(5): 36-47.
- [8] 郭莉, 王艺蓉, 梅迪, 等. 华蟾素的抗癌镇痛机理及临床应用[J]. 生命的化学, 2021, 41(3): 487-494.
- [9] 袁佳倩, 郭勇. 华蟾素联合三阶梯止痛法治疗癌痛的疗效及安全性 Meta 分析[J]. 浙江中西医结合杂志, 2023, 33(2): 169-177.
- [10] Xu, F., Xiao, Q., Du, W.W., Wang, S. and Yang, B.B. (2024) circRNA: Functions, Applications and Prospects. *Biomolecules*, **14**, Article 1503. <https://doi.org/10.3390/biom14121503>
- [11] Kristensen, L.S., Jakobsen, T., Hager, H. and Kjems, J. (2022) The Emerging Roles of circRNAs in Cancer and Oncology. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **19**, 188-206. <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00585-y>
- [12] Jiang, M., Wang, Y., Wang, J., Feng, S. and Wang, X. (2022) The Etiological Roles of miRNAs, lncRNAs, and circRNAs in Neuropathic Pain: A Narrative Review. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **36**, e24592. <https://doi.org/10.1002/jcla.24592>
- [13] 董小庆. 基于 circRNA-miRNA-mRNA 网络研究隔药灸治疗 IBD 慢性炎性内脏痛的中枢机制[D]: [硕士学位论文]. 上海: 上海中医药大学, 2021.
- [14] Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y. and Gu, J. (2018) FASTP: An Ultra-Fast All-In-One FASTQ Preprocessor. *Bioinformatics*, **34**, i884-i890. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty560>
- [15] Kim, D., Langmead, B. and Salzberg, S.L. (2015) HISAT: A Fast Spliced Aligner with Low Memory Requirements. *Nature Methods*, **12**, 357-360. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3317>
- [16] Memczak, S., Jens, M., Elefsinioti, A., Torti, F., Krueger, J., Rybak, A., et al. (2013) Circular RNAs Are a Large Class of Animal RNAs with Regulatory Potency. *Nature*, **495**, 333-338. <https://doi.org/10.1038/nature11928>
- [17] Gao, Y., Wang, J. and Zhao, F. (2015) CIRI: An Efficient and Unbiased Algorithm for De Novo Circular RNA Identification. *Genome Biology*, **16**, Article No. 4. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0571-3>
- [18] Zhou, L., Chen, J., Li, Z., Li, X., Hu, X., Huang, Y., et al. (2010) Integrated Profiling of MicroRNAs and mRNAs: MicroRNAs Located on Xq27.3 Associate with Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *PLOS ONE*, **5**, e15224.

- <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015224>
- [19] Love, M.I., Huber, W. and Anders, S. (2014) Moderated Estimation of Fold Change and Dispersion for RNA-Seq Data with DESeq2. *Genome Biology*, **15**, Article No. 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- [20] Yu, G., Wang, L., Han, Y. and He, Q. (2012) ClusterProfiler: An R Package for Comparing Biological Themes among Gene Clusters. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, **16**, 284-287. <https://doi.org/10.1089/omi.2011.0118>
- [21] Hansen, T.B., Jensen, T.I., Clausen, B.H., Bramsen, J.B., Finsen, B., Damgaard, C.K., *et al.* (2013) Natural RNA Circles Function as Efficient MicroRNA Sponges. *Nature*, **495**, 384-388. <https://doi.org/10.1038/nature11993>
- [22] Enright, A.J., John, B., Gaul, U., Tuschl, T., Sander, C. and Marks, D.S. (2003) MicroRNA Targets in Drosophila. *Genome Biology*, **5**, Article No. R1. <https://doi.org/10.1186/gb-2003-5-1-r1>
- [23] Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N.S., Wang, J.T., Ramage, D., *et al.* (2003) Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks. *Genome Research*, **13**, 2498-2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
- [24] Xu, X., Lv, Y., Yan, C., Yi, J. and Ling, R. (2016) Enforced Expression of Hsa-miR-125a-3p in Breast Cancer Cells Potentiates Docetaxel Sensitivity via Modulation of BRCA1 Signaling. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **479**, 893-900. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.09.087>
- [25] Luo, H. and Ye, Z. (2021) Identification of Serum miR-337-3p, miR-484, miR-582, and miR-3677 as Promising Biomarkers for Osteosarcoma. *Clinical Laboratory*, **67**, e20210102. <https://doi.org/10.7754/clin.lab.2020.200455>
- [26] Han, X., Li, H., Liu, S. and Zhao, Z. (2022) Study on the Potential Mechanism of miR-22-5p in Non-Small-Cell Lung Cancer. *Disease Markers*, **2022**, Article ID: 3750734. <https://doi.org/10.1155/2022/3750734>
- [27] Ma, D., Zhou, X., Qin, Y., Tian, Z., Liu, H. and Li, S. (2021) MiR-22-3p Expression Is Down-Regulated in Lung Adenocarcinoma. *Acta Biochimica Polonica*, **68**, 667-672. <https://doi.org/10.18388/abp.2020.5540>
- [28] Wang, X., Wang, X., Jiang, T., Zhang, Z., Xie, N. and Yang, G. (2023) MiR-22-3p Suppresses NSCLC Cell Migration and EMT via Targeting RAC1 Expression. *Functional & Integrative Genomics*, **23**, Article No. 281. <https://doi.org/10.1007/s10142-023-01211-z>