

DOI:10.13350/j.cjpb.250803

• 论著 •

白细胞-富血小板血浆(L-PRP)对脊髓损伤微环境的免疫调节作用*

张文龙¹, 马晓晴², 张东洋², 王钧³, 陈庆友⁴, 朱丽娟^{2**}

(1. 齐齐哈尔医学院附属第三医院骨二科, 黑龙江齐齐哈尔 161000;

2. 齐齐哈尔医学院附属第三医院神经内一科; 3. 齐齐哈尔医学院; 4. 齐齐哈尔医学院附属第三医院电生理科)

【摘要】 目的 探讨白细胞-富血小板血浆(L-PRP)对大鼠脊髓完全横断损伤后运动功能、炎症微环境及神经元修复的影响。**方法** 45只Wistar大鼠随机分为Sham组、脊髓损伤对照组(SCI组)和L-PRP组(每组15只),建立T9~T10横断模型。术后于损伤中心分别注射等体积生理盐水或0.5 mL L-PRP,观察第1、7、14、21、28天体重、BBB评分、Von Frey阈值及组织学和分子学指标。**结果** 术后28 d时,SCI组BBB评分(6.50 ± 0.78)低于L-PRP组(10.06 ± 0.72) ($P < 0.05$)。L-PRP组IL-1 β 水平(40.15 ± 3.10) pg/mL明显低于SCI组(57.80 ± 3.44) pg/mL ($P < 0.05$),神经元计数较SCI组提升约27%,Von Frey阈值亦显著增高($P < 0.05$)。提示L-PRP可部分减轻继发性炎症并促进神经元存活。

结论 L-PRP干预在一定程度上改善脊髓损伤后的功能缺损,并有助于调控损伤部位免疫微环境,为探索神经再生与免疫治疗一体化策略提供了新的方向。

【关键词】 脊髓损伤;细胞-富血小板血浆;免疫微环境;炎症因子;运动功能

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2025)08-0982-06

[Journal of Pathogen Biology. 2025 Aug.;20(08):982-987,993.]

Immunomodulatory effect of L-PRP on the microenvironment of spinal cord injury

ZHANG Wenlong¹, MA Xiaoping², ZHANG Dongyang², WANG Jun³, CHEN Qingyou⁴, ZHU Lijuan²

(1. Department of Orthopedics, Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College, Qiqihar 161000, Heilongjiang, China; 2. Department of Neurology, Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College; 3. Qiqihar Medical College, Qiqihar City; 4. Department of Electrical Engineering, Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of leukocyte-rich platelet-rich plasma (L-PRP) on motor function, inflammatory microenvironment, and neuronal repair in rats with complete spinal cord transection. **Methods** Forty-five Wistar rats were randomly divided into Sham, spinal cord injury control (SCI), and L-PRP groups ($n=15$ each). A T9-T10 complete transection model was established. Postoperatively, equal volumes of saline or 0.5 mL L-PRP were injected into the lesion epicenter. Body weight, Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) locomotor scores, Von Frey thresholds, and histopathological/molecular markers were assessed on days 1, 7, 14, 21, and 28. **Results** At 28 days post-injury, the SCI group exhibited lower BBB scores (6.50 ± 0.78) compared to the L-PRP group (10.06 ± 0.72) ($P < 0.05$). L-PRP intervention significantly reduced IL-1 β levels (40.15 ± 3.10 pg/mL vs. 57.80 ± 3.44 pg/mL in SCI group, $P < 0.05$), increased neuronal survival by approximately 27%, and elevated Von Frey thresholds ($P < 0.05$), suggesting partial mitigation of secondary inflammation and enhanced neuronal preservation. **Conclusion** L-PRP administration ameliorates functional deficits post-spinal cord injury and modulates the local immune microenvironment, providing new insights for exploring integrated neuroregenerative and immunotherapeutic strategies.

