

蝉芩颗粒对感染后 咳嗽豚鼠神经源性炎症的影响*

石炜弘¹, 窦丹波¹, 葛文¹, 吕俊², 余小萍¹, 沈若冰^{1△}

1 上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203; 2 上海市浦东新区老年医院, 上海 201314

[摘要] 目的:探讨蝉芩颗粒对一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase,iNOS)/一氧化氮(nitric oxide,NO)-(3'-5'-cyclic guanosine monophosphate,cGMP)-蛋白激酶G(protein kinase G,PKG)通路介导的感染后咳嗽(post infectious cough,PIC)豚鼠神经源性炎症的作用机制。方法:采用H1N1病毒鼻腔滴注染毒模型,将豚鼠随机分为空白组,模型组,蝉芩颗粒高、中、低剂量组,阿斯美组,每组6只。空白组、模型组予生理盐水灌胃;蝉芩颗粒高、中、低剂量组分别以15.20、7.60、3.80 g/(kg·d)剂量蝉芩颗粒灌胃;阿斯美组以25.20 mg/(kg·d)剂量阿斯美灌胃,连续干预14天。干预结束后,采用酶联免疫吸附试验(Enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)测定豚鼠血清中P物质(substance P,SP)、白细胞介素1 β (interleukin-1 β ,IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)、细胞间黏附分子1(intercellular adhesion molecule-1,ICAM-1)表达水平;采用qPCR法检测豚鼠背根神经节中诱导型iNOS、可溶性鸟苷酸环化酶(soluble guanylate cyclase,sGC)、PKG mRNA表达水平;采用蛋白免疫印迹法(western blot,WB)和免疫组织化学法(Immunohistochemistry,IHC)检测豚鼠背根神经节中瞬时受体电位香草酸亚型1(transient receptor potential vanilloid-1,TRPV1)的蛋白表达水平。结果:与空白组比较,模型组豚鼠血清中SP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、ICAM-1表达水平及背根神经节中iNOS、sGC、PKG mRNA和TRPV1蛋白表达水平均升高($P<0.01$);与模型组比较,蝉芩颗粒高剂量组、阿斯美组豚鼠血清SP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、ICAM-1表达水平及背根神经节中iNOS、sGC、PKG mRNA和TRPV1蛋白表达水平均降低($P<0.05$),蝉芩颗粒中剂量组血清SP、IL-6、TNF- α 、ICAM-1表达及背根神经节中iNOS mRNA和TRPV1蛋白表达水平降低($P<0.05$),蝉芩颗粒低剂量组血清SP和IL-6表达水平及背根神经节中TRPV1蛋白表达水平降低($P<0.05$);与阿斯美组比较,蝉芩颗粒高剂量组血清IL-6表达水平升高($P<0.05$)、背根神经节TRPV1蛋白表达水平降低($P<0.05$),蝉芩颗粒中、低剂量组血清IL-6、IL-1 β 、背根神经节iNOS、sGC、PKG mRNA表达水平升高($P<0.05$),蝉芩颗粒低剂量组血清TNF- α 、ICAM-1表达水平升高($P<0.05$)。结论:蝉芩颗粒能够通过调控iNOS/NO-cGMP-PKG信号通路,抑制TRPV1通道,减少SP释放,从而减轻PIC豚鼠神经源性炎症。

[关键词] 感染后咳嗽;神经源性炎症;蝉芩颗粒;iNOS/NO-cGMP-PKG信号通路;豚鼠;
瞬时受体电位香草酸亚型1

[中图分类号] R277.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2025)01-0001-06

Influence of *Chanqin* Granules on Neurogenic Inflammation in Guinea Pigs with Post Infectious Cough

SHI Weihong¹, DOU Danbo¹, GE Wen¹, LYU Jun², YU Xiaoping¹, SHEN Ruobing^{1△}

1 Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai 201203, China;

