

## cAMP/Epac 信号通路在当归治疗阴虚证慢性咳嗽中的作用\*

杜 玥, 王志旺<sup>△</sup>, 席建宏, 李济阳, 梁可克, 黄柯婷, 罗慧英<sup>△</sup>

(甘肃中医药大学, 兰州 730000)

**【摘要】 目的:** 研究当归对阴虚证慢性咳嗽小鼠的治疗作用, 以及对环磷酸腺苷(cAMP)/cAMP 直接激活的交换蛋白分子(Epac)信号通路的影响。**方法:** 将小鼠随机分为空白对照组、模型对照组、阳性对照组及当归组( $n=8$ ), 采用烟熏(每日1次, 30 d)、内毒素滴鼻(0.4 mg/ml, 每次10  $\mu$ l, 持续10次)、灌胃甲状腺(120 mg/kg, 每日1次, 持续15 d)并吸入氨水(每次3 min, 持续10次)来复制阴虚证高反应性气道慢性感染咳嗽小鼠模型。在观察进食饮水、体重及自主活动的基础上, 检测当归止咳对支气管肺泡灌洗液(BALF)中细胞因子、脑组织5-HT、肺组织相关活性因子(SP、PGP9.5、cAMP、Epac1)的影响。**结果:** 与模型对照组比较, 当归组小鼠咳嗽次数明显减少, 小支气管病理学变化明显缓解, BALF中IL-4、IL-13、TNF- $\alpha$ 的含量明显降低, 肺组织SP、PGP9.5以及cAMP、Epac1及其基因表达水平明显下调, 脑组织5-HT的含量明显提高, 同时可缓解饮水及进食量增加、自主活动增加等阴虚证表征指标( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。**结论:** 当归具有一定的止咳作用, 下调cAMP/Epac信号通路而缓解气道神经源性炎症、抑制咳嗽神经通路增敏是其作用机制之一。

**【关键词】** 当归; 慢性咳嗽; 气道神经源性炎症; 咳嗽神经通路增敏; cAMP/Epac信号通路; 小鼠

**【中图分类号】** R562.25, R285.5

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1000-6834(2024)01-091-006

**【DOI】** 10.12047/j.cjap.6296.2022.089

## Effects of *Angelicae Sinensis Radix* on cAMP/Epac signaling pathway in the treatment of chronically infected cough mice with Yin deficiency syndrome

DU Yue, WANG Zhi-wang<sup>△</sup>, XI Jian-hong, LI Ji-yang, LIANG Ke-ke, HUANG Ke-ting, LUO Hui-ying<sup>△</sup>

(Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

**【ABSTRACT】 Objective:** To investigate the effects of *Angelicae Sinensis Radix* (ASR) on cyclic adenosine monophosphate (cAMP)/exchange protein activated by cAMP (Epac) signaling pathway in the treatment of chronically infected cough mice with Yin deficiency syndrome. **Methods:** Mice were randomly divided into blank control group, model control group, positive control group and ASR group ( $n=8$ ). The chronic cough mouse model of hyperreactive and infected airway with Yin deficiency syndrome was established with fumigation (once a day, 30 days in total), lipopolysaccharide nasal drip (every 3 days 10  $\mu$ l, 10 times in total), intragastric administration of thyroid gland (120 mg/kg, once a day, a total of 15 days) and inhalation of ammonia (3 min/time  $\times$  10 times). On the basis of observing eating and drinking water, body weight and autonomic activities, the effects of ASR on metabolic level, autonomic activities, antitussive effect, cell factor in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) brain tissue 5-HT and lung tissue related active factors (SP, PGP9.5, cAMP, Epac1) were detected. **Results:** ASR could significantly restrain cough, alleviate the pathological changes of bronchioles, reduce the contents of IL-4, IL-13, TNF- $\alpha$  in BALF and the levels of SP, PGP9.5, cAMP and Epac1 in lung tissues, increase the content of 5-HT in brain tissue ( $P<0.05$ ,  $0.01$ ). **Conclusion:** ASR has some effects on restraining cough and one of its mechanisms is to down-regulate cAMP/Epac signaling pathway, to alleviate airway neurogenic inflammation and reduce sensitivity of cough neural pathway.