【Keywords】 spinal cord injury; leukocyte-rich platelet-rich plasma; immune microenvironment; inflammatory cytokines; motor function

***脊髓损伤(Spinal cord injury, SCI)是一种高致残率的中枢神经系统损伤,可导致机体感觉、运动以及自主神经功能的严重障碍^[1]。其病理过程大体可分为原发性损伤与继发性损伤两个阶段:原发性损伤主要由外力直接对脊髓组织造成的机械性破坏所致,而继发性损伤则是一个较为复杂且持续发展的病理过程,往往

* **【基金项目】** 齐齐哈尔市科技计划联合引导项目(No. LHYD-2021067)。

** **【通信作者】** 朱丽娟, E-mail: zljzw10217@163.com

【作者简介】 张文龙(1987-),男,黑龙江齐齐哈尔人,硕士,主治医师,主要从事脊柱脊髓损伤、神经再生与修复相关研究。E-mail: zwl1987621@126.com

包括炎症因子释放、神经细胞凋亡、缺血性损害以及胶质瘢痕形成等^[2]。在此过程中,大量免疫细胞(如中性粒细胞和巨噬细胞)会聚集于损伤部位并产生一系列促炎或抗炎介质,这些因素共同决定了最终的修复结局。已有大量研究表明,脊髓损伤后早期环境中占主导地位的促炎反应往往会加重继发性损伤,而后期适度的抗炎免疫和细胞修复过程有助于神经功能的保护和恢复^[3-4]。如何在脊髓损伤后精准调控免疫微环境,抑制过度炎症反应同时促进有益免疫过程,已成为SCI治疗研究的热点。

富血小板血浆(Platelet-rich plasma, PRP)因其富含血小板、细胞因子及生长因子,在组织修复和再生医学领域已有多年的研究和推广应用^[5]。与传统PRP相比,含有白细胞成分的L-PRP(Leukocyte-platelet-rich plasma)能够在保持生长因子优势的基础上,进一步整合白细胞免疫调控功能,从而对组织修复、炎症反应的动态平衡产生更加深远的影响^[6]。既往研究表明,L-PRP中的白细胞和血小板不仅可以协同促进损伤部位的新生血管化和胶原沉积,还能够通过分泌多种免疫因子参与调控巨噬细胞极化(M1型向M2型转变)以及TGF- β 、IL-10等关键抗炎介质的分泌水平^[7-8]。据此推测,在中枢神经系统的损伤修复过程中,L-PRP或可兼具促修复与免疫调节的双重特性,为脊髓损伤后的二次损害控制和功能恢复提供新的治疗思路。

脊髓损伤后微环境极为复杂,早期的炎症风暴会使神经轴突和髓鞘破坏进一步加剧,后期则可形成抑制再生的瘢痕屏障^[9]。与此同时,大量释放的细胞因子和趋化因子会在组织局部形成免疫与炎症反应网络,在抑制神经再生微环境的同时,也可触发损伤修复所必需的免疫-神经调控通路^[10]。现有临床和前临床研究对如何平衡炎症与修复、并在时间尺度上实现免疫微环境的精准调控仍缺乏系统性认识。由于L-PRP中所含的血小板生长因子、趋化因子及白细胞成分具有多元调控功能,合理地将其应用于SCI的免疫微环境调控,或许能够显著减轻二次损伤并有效促进残存神经组织及其功能的修复。

基于上述背景,本研究旨在通过构建大鼠脊髓损伤模型,对L-PRP在SCI后免疫微环境调控方面的作用机制进行探讨,评估L-PRP对脊髓损伤组织炎症细胞浸润、巨噬细胞极化方向以及各类细胞因子的时相性变化的影响。本研究期望能够为L-PRP在脊髓损伤修复中的应用提供科学依据,并为后续个性化、精准化的神经再生治疗策略提供理论与实验基础。

材料与方法

1 实验动物

选取健康成年Wistar大鼠45只(雄性,体重约250~300 g),实验前在恒温(22~25 ℃)、相对湿度50%~60%环境中适应性饲养7 d,饲养期间提供充足食物与饮水,并保持12 h光暗周期。所有大鼠采用随机数字表法分为假手术组(Sham组)、脊髓损伤对照组(SCI组)以及L-PRP干预组(L-PRP组),每组15只。SHAM组仅在T9~T10节段行椎板暴露而不切断脊髓,SCI组在同一节段建立完全横断模型后于损伤部位注射等体积生理盐水,L-PRP组以相同方式建立完全横断模型后注射0.5 mL新鲜制备的L-PRP。所有实验动物采用统一饲养及观察方式记录术后感染、存活率与行为学指标。