2 Shanghai Pudong New District Geriatric Hospital, Shanghai 201314, China

Abstract Objective: To discuss the effects of *Chanqin* granules on neurogenic inflammation in guinea pigs with post infectious cough (PIC) mediated by iNOS/NO-cGMP-PKG signaling pathway. Methods: After establishing the models of H1N1 virus infection by nasal dripping, the guinea pigs were randomized into the blank group, the model group, high, moderate and low doses groups of *Chanqin* granules, and Asmeton group with six in each group. The blank group and the model group were drenched with physiological saline; high, moderate and low doses groups of *Chanqin* granules accepted intragastric administration of the medicine at the dose of 15.20, 7.60 and 3.80 g/(kg·d) respectively; and Asmeton group was given compound methoxyphenamine hydrochloride capsules at the dose of 25.20 mg/(kg·d) by gavage, they accepted 14 consecutive days of intervention. By the end of intervention, ELISA was adopted to detect the expressions of SP, IL-1 β , IL-6, TNF- α and ICAM-1 in the serum;

qPCR method was applied to measure the levels of iNOS, sGC and PKG mRNA in dorsal root ganglion of guinea pigs; the expressions of TRPV1 protein in dorsal root ganglion of guinea pigs were tested using WB and IHC. Results: Compared with the blank group, the expressions of SP, IL-6, IL-1 β , TNF- α and ICAM-1 in the serum were raised, and the levels of iNOS, sGC and PKG mRNA, as well as TRPV1 protein in the model group ($P<0.01$); compared with the model group, the expressions of SP, IL-6, IL-1 β , TNF- α and ICAM-1 in the serum of high dose group of *Chanqin* granules and Asmeton group were lowered, as well as the levels of iNOS, sGC and PKG mRNA, and TRPV1 protein ($P<0.05$), the expressions of SP, IL-6, TNF- α and ICAM-1 in the serum and the levels of iNOS mRNA and TRPV1 protein in dorsal root ganglion of guinea pigs were lowered in the moderate dose group of *Chanqin* granules ($P<0.05$), the expressions of SP and IL-6 in the serum and the levels of TRPV1 protein in dorsal root ganglion were reduced ($P<0.05$); Compared with Asmeton group, the expressions of IL-6 were raised ($P<0.05$) while the expressions of TRPV1 protein in dorsal root ganglion were lowered in high dose group of *Chanqin* granules ($P<0.05$), the levels of IL-6 and IL-1 β , the expressions of iNOS, sGC and PKG mRNA were increased in moderate and low doses groups of *Chanqin* granules ($P<0.05$), the levels of TNF- α and ICAM-1 were elevated in low dose group of *Chanqin* granules ($P<0.05$). Conclusion: *Chanqin* granules could inhibit TRPV1 pathway and control the release of SP by regulating iNOS/NO-cGMP-PKG signaling pathway, so as to relieve neurogenic inflammation in PIC guinea pigs.

Keywords post infectious cough; neurogenic inflammation; *Chanqin* granules; iNOS/NO-cGMP-PKG signaling pathway; guinea pigs; TRPV1

感染后咳嗽(post infectious cough, PIC)作为亚急性咳嗽的主要病因,通常发生在急性呼吸道感染症状消失后,主要表现为刺激性干咳或咳白色黏痰^[1-2]。目前,导致PIC的特异性病原体尚未明确,可能是由于流感病毒、副流感病毒和呼吸道合胞病毒等呼吸道感染所致^[3]。由感觉神经末梢释放以P物质(substance P, SP)为主的速激肽所介导的炎症反应称为神经源性炎症,神经源性炎症是PIC的重要机制之一。研究表明,诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)/一氧化氮(nitric oxide, NO)-(3'-5'-cyclic guanosine monophosphate, cGMP)-蛋白激酶G(protein kinase G, PKG)途径诱导的瞬时受体电位香草酸亚型1(transient receptor potential vanilloid-1, TRPV1)通路活化,导致速激肽释放,在病毒所致神经源性炎症中起重要作用^[4-5]。

蝉芩颗粒是上海市名中医黄吉庚教授结合多年治咳的临床经验所创立,体现了“宣肃并用,祛风清热,活血化痰”的思想^[6-7]。研究发现,蝉芩颗粒能有效缓解PIC患者咳嗽症状,改善患者生活质量^[8]。蝉芩颗粒还可减轻PIC大鼠气道神经源性炎症,机制可能与下调TRPV1表达、减少速激肽SP释放有关^[9]。网络药理学研究显示, iNOS可能是蝉芩颗粒治疗PIC的作用靶点^[10-11]。本研究观察不同浓度的蝉芩颗粒对 iNOS/NO-cGMP-PKG信号通路主要相关蛋白、TRPV1通道蛋白及下游神经源性炎症相关因子的作用,并探讨其作用机制,