**【KEY WORDS】** *Angelicae Sinensis Radix* (ASR); chronic cough; airway neurogenic inflammation; sensitivity of cough neural pathway; cAMP/Epac signal path; mice

\*【基金项目】国家自然科学基金项目(81460668); 甘肃省自然科学基金项目(20JR5RA183, 1606RJZA011, 1310RJZA086); 2022年度甘肃省优秀研究生“创新之星”项目(2022CXZX-760); 2022年度甘肃省优秀研究生创新之星项目(2022CXZX-762); 甘肃中医药大学科学研究与创新基金项目(2022KCZD4)

【收稿日期】2022-03-09 【修回日期】2022-08-15

<sup>△</sup>【通讯作者】Tel: 0931-8765395, 18919314848; E-mail: wzw0933@126.com, louria@163.com

慢性咳嗽病因复杂而属于临床疑难杂症, 目前尚无有效的治疗手段, 而长期使用抗菌药与镇咳药疗效不甚明显。研究发现<sup>[1]</sup>, 呼吸道炎症及咳嗽神经通路增敏是引起慢性咳嗽的关键因素; cAMP/Epac(环磷酸腺苷/cAMP直接激活的交换蛋白分子)与气道神经源性炎症、咳嗽神经信息传递有密切的关系<sup>[2]</sup>。自《本经》谓当归“主咳逆上气”以来, 关于

当归治疗哮喘等呼吸系统疾病的中医理论与临床应用颇丰,《全国中草药汇编》介绍治疗夜咳者重用当归,而当代名医孟景春使用大剂量当归,在治疗慢性咳嗽时取得了较好的疗效<sup>[3]</sup>。本研究采用复合因素复制阴虚证高反应性气道慢性感染咳嗽动物模型,探讨当归治疗慢性咳嗽的作用,并从 cAMP/Epac 信号通路的角度探讨其作用机制,为临床使用当归治疗哮喘之症提供实验依据。

## 1 材料与方

### 1.1 药品与试剂

当归(*Angelicae Sinensis Radix*, ASR),购自甘肃省岷县,批号:20211012,经甘肃中医药大学杨扶德教授鉴定,阴干后切片。喷托维林片(*Pentoverine*),国药集团容生制药有限公司,批准文号:国药准字 H41022458,批号:201202。内毒素(*Lipopolysaccharide*, LPS),美国 Sigma 公司,批号:039M4004V。甲状腺片,山东中泰药业有限公司,批准文号:国药准字 H37021712,批号:21090102。IL-4、IL-13、TNF- $\alpha$  试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号:20211101、20211103、20211101。P 物质(SP)、蛋白基因产物 9.5(PGP9.5)、5-羟色胺(5-HT)试剂盒,北京博奥森生物技术有限公司,批号:20211005、20211004、20211007。cAMP、Epac1 一抗试剂盒,武汉博士德生物工程有限公司,批号:20211201、20211203。

### 1.2 仪器

CHT 型吸入染毒系统,北京广源达科技发展有限公司;ZZ-6 型小鼠自主活动仪,成都泰盟科技有限公司;CH-212 型光学显微镜,日本 Olympus;BI-2000 型医学图像分析系统,成都泰盟科技有限公司;CFX 型 Peal-Time 定量 PCR 仪,美国伯乐公司出品。

### 1.3 动物

昆明种小鼠,雌雄各半,体重 18~22 g,中国农业科学院所属兰州兽医研究所提供,实验动物质量合格证号 SCXK(甘)2018-0001。

### 1.4 分组、造模及给药

取小鼠随机分为空白对照组(Control)、模型对照组(Model)、阳性对照组(*Pentoverine*, 20 mg/kg)、当归组(ASR, 5g/kg),每组 8 只,采用复合因素(即烟熏、内毒素滴鼻、灌胃甲状腺并吸入氨水)来复制阴虚证高反应性气道慢性感染咳嗽动物模型<sup>[4]</sup>。将小鼠放入自制箱(50 cm×50 cm×50 cm)中,箱内每次燃放 3 支香烟,箱上覆盖塑料板以防烟雾直接溢出,让小鼠吸入烟雾 30 min,1 次/d,连续