本研究相关操作均依照动物实验伦理准则完成并通过齐齐哈尔医学院附属第三医院(动伦理批号2023-434号)。

2 L-PRP制备

采集健康Wistar大鼠尾静脉采血,每只大鼠采集4 mL全血并及时置于含抗凝剂的离心管内,在室温下完成2次离心。第1次1 500 r/min离心10 min,将血浆与血细胞分离后保留含血浆和白细胞的上层部分,在2 500 r/min再次离心10 min以沉淀血小板及少量白细胞,再将上清弃去后适当重悬沉淀。所得L-PRP置于4 ℃环境保存,并在2 h内使用。

3 脊髓损伤模型

将大鼠置于异氟醚吸入环境下完成诱导和维持麻醉,剃除胸段背部皮毛后行常规消毒处理,在无菌操作条件下沿后正中中线切开皮肤并分离肌层,暴露T9~T10椎板,用显微手术器械在脊髓相应节段进行彻底横断。为避免过度创伤,整个切断过程控制在20 min以内并及时止血,通过下肢无自主活动和触针反射判断切断情况。所有术野均以生理盐水冲洗,随后缝合肌肉和皮肤。模型建立后将大鼠单笼饲养并保持25~28 ℃环境观测,提供足够饮食和饮水,及时记录手术后活动与生活状况。

4 干预方式和注射方法

脊髓完全横断操作结束后使用微量注射器将0.5 mL新鲜制备的L-PRP缓慢注入损伤中心区域,注射期间将针头固定于软膜表面,保持轻微倾斜减缓阻力并尽量减少液体外溢。SCI组大鼠同一时间在相同部位和方式下注入等量生理盐水。处置完成后检查术区有无明显出血或渗漏,与周围组织进行充分冲洗并再次止血,再行肌层与皮肤分层缝合。随后依据术后护理流程将大鼠安置于单笼饲养环境,持续监测手术切口愈合和行为学表现。

5 行为学评估

行为学评估在术后第1、7、14、21和28 d开展,包括运动功能与痛觉敏感度。运动功能采用 Basso、Beattie 和 Bresnahan (BBB) 评分量表进行观测,主要从关节活动、负重行走以及步态协调性等维度对后肢功能变化进行综合判定,总分范围为0~21分,分值越高代表功能越佳。痛觉敏感度采用 Von Frey 纤维测试评估机械痛反应阈值,将不同力度的纤维按垂直方向作用于后足底,每只大鼠重复检测3次取平均值作为最终阈值。

6 行组织学分析

末次行为学评估完成后实施充分麻醉,经心脏灌注以生理盐水清洗血液,再以4%多聚甲醛固定液进行灌注固定,从损伤部位取出胸段脊髓并置于同样浓度的固定液中4℃浸泡至少24 h。组织经脱水和透明处理后包埋于石蜡制备切片。苏木精-伊红(HE)染色用于整体组织结构和炎性细胞浸润的观察,Nissl 染色评估神经元存活数量和分布。所有染色完成后在光学显微镜下拍照,分析神经元密度、胶质瘢痕范围或髓鞘保留程度。

7 行细胞因子检测

末次取样时,从大鼠脊髓损伤中心及周缘区域取约100 mg组织,置于含蛋白酶抑制剂的预冷裂解液中进行充分匀浆,4℃条件下12 000 r/min离心10 min取上清测定。采用ELISA试剂盒分别测定肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)及白细胞介素-6 (IL-6)等相关炎性细胞因子的表达水平。

8 统计学分析

使用SPSS 23.0软件进行统计学分析。对于呈正态分布且方差齐性的定量数据,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和重复测量方差分析(Repeated Measures ANOVA)比较多组之间的差异,采用 Least Significant Difference (LSD) 进行多重比较校正。结果以均数 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SD)表示, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 一般状况及存活率

在整个术后观察期(28 d)内,各组大鼠均不同程度地出现了后肢运动功能障碍、排尿异常等表现,但整体健康状况相对平稳。术前后3 d内,个别大鼠因损伤严重或排尿不畅导致的并发症而死亡。Sham、SCI、L-PRP组存活数分别为15、13和14只,存活率分别为100%、86.67%、93.33%,3组间的总体存活率差异无统计学意义($\chi^2=2.857, P=0.091$)。

Sham、SCI、L-PRP组造模前体重分别为(200.85 $\pm$ 4.92)g、(201.33 $\pm$ 5.04)g、(200.77 $\pm$ 4.63)g,第14