现报道如下:

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF级豚鼠48只,雄性,体质量250~300 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物许可证号:SCXK(京)2016-0011。检疫后在SPF级环境下饲养,模型组动物单独饲养,动物及实验适用条约符合国家科学技术委员会发布的《实验动物管理条例》。

1.2 药物与试剂 蝉芩颗粒(由蝉衣、僵蚕、桔梗、枳壳、前胡、白前、紫菀、款冬花等组成)由上海中医药大学附属曙光医院药剂室制备(沪药制字Z06100006,规格:14 g/袋);阿斯美[第一三共制药(上海)有限公司,国药准字H20033669,每粒胶囊中含以下成分:盐酸甲氧那明12.5 mg,那可丁7 mg,氨茶碱25 mg,马来酸氯苯那敏2 mg];SP、白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、细胞间黏附分子1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)酶联免疫吸附试验(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,货号分别为m10281680、m1028174、m1003513、m1103499、m1037027);TRPV1抗体(英国Abcam公司,货号:ab203103)。

1.3 主要仪器 7500型PCR仪(美国ABI公司);BX51TF型荧光显微镜(日本OLYMPUS公司);RT-6000型酶标仪(美国Rayto);HMIAS2000型图像分析系统(中国武汉千屏影像技术有限责任公司);1703930型垂直电泳仪系统(美国BIO-RAD Mini

Trans-Bio)。

1.4 动物造模 在48只豚鼠中随机选择12只作为空白组,其余36只作为造模组,适应新环境1周左右开始接种病毒。乙醚轻微麻醉状态下,模型组滴鼻接种已扩增冻存好的H1N1病毒(中国兽医微生物菌种保藏管理中心提供,商品号:CVCC AV1523)250 μL,病毒液滴度为 3.6×10^5 PFU/mL。空白组经鼻腔滴入等体积生理盐水^[12]。造模完成后,从空白组、造模组各随机抽取6只豚鼠验证造模是否成功。豚鼠表现出频繁咳嗽、鼻腔分泌物增多、腹部起伏运动、颈部伸前点头等特征,处死豚鼠后取材,显示轻中度的气管周围炎症,即气道上皮不同程度的肿胀和脱落,腺体分泌增加,肺实质周围轻度炎症细胞浸润,未见明显肺间质炎症和肺泡融合,视为造模成功^[13]。

1.5 分组、给药及取材 空白组共6只豚鼠,造模组豚鼠按体质量随机分为模型组,阿斯美组及蝉芩颗粒高、中、低剂量组,每组6只,共6组。造模成功后24 h,各组豚鼠按10 mL/kg(体质量)进行灌胃。空白组、模型组予等体积生理盐水灌胃;蝉芩颗粒成人(按60 kg体质量计算)给药剂量为84 g/d,豚鼠给药剂量按“人和动物体表面积折算的等效剂量比值表”换算,即蝉芩颗粒高、中、低剂量组分别以15.20、7.60、3.80 g/(kg·d)剂量的蝉芩颗粒灌胃;阿斯美组以25.20 mg/(kg·d)剂量的阿斯美灌胃。各组豚鼠均每天灌胃1次,连续干预14天,最后一次灌胃结束24 h后进行取

材。1)采血:取豚鼠腹主动脉血2 mL至EP管中,于4 ℃,离心半径25 cm,1500 r/min离心10 min,取上清液,置于-80 ℃冰箱中冻存储用。2)取豚鼠背根神经节:将豚鼠俯卧置于冰面,剖开皮肤,钝性分离,暴露颈胸椎骨,以颈部最隆突(第二胸椎棘突)处定位C7~T5棘突。于正中处分离椎管,暴露脊髓。显微外科镊将脊髓推向一侧,暴露并挑起脊神经,在椎间孔处可见背根神经节。用显微外科剪分离相应神经节,锡纸包裹,快速放入冷冻管,液氮速冻,保存于-80 ℃冰箱备用。