烟熏 30 d;其中空白对照组同法放入箱中但不燃放香烟。实验第 16~45 日,每隔 2 d 给小鼠滴鼻 0.4 mg/ml 的 LPS 10  $\mu$ l,共计 10 次;其中空白对照组同法滴注生理盐水。实验第 17~45 日,每隔 2 d 将小鼠放入上述自制箱中,采用氨水来引咳 3 min(即将重量相同、形状相似的棉球放在表面皿上,向棉球中注入 3.0 ml 浓氨水,迅速将表面皿放入箱底),共引咳 10 次;其中空白对照组同法采用纯净水进行实验。从实验第 31 日开始,小鼠灌胃甲状腺片 120 mg/kg,1 次/日,连续 15 d,其中空白对照组给予 0.5% 黄原胶 15 ml/kg;给予甲状腺的同天灌胃给药,其中空白对照组与模型对照组给予同体积的 0.5% 吐温-80。复制慢性咳嗽模型及给药流程见图 1。

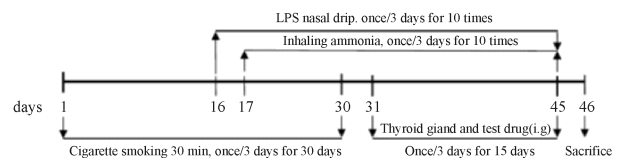


Fig. 1 Flow chart of chronic cough modeling and administration

### 1.5 观测指标与方法

1.5.1 一般情况 监测小鼠进食、饮水及体重,实验第 44 日,测定小鼠 24 h 内的饮水量与进食量。

1.5.2 测定小鼠自主活动 实验第 45 日,启动自主活动仪,记录小鼠 5 min 内的站立次数与活动次数。

1.5.3 观测小鼠咳嗽次数 实验第 29 日(给药前)、35 日(给药第 5 日)及 44 日(给药第 14 日),从氨水诱咳开始观察 5 min 内小鼠的咳嗽次数。

1.5.4 取材、测定指标 实验第 46 日,麻醉小鼠后手术暴露气管,按文献方法<sup>[5]</sup>提取右肺支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF),离心后取 BALF 上清液按照 ELISA 试剂盒说明书测定 IL-4、IL-13 及 TNF- $\alpha$  的含量。处死小鼠后手术取出脑组织(含延髓组织),匀浆后取上清液测定 5-HT 的含量。手术取出肺脏,于固定位置取左肺肺组织行 HE 染色,观测肺组织病理学变化,剩余左肺组织匀浆后测定 SP、PGP9.5 的含量;右肺组织供测定 cAMP、Epac1 及其基因表达水平。

1.5.5 HE 染色分析肺组织病理学 在左肺下叶取肺组织,多聚甲醛固定,脱水后石蜡包埋,切片行 HE 染色,在 100 光镜下观察肺组织病理学变化,对小支气管管壁增生、炎症细胞浸润以及管内黏液进行半定量分析。小支气管壁:管壁较薄、结构清晰计 0 分,管壁较厚但结构清晰计 1 分,管壁明显增厚但

结构清晰计 2 分,管壁明显增厚、结构模糊计 3 分,管壁显著增厚、结构模糊不清计 4 分;炎症细胞浸润:炎症细胞所占比例小于 9% 计 0 分,10% ~ 19% 计 1 分,20% ~ 29% 计 2 分,30% ~ 39% 计 3 分,40% 以上计 4 分;管腔内黏液:无明显黏液计 0 分,有少量黏液计 1 分,黏液呈片状计 2 分,黏液呈带状计 3 分,充满黏液计 4 分<sup>[6]</sup>。

**1.5.6 PCR 法测定 cAMP、Epac1 基因表达** 提取肺组织 RNA 后测定其纯度与浓度,以合成的 cDNA 为模板对 cAMP、Epac1 及  $\beta$ -actin 进行扩增。cAMP 引物序列:上游引物为 5'-CTGAGACACTGTGATCTCGA-3',下游引物为 TCCGCCAC-TACGACGCTCTC,目标产物 159 bp;Epac1 引物序列:上游引物为 5'-TGTTGCTCGAAGTAATCAC-3',下游引物为 5'-TCCGAGGCATCACTTCTGACTC-3',目标产物 147 bp; $\beta$ -actin 引物序列:上游引物为 5'-CCGCATCCTATGAGGTTACGC-3',下游引物为 5'-TCTAATAGTCAGCACCGATGTCC-3',目标产物 152 bp。运行反应体系,检测  $\beta$ -actin 及 cAMP、Epac1 的 Ct 值,以  $\beta$ -actin 的 Ct 值为对照计算 cAMP、Epac1 的  $\Delta$ Ct,参照模型对照组计算  $\Delta\Delta$ Ct,应用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 cAMP、Epac1 基因相对表达量<sup>[7]</sup>。