天体重分别为(210.57 $\pm$ 5.33)g、(205.42 $\pm$ 6.18)g、(208.86 $\pm$ 5.83)g,第28天体重分别为(219.02 $\pm$ 5.64)g、(211.10 $\pm$ 5.77)g、(216.75 $\pm$ 6.24)g。术后28 d时,Sham组体重增加幅度最高,SCI组相对较低,L-PRP组介于2组之间。各组间存在显著的组间效应和时间效应 [$F_{\text{组间效应}}(2,42)=4.362, P=0.020$; $F_{\text{时间效应}}(2,84)=85.703, P<0.001$; $F_{\text{交互效应}}(4,84)=2.115, P=0.081$]。LSD比较发现,在第28天时,L-PRP组体重显著高于SCI组($P=0.046$),而Sham组与L-PRP组、Sham组与SCI组之间的差异相对较小($P>0.05$),提示L-PRP组对改善大鼠术后体重下降有一定积极意义,但仍低于正常对照水平。

2 运动功能与痛觉敏感度评估

2.1 BBB评分 术后第1天开始,Sham组大鼠的BBB评分始终维持在较高水平(>20 分),而SCI组初始评分较低(<1 分),并在后续时间逐渐提升至约6.50分(第28天);L-PRP组BBB评分同样由较低水平逐渐上升至约10.06分,明显高于SCI组但仍低于Sham组。各时间点的BBB评分见表1。重复测量方差分析(组别:Sham、SCI、L-PRP;时间:第1、7、14、21、28天)结果显示(图1A),BBB评分在组间效应、时间效应及交互效应上差异均有统计学意义 [$F_{\text{组间效应}}(2,42)=398.200, P<0.001$; $F_{\text{时间效应}}(4,168)=90.342, P<0.001$; $F_{\text{交互效应}}(8,168)=16.438, P<0.001$]。LSD检验显示,在第14天及后续时间点,L-PRP组评分均显著高于SCI组(均 $P<0.05$),但与Sham组仍存在明显差距(均 $P<0.05$)。提示L-PRP能够部分改善脊髓损伤后的后肢运动功能,但尚不足以恢复至正常水平。

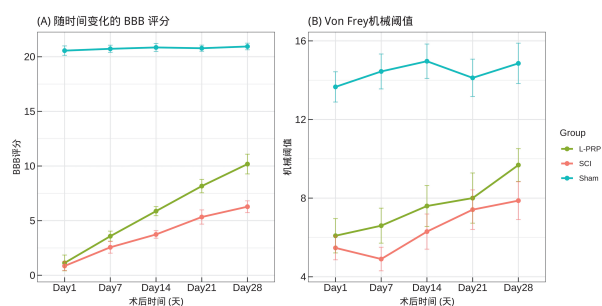


图1 术后不同天数 Sham 组、SCI 组和 L-PRP 组随时间变化的 (A) BBB 评分和 (B) Von Frey 机械阈值

Fig. 1 BBB score (A) and Von Frey mechanical threshold (B) changes over time in the Sham group, SCI group, and L-PRP group at different days after surgery

2.2 Von Frey 测试 大鼠后肢 Von Frey 机械刺激阈值可反映痛觉敏感度。由表2可见,Sham组机械阈值稳定在较高范围(>12.00 g),SCI组在各时间点均显著低于Sham组,并在早期(第1~7天)最低(<6.00 g),后期略有回升(第28天约8.10 g)。L-PRP

组阈值自第7天起较SCI组显著升高($P<0.05$),但仍低于Sham组水平。重复测量方差分析(组别:Sham、SCI、L-PRP;时间:第1、7、14、21、28天)表明(图1B),机械阈值在组间效应、时间效应及交互效应上差异均有统计学意义[$F_{\text{组间效应}(2,42)}=152.317, P<0.001; F_{\text{时间效应}(4,168)}=33.462, P<0.001; F_{\text{交互效应}(8,168)}=11.257, P<0.001$]。事后比较显示,L-PRP组在第14、21、28天与SCI组比较均有统计学差异(均 $P<0.05$),提示L-PRP干预可一定程度上减轻脊髓损伤导致的机械超敏现象。

表1 各组大鼠在不同时点的BBB评分(Mean±SD)
Table 1 BBB scores of rats in each group at different time points

时间	Sham	SCI	L-PRP
第1天	20.55±0.45	0.92±0.40	1.05±0.52
第7天	20.65±0.42	2.32±0.41	3.45±0.58
第14天	20.70±0.40	4.06±0.55	5.92±0.62
第21天	20.78±0.35	5.14±0.63	7.82±0.67
第28天	20.95±0.30	6.50±0.78	10.06±0.72