1.6 方法

1.6.1 血清SP、IL-6、IL-1β、TNF-α、ICAM-1水平检测 采用ELISA法测定血清SP、IL-6、IL-1β、TNF-α、ICAM-1水平,具体操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。应用酶标仪于450 nm波长处测吸光度,绘制标准曲线,测定SP、IL-6、IL-1β、TNF-α、ICAM-1水平。

1.6.2 背根神经节 iNOS、可溶性鸟苷酸环化酶(soluble guanylate cyclase, sGC)、PKG mRNA水平检测 于-80 ℃冰箱中取出样品,将背根神经节置于匀浆器中充分研磨,利用Trizol试剂盒提取组织RNA。RNA样本进行逆转录反应,将制备好的cDNA进行PCR扩增,cDNA引物序列分别见表1。离心混匀后,将反应管置于qPCR检测仪反应。反应条件:退火温度均为58 ℃,其他条件同Sybr green试剂的通用条件。PCR扩增后记录相应的Ct值。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法推算mRNA的相对表达能力。

表1 iNOS、sGC、PKG引物序列

指标	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')	长度(bp)
β-actin	TCGTGCGTGACATTAAAGAGAAG	AGGAAGGAAGGCTGGAAGAGAG	上游:23,下游:22
iNOS	GCACACGTTGGCTTCCCTCT	TGGGCCAGTGCTTCTGATTTTCC	上游:21,下游:20
sGC	CCATTTGCCACCTGGCTTTAG	CAATCACACCTGTCACCACCTC	上游:21,下游:22
PKG/PRKG1	CACCAGACAGCAGGAGCACATC	CAGGCACGCTTCCATCAACAT	上游:22,下游:21

1.6.3 蛋白免疫印迹法(western blot, WB)检测背根神经节TRPV1蛋白表达 于-80 ℃冰箱中取出样品,将背根神经节置于匀浆器中充分研磨,加入组织裂解液,提取总蛋白,经配胶、蛋白上样、SDS-PAGE,转印蛋白,分别孵育一抗TRPV1抗体(1:1000稀释)及二抗,底物化学发光、显影、定影,应用灰度分析软件计算灰度值。用目的蛋白/内参灰度值比值作为目的蛋白的表达量。每组实验重复3次。

1.6.4 免疫组织化学法(Immunohistochemistry, IHC)检测背根神经节TRPV1表达 石蜡切片脱蜡至水后,将豚鼠背根神经节组织切片置于修复盒中,混匀后标记好抗原修复液0.01 mol/L,热修

复抗原。随后放入3%过氧化氢溶液阻断内源性过氧化物酶,切片稍甩干后,血清封闭30 min。分别加一抗、二抗后进行DAB显色,复染细胞核,脱水封片。用Image Pro Plus 6.0软件对上述组织的平均光密度值(mean option density, MOD)进行处理分析。

1.7 统计学方法 采用SPSS 23.0统计软件分析数据,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用单因素方差分析,组间多重比较采用LSD-*t*检验,方差不齐时采用Dunnett's T3法进行两两比较, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 豚鼠血清SP、IL-6、IL-1β、TNF-α、ICAM-1表达水平 与空白组比较,模型组血清SP、IL-6、IL-1β、TNF-α、ICAM-1表达水平升高($P<0.01$);与模型组比较,蝉芩颗粒高、中、低剂量组和阿斯美组血清SP、IL-6表达水平降低($P<0.05$),蝉芩颗粒高剂量组IL-1β表达水平降低($P<0.05$),蝉芩颗粒高、中剂量组TNF-α、ICAM-1表达水平降低($P<0.05$);与阿斯美组比较,蝉芩颗粒高、中、低剂量组血清IL-6表达水平升高($P<0.05$),蝉芩颗粒中、低剂量组血清IL-1β表达水平升高($P<0.05$),