**1.5.7 Western blot 法测定 cAMP、Epac1 蛋白表达**

水平 提取、测定肺组织裂解上清液中的蛋白浓度,取裂解液经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白后转移至硝酸纤维膜上,抗原-抗体反应后显色,利用 Image J 软件分析不同蛋白条带的灰度值,以  $\beta$ -actin 为内参对肺组织 cAMP、Epac1 蛋白表达水平进行半定量分析<sup>[7]</sup>。

**1.6 统计学处理**

实验数据以均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )的形式表示,应用 SPSS 25.0 统计软件进行统计分析,多组均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用  $q$  检验。

**2 结果**

**2.1 当归对阴虚证慢性咳嗽小鼠饮水量、进食量及体重的影响**

采用烟熏、LPS 滴鼻、甲状腺灌胃与氨水诱咳法来复制阴虚证高反应性气道慢性感染咳嗽动物模型的过程中,模型对照组小鼠饮水进食量明显增加,但体重增加不明显,实验第 44 日的饮水量、进食量及体重与空白对照组比较有统计学意义( $P < 0.05, 0.01$ );在当归的干预下,上述变化得到明显改善,当归组小鼠的饮水量、进食量及体重与模型对照组比较有统计学意义( $P < 0.05$ ,表 1)。

**Tab. 1** Effects of ASR on body weight and the intakes of food and water in chronic cough mice with Yin deficiency on the 44th day ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Group	Dose (g/kg)	Water intake (ml/d)	Food intake (g/d)	Body weight (g)
Control	-	6.4 $\pm$ 1.1	4.1 $\pm$ 0.6	31.7 $\pm$ 3.3
Model	-	9.7 $\pm$ 1.5**	5.3 $\pm$ 1.0*	22.1 $\pm$ 2.3**
Pentoverine	20 mg/kg	8.7 $\pm$ 1.5	4.7 $\pm$ 0.7	24.0 $\pm$ 2.6
ASR	5	8.0 $\pm$ 1.4#	4.2 $\pm$ 0.7#	25.4 $\pm$ 2.8#

ASR: *Angelicae Sinensis Radix*

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  vs model group

**2.2 当归对阴虚证慢性咳嗽小鼠自主活动的影响**

与空白对照组比较,模型对照组小鼠的站立次数与活动次数明显增加( $P < 0.05$ );与模型对照组比较,当归组小鼠的上述自主活动明显减少( $P < 0.05$ ,表 2)。

**Tab. 2** Effects of ASR on independent activity of chronic cough mice with Yin deficiency syndrome ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Group	Dose (g/kg)	Number of standing	Number of activity
Control	-	55.9 $\pm$ 11.9	9.6 $\pm$ 2.9
Model	-	69.5 $\pm$ 13.4*	14.9 $\pm$ 4.8*
Pentoverine	20 mg/kg	61.3 $\pm$ 12.7	11.0 $\pm$ 3.8
ASR	5	55.3 $\pm$ 11.6#	9.9 $\pm$ 3.2#

\* $P < 0.05$  vs control group; # $P < 0.05$  vs model group

**2.3 当归对阴虚证慢性咳嗽小鼠咳嗽的影响**

在烟熏、滴鼻 LPS 的基础上,采用浓氨水引咳,小鼠出现明显的咳嗽症状,实验第 29 日(给药前)、35 日(给药第 5 日)及 44 日(给药第 14 日),与空白对照比较,模型对照组小鼠 5 min 内的咳嗽次数显著增加( $P < 0.01$ );与模型对照比较,经当归干预 5 d、14 d 时,小鼠咳嗽次数明显减少( $P < 0.05, P < 0.01$ )。当归给药第 5 日时止咳作用比阳性对照组弱( $P < 0.05$ ),但给药第 14 日时当归止咳作用明显增强,与阳性对照组、当归给药第 5 日比较有明显差异( $P < 0.05, P < 0.01$ ,表 3)。