表2 各组大鼠在不同时点的Von Frey机械阈值(g,Mean±SD)
Table 2 Von Frey mechanical threshold of rats in each group at different time points

时间	Sham	SCI	L-PRP
第1天	14.05±1.01	5.25±0.80	6.00±0.72
第7天	14.20±0.95	5.10±0.77	6.50±0.85
第14天	14.32±1.08	6.22±0.82	7.55±0.88
第21天	14.40±0.98	7.10±0.90	8.02±1.00
第28天	14.55±1.06	8.10±0.91	9.25±0.95

3 组织学分析结果

HE染色显示(图2),Sham组脊髓形态结构完整、灰白质分界清晰,未见明显水肿及坏死;SCI组损伤区出现明显空洞及炎症细胞浸润,坏死范围较大;L-PRP组虽仍可见一定程度的炎症细胞聚集与组织缺损,但空洞体积及炎症病灶的范围明显小于SCI组,脊髓形态更为完整。Nissl染色表明(图2),Sham组腹角运动神经元数量丰富,神经元胞体饱满、染色清晰;SCI组神经元缺失明显,胞体萎缩并伴随显著的染色质减少;L-PRP组神经元损伤程度居于2组间,其胞体相对完整,数量显著多于SCI组,但仍低于Sham组。为量化神经元存活率,本研究对脊髓腹角神经元进行计数(单位:个/HPF)。Sham、SCI、L-PRP组神经元数分别为(156.45±11.82)个/HPF、(94.62±9.74)个/HPF、(120.38±10.56)个/HPF,3组差异均有统计学意义($F=42.756, P<0.001$)。见图3。LSD检验分别在Sham vs SCI($P<0.001$)、Sham vs L-PRP($P=0.006$)以及SCI vs L-PRP($P=0.003$)之间均显示统计学差异。这与HE染色与Nissl染色对组织结构及神经元形态学差异的直接观察结果保持一致。

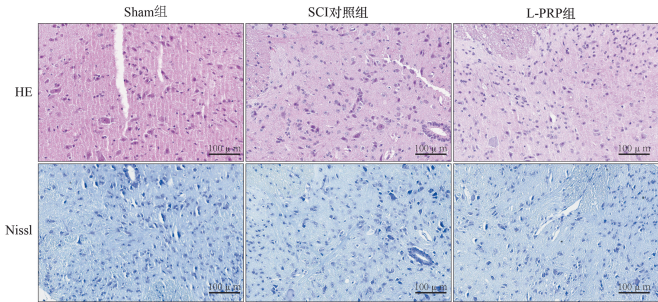


图2 Sham、SCI和L-PRP组样本HE染色和Nissl染色结果
Fig. 2 HE staining and Nissl staining results of samples in the Sham, SCI and L-PRP groups

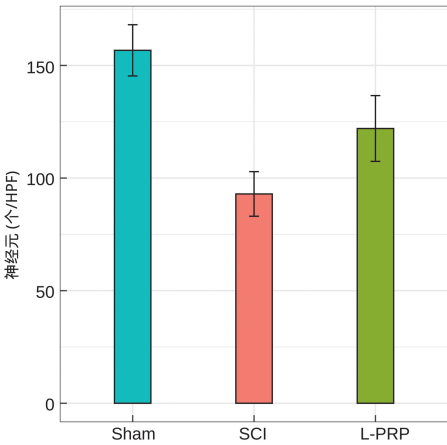


图3 Sham、SCI和L-PRP组中神经元计数比较
Fig. 3 Comparison of neuron counts in Sham,SCI, and L-PRP group