蝉芩颗粒低剂量组TNF-α、ICAM-1表达水平升高($P<0.05$)。见表2。

2.2 豚鼠背根神经节iNOS、sGC、PKG mRNA表达水平 与空白组比较,模型组背根神经节组织iNOS、sGC、PKG mRNA表达水平升高($P<0.01$);与模型组比较,蝉芩颗粒高、中剂量组和阿斯美组iNOS mRNA表达水平降低($P<0.05$),蝉芩颗粒高剂量组和阿斯美组sGC、PKG mRNA表达水平降低($P<0.05$);与阿斯美组比较,蝉芩颗粒中、低剂量组iNOS、sGCmRNA表达水平升高($P<0.05$),蝉芩颗粒高、中剂量组PKG mRNA表达水平升高($P<0.05$)。见表3。

表2 各组豚鼠血清SP、IL-6、IL-1β、TNF-α、ICAM-1表达($\bar{x}\pm s$)						pg/mL
组别	豚鼠数	SP	IL-6	IL-1β	TNF-α	ICAM-1
空白组	6	307.68±15.83	76.01±10.65	54.63±7.51	80.68±10.92	747.86±125.86
模型组	6	468.37±41.05**	175.39±13.18**	131.54±17.22**	138.31±10.15**	1309.53±178.57**
蝉芩颗粒高剂量组	6	372.99±44.96 [#]	132.02±10.44 ^{#□}	109.53±12.22 [#]	109.56±11.33 [#]	1010.35±131.90 [#]
蝉芩颗粒中剂量组	6	381.52±52.36 [#]	141.42±13.33 ^{#□}	130.45±9.14 [□]	104.98±9.94 [#]	958.50±135.63 [#]
蝉芩颗粒低剂量组	6	399.53±57.55 [#]	147.17±17.73 ^{#□}	130.60±18.22 [□]	128.56±18.03 [□]	1222.54±136.07 [□]
阿斯美组	6	356.70±35.64 [#]	112.61±13.06 [#]	100.58±9.01 [#]	103.41±13.45 [#]	902.14±174.12 [#]

注:**表示与空白组比较, $P<0.01$;[#]表示与模型组比较, $P<0.05$,[□]表示与阿斯美组比较, $P<0.05$

表3 各组豚鼠背根神经节iNOS、sGC、PKG mRNA表达($\bar{x}\pm s$)				
组别	豚鼠数	iNOS	sGC	PKG
空白组	6	1.000±0.090	1.000±0.106	1.000±0.125
模型组	6	3.423±0.252**	3.146±0.221**	2.931±0.206**
蝉芩颗粒高剂量组	6	2.128±0.169 [#]	2.045±0.193 [#]	2.123±0.194 ^{#□}
蝉芩颗粒中剂量组	6	2.930±0.151 ^{#□}	3.047±0.226 [□]	2.749±0.229 [□]
蝉芩颗粒低剂量组	6	3.150±0.231 [□]	3.123±0.178 [□]	2.631±0.212 [□]
阿斯美组	6	1.987±0.185 [#]	1.918±0.188 [#]	1.729±0.163 [#]

注:**表示与空白组比较, $P<0.01$;[#]表示与模型组比较, $P<0.05$,[□]表示与阿斯美组比较, $P<0.05$

2.3 背根神经节TRPV1蛋白表达 WB结果显示:与空白组比较,模型组背根神经节组织中TRPV1蛋白表达水平升高($P<0.01$);与模型组比较,蝉芩颗粒低、中、高剂量组TRPV1蛋白表达水平降低($P<0.05$);与阿斯美组比较,蝉芩颗粒低、中、高剂量组TRPV1蛋白表达水平无明显差异($P>0.05$)。见表4、图1。

IHC结果显示:与空白组比较,模型组背根神经节组织TPRV1蛋白表达水平升高($P<0.01$);与模型组比较,蝉芩颗粒高、中剂量组、阿斯美组TRPV1蛋白表达水平均降低($P<0.05$);与阿斯美组比较,TRPV1蛋白表达水平蝉芩颗粒高剂量组降低,蝉芩颗粒中、低剂量组升高($P<0.05$)。见

表5、图2。

表4 各组豚鼠WB背根神经节TRPV1蛋白表达($\bar{x}\pm s$)		
组别	豚鼠数	TRPV1
空白组	6	1.000±0.177
模型组	6	3.624±0.589**
蝉芩颗粒高剂量组	6	1.376±0.156 [#]
蝉芩颗粒中剂量组	6	1.537±0.255 [#]
蝉芩颗粒低剂量组	6	1.923±0.065 [#]
阿斯美组	6	1.440±0.331 [#]