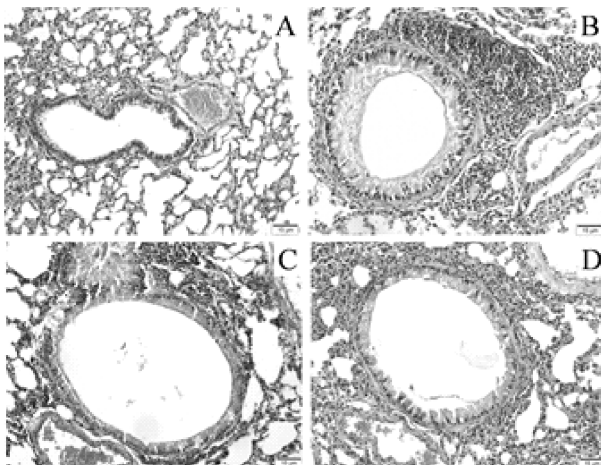
**Tab. 3** Effects of ASR on cough of chronic cough mice with Yin deficiency syndrome ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=8$ )

Group	Dose (g/kg)	Before administration	5th day of administration	14th day of administration
Control	-	0.6±0.7	1.4± 1.5	1.6± 1.2
Model	-	38.9±9.7**	45.5±12.7**	43.4±11.4**
Pentoverine	20 mg/kg	38.6±9.1	21.3± 6.4##	20.8± 5.8##
ASR	5	39.0±9.9	29.6± 8.2# <sup>△</sup> ▲▲	15.6± 3.4## <sup>△</sup>

\*\* $P<0.01$  vs control group; # $P<0.05$ , ## $P<0.01$  vs model group; <sup>△</sup> $P<0.05$  vs pentoverine group; ▲▲ $P<0.01$  vs ASR group with 14th day of administration

**2.4 当归对阴虚证慢性咳嗽小鼠肺组织病理学的影响**

空白对照组小鼠肺组织着色较浅,小支气管壁较薄,结构清晰,周围组织中炎症细胞少见,管腔内黏液较少;模型对照组肺组织染色较深,小支气管管壁明显增厚,结构模糊,管壁及其周围组织中炎症细胞浸润明显,管腔内黏液较多,甚至连接呈带状。在当归的干预下,小支气管壁、炎症细胞浸润以及管腔内黏液等病理学变化得到不同程度的缓解。对上述病理变化半定量分析结果显示,与空白对照组比较,模型对照组病理综合评分值显著增大( $P<0.01$ );与模型对照组比较,当归组病理学综合评分值明显减小( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,图2,表4)。



**Fig. 2** Effects of ASR on lung histopathological of chronic cough mice with Yin deficiency syndrome (HE staining × 10)

A: Control group; B: Model group; C: Pentoverine group 20 mg/kg; D: ASR group 5 g/kg

**Tab. 5** Effects of ASR on IL-4, IL-13 and TNF- $\alpha$  in BALF of chronic cough mice with Yin deficiency syndrome (pg/ml,  $\bar{x}\pm s$ ,  $n=8$ )

Group	Dose (g/kg)	IL-4	IL-13	TNF- $\alpha$
Control	-	98.9±18.2	13.9± 2.3	55.7± 6.3
Model	-	440.6±46.6**	87.4±16.3**	142.7±13.2**
Pentoverine	20 mg/kg	353.3±39.6##	63.0±10.8##	120.9± 8.3##
ASR	5	319.2±27.0##	50.8± 6.7##	103.2± 8.2##

\*\* $P<0.01$  vs control group; ## $P<0.01$  vs model group

**Tab. 4** Effects of ASR on lung histopathological of chronic cough mice with Yin deficiency syndrome ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=8$ )

Group	Dose (g/kg)	Comprehensive score
Control	-	0.6±0.9
Model	-	10.4±2.4**
Pentoverine	20 mg/kg	6.1±1.1##
ASR	5	5.9±1.1##

\*\* $P<0.01$  vs control group; ## $P<0.01$  vs model group

**2.5 当归对阴虚证慢性咳嗽小鼠 BALF 相关细胞因子的影响**

与空白对照组比较,模型对照组小鼠 BALF 中 IL-4、IL-13 及 TNF- $\alpha$  显著升高( $P<0.01$ );与模型对照组比较,当归组 IL-4、IL-13 及 TNF- $\alpha$  明显降低( $P<0.01$ ,表5)。