4 炎症细胞因子表达水平

本研究于术后第28天检测了血清中IL-1 β 、TNF- α 、IL-6及IL-10的表达水平,用以评估L-PRP干预在减轻脊髓损伤相关炎症反应方面的作用。结果显示,与Sham组相比,SCI组中IL-1 β 、TNF- α 和IL-6含量均显著升高,而L-PRP组的这三种因子水平均明显低于SCI组,但仍高于Sham组;在IL-10的表达上,Sham组最高、SCI组最低,L-PRP组居中,提示在一定程度上L-PRP能够上调抗炎因子的表达水平。见表3。LSD事后比较进一步表明,IL-1 β 在Sham vs SCI($P<0.001$)、Sham vs L-PRP($P<0.001$)和SCI vs L-PRP($P=0.017$)之间均存在显著差异,TNF- α 在Sham vs SCI($P=0.000$)、Sham vs L-PRP($P=0.005$)及SCI vs L-PRP($P=0.023$)对比中同样达到显著水平,IL-6的多重比较结果(Sham vs SCI, $P=0.000$;Sham vs L-PRP, $P=0.009$;SCI vs L-PRP, $P=0.015$)也说明3组间差异显著,而IL-10在Sham vs SCI($P<0.001$)、Sham vs L-PRP($P=0.024$)及SCI vs L-PRP($P=0.032$)的比较中同样具备统计学差异。见图4。结果表明L-PRP能够有效降低促炎因子水平并在一定程度上提升抗炎细胞因子表达。

SCI后显著升高的促炎因子与下降的抗炎因子表达,显示出明显的炎症级联效应,而L-PRP干预则在一定程度上逆转了此过程,降低IL-1 β 、TNF- α 和IL-6并提升IL-10含量,对脊髓损伤修复具有积极意义。

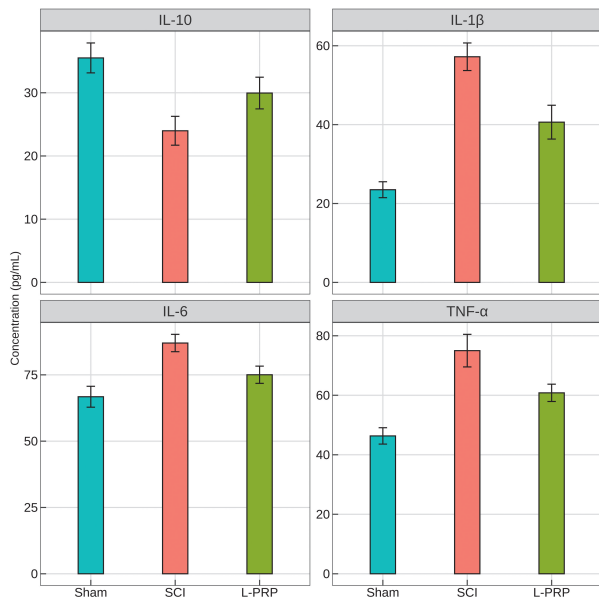


图4 Sham、SCI和L-PRP组术后第28天炎症细胞因子(IL-1 β 、TNF- α 、IL-6及IL-10)表达量比较

Fig. 4 Comparison of the expression of inflammatory cytokines (IL-1 β , TNF- α , IL-6 and IL-10) in the sham, SCI and L-PRP groups on day 28 after surgery

表3 术后第28天各组炎症细胞因子表达量(Mean $\pm$ SD, n=15)及单因素方差分析

Table 3 Expression of inflammatory cytokines in each group on day 28 after surgery (Mean $\pm$ SD, n=15) and one-way ANOVA

组别	IL-1 β (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)
Sham	23.45 $\pm$ 2.10	45.70 $\pm$ 3.55	65.12 $\pm$ 4.31	35.52 $\pm$ 2.95
SCI	57.80 $\pm$ 3.44	72.55 $\pm$ 4.15	90.05 $\pm$ 5.20	23.31 $\pm$ 2.21
L-PRP	40.15 $\pm$ 3.10	60.02 $\pm$ 3.65	75.42 $\pm$ 4.85	28.55 $\pm$ 2.75
<i>F</i> (2,42)	256.435	158.274	103.752	47.526
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

5 Pearson 关联分析

进一步探讨L-PRP在功能学、组织学及分子学间的关联性,本研究采用Pearson相关分析对上述指标进行配对检验,结果显示BBB评分与脊髓腹角神经元计数呈正相关($r=0.749, P=0.002$),与IL-1 β ($r=-0.730, P=0.001$)、TNF- α ($r=-0.771, P<0.000$)及IL-6($r=-0.803, P=0.000$)呈显著负相关,同时与IL-10($r=0.634, P=0.012$)呈正相关。Von Frey机械刺激阈值与上述指标的相关性趋势与BBB评分基本一致,其中与神经元计数($r=0.701, P=0.004$)及IL-10($r=0.628, P=0.015$)呈正相关,与IL-1 β 、TNF- α 及IL-6总体呈显著负相关(均 $P<0.05$)。见图5。上述结果提示运动功能及痛觉敏感度的改善与神经元存活率升高、促炎性细胞因子降低和抗炎性细