注:**表示与空白组比较, $P<0.01$;[#]表示与模型组比较, $P<0.05$

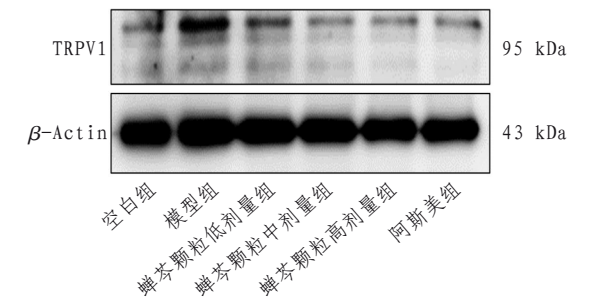
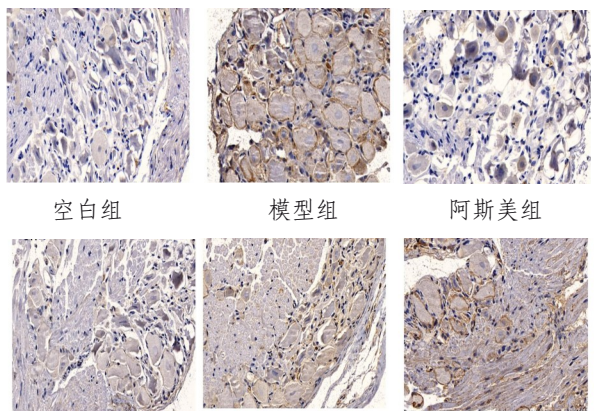


图1 背根神经节 TRPV1 蛋白免疫印迹图

表5 各组豚鼠 IHC 背根神经节 TRPV1 蛋白表达($\bar{x} \pm s$)

组别	豚鼠数	TRPV1
空白组	6	0.182 ± 0.017
模型组	6	0.574 ± 0.108**
蝉芩颗粒高剂量组	6	0.208 ± 0.017#□
蝉芩颗粒中剂量组	6	0.370 ± 0.034#□
蝉芩颗粒低剂量组	6	0.526 ± 0.056□
阿斯美组	6	0.263 ± 0.048#

注:**表示与空白组比较, $P < 0.01$; #表示与模型组比较, $P < 0.05$; □表示与阿斯美组比较, $P < 0.05$



蝉芩颗粒高剂量组 蝉芩颗粒中剂量组 蝉芩颗粒低剂量组

图2 各组豚鼠背根神经节 TRPV1 表达(IHC, $\times 100$)

3 讨论

神经源性炎症作为PIC的重要机制之一,可引起外周组织血浆蛋白外渗、血管通透性增加,组织中黏液分泌增多^[14],继而促进肥大细胞脱颗粒释放IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等炎症介质,并促进中性粒细胞黏附和移行,内皮细胞产生ICAM-1,从而激发炎症反应^[15]。病毒感染后C纤维末梢上TRPV1的激活可促使速激肽释放,TRPV1受体属于配体门控非选择性阳离子通道,兴奋时钙离子流动产生冲动,在咳嗽过程中发挥重要作用^[16],在PIC等疾病中,TRPV1作为感受器被体内炎症因子如NO增敏激活作出效应,释放SP等速激肽^[17-18]。外周感觉神经末梢摄取SP,逆行至脊神经背根神经

节,随后逆向性释放SP进入局部组织中,作用于气道效应细胞,引起以神经源性炎症为主的炎症反应^[19]。NO不仅是一种炎症介质,还是具有生物活性的气体分子,在周围及中枢伤害性感受传递中发挥重要作用,参与中枢神经系统伤害性刺激信息传递、神经元兴奋性维持等过程。iNOS是内源性NO合成的关键限速酶,其在多种免疫炎症中表达,参与机体炎症反应^[20]。