**2.6 当归对阴虚证慢性咳嗽小鼠 SP、PGP9.5 及 5-HT 的影响**

与空白对照组比较,模型对照组小鼠肺组织 SP、PGP9.5 以及脑组织 5-HT 的含量明显升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。与模型对照组比较,当归组肺组织 SP、PGP9.5 含量明显下降,脑组织 5-HT 的含量明显升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,表6)。

**2.7 当归对阴虚证慢性咳嗽小鼠肺组织 cAMP、Epac1 基因表达的影响**

与空白对照组比较,模型对照组 cAMP mRNA、Epac1 mRNA 表达水平显著升高( $P<0.01$ );与模型对照组比较,当归组 cAMP mRNA、Epac1 mRNA 表达水平明显降低( $P<0.01$ ,表7)。

**2.8 当归对阴虚证慢性咳嗽小鼠肺组织 cAMP、Epac1 蛋白表达的影响**

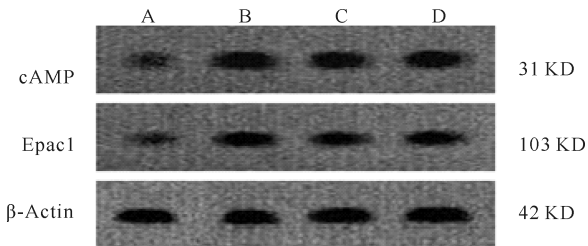
Western blot 分析如图 2 所示,在相对分子质量

**Tab. 6** Effects of ASR on SP, PGP9.5 and 5-HF of chronic cough mice with Yin deficiency syndrome (pg/ml,  $\bar{x}\pm s$ ,  $n=8$ )

Group	Dose (g/kg)	SP	PGP9.5	5-HT
Control	-	121.1±13.3	56.7±7.2	39.4±3.8
Model	-	167.4±17.9**	86.1±9.5**	45.2±4.7*
Pentoverine	20 mg/kg	139.8±14.7##	68.6±8.3##	62.7±7.3##
ASR	5	137.3±14.3##	64.3±7.5##	58.8±6.6##

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs control group; ## $P<0.01$  vs model group

31 KD、103 KD 与 42 KD 处有表达条带,分别是 cAMP、Epac1 与  $\beta$ -actin。半定量分析显示,与空白对照组比较,模型对照组小鼠肺组织 cAMP、Epac1 表达水平显著升高 ( $P<0.01$ );与模型对照组比较,当归组 cAMP、Epac1 表达水平明显降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,图 3,表 7)。



**Fig. 3** Western blot analysis of cAMP, Epac1 and  $\beta$ -actin expressions in lung tissues of mice

A: Control group; B: Model group; C: Pentoverine group 20 mg/kg; D: ASR group 5 g/kg

**Tab. 7** Effects of ASR on cAMP, Epac1 and gene expressions in lung tissues of chronic cough mice with Yin deficiency syndrome ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=8$ )

Group	Dose (g/kg)	cAMP mRNA	cAMP	Epac1 mRNA	Epac1
Control	-	0.44±0.04	0.76±0.05	0.31±0.03	0.24±0.04
Model	-	1.00±0.00**	1.39±0.16**	1.00±0.00**	0.78±0.12**
Pentoverine	20 mg/kg	0.48±0.04##	0.95±0.08##	0.49±0.05##	0.52±0.09##
ASR	5	0.50±0.05##	0.82±0.07##	0.45±0.04##	0.51±0.07##

\*\* $P<0.01$  vs control group; ## $P<0.01$  vs model group

嗽超过 8 周者为慢性咳嗽,而慢性咳嗽属于临床疑难杂症,持续咳嗽可诱发或加重多种呼吸系统疾病<sup>[1]</sup>。本研究以当归为研究对象,采用“烟熏、LPS 滴鼻、灌胃甲状腺并吸入氨水”来复制阴虚证高反应性气道慢性感染咳嗽动物模型,探讨当归治疗慢性咳嗽的作用及其机制。结果显示,上述复合因素复制的阴虚证慢性咳嗽小鼠的咳嗽次数明显增加,并出现一定的阴虚症状;当归具有明显的止咳作用,而且随着给药时间的延长,当归止咳作用逐渐增强;同时,当归在治疗慢性咳嗽方面的作用与喷托维林相比有明显的优势。病理学结果显示,当归对小支气管管壁结构、炎症细胞浸润以及气道黏液分泌等病理学变化有明显的缓解作用。此外,当归可改善多饮、多食、体重减轻,以及自主活动增加等阴虚证表征指标。

慢性咳嗽的病因较多而复杂,但无论是常见的呼吸道疾病(如咽炎、肺炎、慢支炎等)还是典型的

### 3 讨论

《本经》谓当归有“主咳逆上气”之功,《本草纲目》、《本草蒙筌》及《本草求真》等中医药著作对当归“主咳逆上气”的功用均进行了阐释。当归作为补血活血之要药,既为血中气药又有血药补阴之效。从物质上来说,当归补血养阴而生津润肺(《神农本草经百种录》谓当归“润肺气”),从功能上来说,当归活血行气而散津降气(《本草蒙筌》谓当归“血药补阴,与阳齐等,则血和而气降矣”),故在治疗咳嗽等呼吸系统疾病过程中多用当归,如近代名医岳美中认为当归“止咳和血”,当代名医孟景春重用当归治疗久咳、夜咳颇有良效,金水六君煎、百合固金汤、加味益母丸等经典名方均配伍当归治疗阴虚咳嗽之症。咳嗽是呼吸系统常见的症状之一,成人持续咳

慢性咳嗽疾病(如咳嗽变异性哮喘、变应性咳嗽、嗜酸粒细胞性支气管炎等),在发病过程中均存在不同程度的炎症细胞浸润引起的气道慢性炎症反应,故呼吸道炎症反应是慢性咳嗽的基础病理特征<sup>[8]</sup>。另一方面,在慢性气道炎症反应及炎症活性物质(如 IL-4、IL-13 及 TNF- $\alpha$  等)的持续刺激下,P 物质(SP)、蛋白基因产物 9.5(PGP9.5)等神经源性炎症介质水平升高,激活调控咳嗽的神经胶质细胞,孤束核神经元兴奋性升高而使咳嗽神经通路敏感性增强,因此神经通路增敏是引起慢性咳嗽的主要原因<sup>[9]</sup>。近年来研究显示<sup>[10]</sup>,作为第二信使的环磷酸腺苷(cAMP)通过 cAMP 直接激活的交换蛋白分子(Epac),广泛参与咳嗽神经信息传递、气道神经源性炎症及免疫调节等多个生理病理过程;同时,cAMP 亦属于阴虚证的标志性成分之一。本研究结果显示,当归可缓解慢性咳嗽过程中小支气管的炎

(下转第 112 页)