研究发现,iNOS/NO-cGMP-PKG信号通路能够参与介导炎症反应感受器,并在炎症信号传递中发挥重要作用^[21]。cGMP-PKG通路是NO激活TRPV1的经典信号传导途径,即内、外源性刺激如病毒感染使兴奋型非肾上腺素能非胆碱能神经的作用增强,激发神经元突触前膜去极化,使谷氨酸等释放到突触间隙与N-甲基-D天冬氨酸等受体结合,在还原型辅酶II的协助下激活iNOS,催化L-精氨酸生成NO^[22]。NO通过扩散作用于邻近神经元或直接作用于其所在神经元结合到sGC上,使酶发生变构效应而被激活。sGC是一种细胞内信使,活化的sGC能够催化cGMP,而cGMP能够激活各种效应分子,包括cGMP依赖的PKG,cGMP通过结合PKG的两个调节结构域的位点,激活PKG使其磷酸化。活化后的PKG可磷酸化TRPV1的两个丝氨酸残基,从而激活TRPV1。增敏后的TRPV1受到钙离子流动引起的细胞膜去极化形成动作电位,释放SP等速激肽,形成神经源性炎症,从而参与神经元兴奋性传递、维持的过程^[23]。研究发现,NO通过激活cGMP-PKG途径,增敏背根神经节神经元中TRPV1,从而释放SP等速激肽^[24]。

本研究结果显示,模型组豚鼠背根神经节TRPV1蛋白表达水平及血清SP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、ICAM-1表达水平均升高,说明H1N1造模可通过激活TRPV1释放速激肽,导致神经源性炎症。经蝉芩颗粒干预后,蝉芩颗粒高剂量组血清SP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、ICAM-1表达水平均降低,且豚鼠背根神经节iNOS、sGC、PKG mRNA和TRPV1蛋白表达水平均降低,蝉芩颗粒高剂量组疗效与阿斯美组趋同,说明蝉芩颗粒可能通过调控iNOS/NO-cGMP-PKG信号通路,抑制TRPV1通道活化,减少速激肽释放,从而发挥减轻病毒感染所致神经源性炎症的作用。研究显示,TRPV1通道不仅是NO-cGMP-PKG信号转导的下游靶点,同时也是启动该信号转导的关键上游激活因子^[25]。也有研究提出NO可通过激活cGMP/PKG间接途径,抑制DRG神经元的TRPV1活性,可能与NO释放量有关^[24]。

综上所述,NO对TRPV1可能具有双重调节机

制。PIC治疗领域中,针对iNOS增敏TRPV1引起神经源性炎症这一病理过程尚缺乏切实有效的干预措施。本研究基于“iNOS/NO-cGMP-PKG-TRPV1-神经源性炎症”这一主线,探讨蝉芩颗粒治疗PIC的作用机制,为蝉芩颗粒临床应用提供了一定科学依据。

参考文献

- [1] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南(2015)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(5): 323-354.
- [2] 张耀夫, 赵进喜. 赵进喜辨体质、辨病、辨证“三位一体”诊疗模式治疗感染后咳嗽经验[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(1): 211-213.
- [3] CHANG A B, OPPENHEIMER J J, RUBIN B K, et al. Chronic cough related to acute viral bronchiolitis in children: chest expert panel report[J]. Chest, 2018, 154(2): 378-382.
- [4] BAYARRI M A, MILARA J, ESTORNUT C, et al. Nitric oxide system and bronchial epithelium: more than a barrier[J]. Front Physiol, 2021, 12: 687381.
- [5] LEE N P, CHENG C Y. Regulation of sertoli cell tight junction dynamics in the rat testis via the nitric oxide synthase/soluble guanylate cyclase/3', 5'-cyclic guanosine monophosphate/protein kinase G signaling pathway: an in vitro study[J]. Endocrinology, 2003, 144(7): 3114-3129.
- [6] 霍雁, 李淑芳, 黄吉庚. 黄吉庚辨治痰饮咳嗽经验[J]. 中医文献杂志, 2021, 39(5): 69-71.
- [7] 马爱贤, 杨继, 王强. 从风、郁、虚论治咳嗽变异性哮喘[J]. 西部中医药, 2023, 36(11): 75-78.
- [8] 沈若冰, 余小萍, 何铭晟. 蝉芩颗粒对感染后咳嗽患者气道神经源性炎症影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(2): 93-96.
- [9] 吕俊, 余小萍, 沈若冰. 蝉芩颗粒通过下调COX-2抑制TRPV1通道减轻感染后咳嗽大鼠气道神经源性炎症[J]. 广州中医药大学学报, 2020, 37(3): 509-515.
- [10] JU Y, SHEN R, YU X. Efficacy of active compounds of *Chanqin* Granules on airway neurogenic inflammation induced by PM_{2.5} in vivo[J]. J Tradit Chin Med, 2020, 40(5): 792-802.
- [11] 李琦, 唐以军, 王梅芳. 半夏厚朴汤治疗咳嗽变异性哮喘的网络药理学研究[J]. 西部中医药, 2023, 36(1): 23-29.
- [12] 叶新民, 钟南山, 刘春丽, 等. 副流感病毒感染豚鼠咳嗽反射敏感性变化及其神经源性炎症机制探讨[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(1): 1-8.
- [13] JIA Z, FEIXIA L. Effects of *Qufeng Xuanfei* Decoction in animal model of post-infectious cough[J]. Cell Biochem Biophys, 2014, 70(2): 881-885.
- [14] SOUSA-VALENTE J, BRAIN S D. A historical perspective on the role of sensory nerves in neurogenic inflammation[J]. Semin Immunopathol, 2018, 40(3): 229-236.
- [15] GREEN D P, LIMJUNYAWONG N, GOUR N, et al. A mast-cell-specific receptor mediates neurogenic inflammation and pain[J]. Neuron, 2019, 101(3): 412-420.
- [16] HUTCHINSON N X, GIBBS A, TONKS A, et al. Airway expression of Transient Receptor Potential (TRP) Vanilloid-1 and Ankyrin-1 channels is not increased in patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis[J]. PLoS One, 2017, 12(11): 187847.
- [17] SADOFSKY L R, CANTERO-RECASENS G, WRIGHT C, et al. TRPV1 polymorphisms influence capsaicin cough sensitivity in men[J]. J Thorac Dis, 2017, 9(3): 839-840.
- [18] WANG Y P, CUI L, XU H, et al. TRPV1 agonism inhibits endothelial cell inflammation via activation of eNOS/NO pathway[J]. Atherosclerosis, 2017, 260: 13-19.
- [19] LI M, SHANG Y X. Inhaled corticosteroids inhibit substance P receptor expression in asthmatic rat airway smooth muscle cells[J]. BMC Pulm Med, 2012, 12: 79.
- [20] ASOSINGH K, LAURUSCHKAT C D, ALEMAGNO M, et al. Arginine metabolic control of airway inflammation[J]. JCI Insight, 2020, 5(2): 127801.
- [21] 李慧明. 背根节慢性压迫模型小鼠交感敏化的NO-cGMP-PKG信号通路研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2012.
- [22] OMAR S, CLARKE R, ABDULLAH H, et al. Respiratory virus infection up-regulates TRPV1, TRPA1 and ASIC3 receptors on airway cells[J]. PLoS One, 2017, 12(2): 171681.
- [23] XU X, CHEN Q, QIU Z, et al. Association of cough hypersensitivity with tracheal TRPV1 activation and neurogenic inflammation in a novel guinea pig model of citric acid-induced chronic cough[J]. J Int Med Res, 2018, 46(7): 2913-2924.
- [24] JIN Y, KIM J, KWAK J. Activation of the cGMP/protein kinase G pathway by nitric oxide can decrease TRPV1 activity in cultured rat dorsal root ganglion neurons[J]. Korean J Physiol Pharmacol, 2012, 16(3): 211-217.
- [25] MIYAMOTO T, DUBIN A E, PETRUS M J, et al. TRPV1 and TRPA1 mediate peripheral nitric oxide-induced nociception in mice[J]. PLoS one, 2009, 4(10): 7596.

收稿日期: 2024-03-16

*基金项目: 国家自然科学基金(81904127); 浦东新区“国家中医药发展综合改革试验区”建设项目(PDZY-2019-0203)。

作者简介: 石炜弘(1998—), 女, 硕士学位, 医师。研究方向: 肺系疾病的中医药防治。

△通讯作者: 沈若冰(1980—), 女, 博士学位, 副主任医师。研究方向: 肺系疾病的中医药防治。Email: shen-robin@126.com。