- [7] Pajarillo E, Rizor A, Lee J, *et al.* The role of astrocytic glutamate transporters GLT-1 and GLAST in neurological disorders: Potential targets for neurotherapeutics [J]. *Neuropharmacology*, 2019, 161: 107559.
- [8] Glowatzki E, Cheng N, Hiel H, *et al.* The glutamate-aspartate transporter GLAST mediates glutamate uptake at inner hair cell afferent synapses in the mammalian cochlea [J]. *J Neurosci*, 2006, 26(29): 7659-7664.
- [9] Nagatomo K, Ueda Y, Doi T, *et al.* Functional role of GABA transporters for kindling development in GLAST KO mice [J]. *Neurosci Res*, 2007, 57(2): 319-321.
- [10] Tsuru N, Ueda Y, Doi T. Amygdaloid kindling in glutamate transporter (GLAST) knockout mice [J]. *Epilepsia*, 2002, 43(8): 805-811.
- [11] Karlsson RM, Tanaka K, Heilig M, *et al.* Loss of glial glutamate and aspartate transporter (excitatory amino acid transporter 1) causes locomotor hyperactivity and exaggerated responses to psychotomimetics; rescue by haloperidol and metabotropic glutamate 2/3 agonist [J]. *Biol Psychiatry*, 2008, 64(9): 810-814.
- [12] Uchida M, Hida H, Mori K, *et al.* Functional roles of the glial glutamate transporter (GLAST) in emotional and cognitive abnormalities of mice after repeated phencyclidine administration [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2019, 29(8): 914-924.
- [13] Yu H, Vikhe Patil K, Han C, *et al.* GLAST deficiency in mice exacerbates gap detection deficits in a model of salicylate-induced tinnitus [J]. *Front Behav Neurosci*, 2016, 10: 158.
- [14] Cano V, Valladolid-Acebes I, Hernandez-Nuno F, *et al.* Morphological changes in glial fibrillary acidic protein immunopositive astrocytes in the hippocampus of dietary-induced obese mice [J]. *Neuroreport*, 2014, 25(11): 819-822.
- [15] Fuente-Martin E, Garcia-Caceres C, Granado M, *et al.* Leptin regulates glutamate and glucose transporters in hypothalamic astrocytes [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(11): 3900-3913.
- [16] Lan YL, Zhao J, Li S. Estrogen receptors' neuroprotective effect against glutamate-induced neurotoxicity [J]. *Neurol Sci*, 2014, 35(11): 1657-1662.
- [17] Carozzi V, Marmioli P, Cavaletti G. Focus on the role of glutamate in the pathology of the peripheral nervous system [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2008, 7(4): 348-360.
- [18] Hakuba N, Koga K, Gyo K, *et al.* Exacerbation of noise-induced hearing loss in mice lacking the glutamate transporter GLAST [J]. *J Neurosci*, 2000, 20(23): 8750-8753.
- [19] Tserga E, Damberg P, Canlon B, *et al.* Auditory synaptopathy in mice lacking the glutamate transporter GLAST and its impact on brain activity [J]. *Prog Brain Res*, 2021, 262: 245-261.
- [20] 陈龙, 杨玉琪, 冯子奕, 等. 雌激素对老年 C57BL/6J 小鼠耳蜗螺旋神经节细胞凋亡的影响 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2020, 36(6): 529-533.

#### (上接第 95 页)

症反应,降低 BALF 中 IL-4、IL-13 及 TNF- $\alpha$  的含量,抑制肺组织 SP、PGP9.5 的表达,提高脑组织中具有镇咳作用的 5-HT 水平;进一步的研究显示,当归可降低肺组织 cAMP、Epac1 基因及蛋白的表达水平。

综上所述,当归对阴虚证慢性咳嗽有明显的止咳作用,下调 cAMP/Epac 信号通路,缓解气道神经源性炎症、降低咳嗽神经通路敏感性是当归治疗慢性咳嗽的作用机制之一,而降低 cAMP 水平也是当归缓解阴虚证表征指标的机制之一。

#### 【参考文献】

- [1] 赵凌云,李宏云.慢性咳嗽的治疗新进展[J].*中国全科医学*, 2022, 24(8): 930-940.
- [2] 韩曙光,赵弘卿. Epac: 新的支气管哮喘治疗靶分子 [J]. *中华哮喘杂志(电子版)*, 2013, 7(6): 448-451.
- [3] 孟景春. 当归治久咳、夜咳 [J]. *江苏中医*, 1995, 16(8): 24.
- [4] 陈千,熊富良,张雪琼. 甘草苷对感染后咳嗽(肺阴虚证)小鼠的止咳作用机制及抗氧化作用的研究 [J]. *华中师范大学学报(自然科学版)*, 2020, 54(5): 841-848.
- [5] 姚楠,韦凌霞,王志旺,等. 当归对阴虚哮喘小鼠气道黏液高分泌及 TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B 信号通路的影响 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2020, 36(2): 97-100.
- [6] 程羽,陈静,张晓梅,等. 玉屏风散加味方干预慢性阻塞性肺疾病气道重塑的探讨 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(22): 108-112.
- [7] 王志旺,刘雪枫,妥海燕,等. 当归对阴虚哮喘小鼠肺组织水通道蛋白 1 表达的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(1): 95-98.
- [8] Ju W, Zhao K, Li RX. Progress in the treatment of chronic cough in children with traditional chinese medicine through anti-inflammatory action [J]. *Prog Biochem Biophys*, 2020, 47(8): 858-866.
- [9] Mazzone SB, Chung KF, McGarvey L. The heterogeneity of chronic cough: a case for endotypes of cough hypersensitivity [J]. *Lancet Resp Med*, 2018, 6(8): 636-646.
- [10] 袁欢欢,李琳,李全民. Epac1 与神经性疼痛的研究进展 [J]. *医学综述*, 2018, 24(5): 868-872.