胞因子升高之间存在高度关联。在L-PRP组大鼠中,随着脊髓腹角存活神经元数目的增多及IL-1 β 、TNF- α 、IL-6等因子的减少,BBB评分与Von Frey阈值均表现出一定程度的提升,IL-10水平也在SCI组基础上有所回升,提示L-PRP不仅能够帮助维持神经元存活与修复,还可通过调控局部免疫微环境减轻炎症损伤。

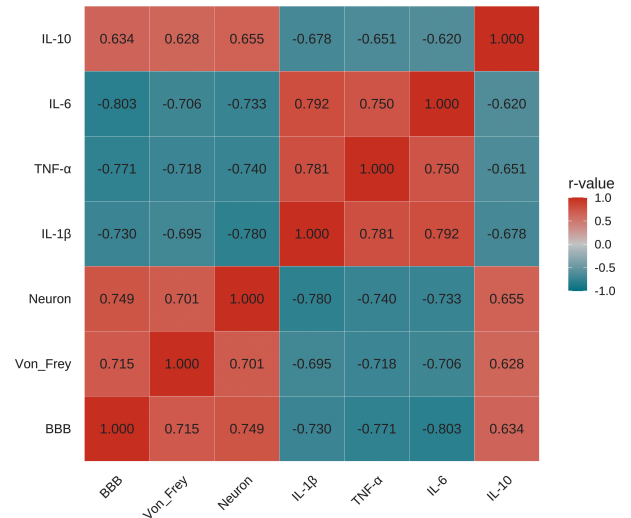


图5 各指标间Pearson相关分析热图

Fig. 5 Pearson correlation analysis heat map between indicators

讨论

本研究通过在大鼠脊髓完全横断模型中应用L-PRP,发现其在运动功能和痛觉敏感度方面均表现出一定程度的保护与改善。BBB评分和Von Frey机械阈值的结果显示,与未进行该干预的损伤组相比,L-PRP组大鼠自中后期起获得了更明显的功能提升,提示局部微环境的修复或优化在一定时程上显现出积极作用。组织学分析也为这一推断提供了形态学依据,不仅在HE染色中观察到炎症病灶与空洞面积的减少,而且在Nissl染色下的神经元计数上也显示了一定程度的增多。此结果表明,从结构到功能层面,L-PRP干预均可能对脊髓损伤引起的二次损害过程形成多维度的正向调控。

已有文献指出富含白细胞成分的PRP在组织修复中有更强的细胞因子调节潜能^[11-13],与传统PRP相比,其中整合的白细胞在局部可释放多种免疫调控因子,包括多种趋化因子和生长因子,还可能与巨噬细胞等免疫细胞相互作用,从而进一步影响促炎与抗炎通路的平衡^[14]。本研究中IL-1 β 、TNF- α 和IL-6等促炎因子的下调以及IL-10等抗炎因子的相对上调反映了这种免疫微环境的转变。多项功能学、组织学及分子学指标之间的Pearson相关性分析可见,更好的运动功能表现和更高的神经元存活度往往伴随促炎因子水

平的下降和抗炎因子的提升,此结果与前期报道的早期炎性释放加剧继发性损害、后期适度抗炎与免疫修复过程互相促进的观点相一致^[15-17]。

从潜在机制来看,脊髓损伤的继发性病程通常涉及包括中性粒细胞、巨噬细胞及胶质细胞在内的多种免疫细胞浸润与激活^[18-20],血小板与白细胞共同携带的生长因子、免疫调控物质在这一过程中或许扮演了关键角色^[21-22]。生长因子可能促进血管生成、胶原沉积与组织修复,白细胞亚群在适当条件下也能参与巨噬细胞向 M2 表型转换,并调控 TGF- β 、IL-10 等重要因子^[23-24]。这些分子事件最终形成对神经元保护与修复的复杂网络,包括促进残存轴突的存活和新生,以及提供更适宜的细胞外环境。随着炎症水平的逐步下降和神经元存活率的上升,临床表现层面的运动功能及感觉功能就可能得到一定程度的恢复。

研究结果为 L-PRP 在脊髓损伤修复中的应用提供了新的思路,也凸显了免疫与再生学交叉领域的研究价值。现有证据显示,脑和脊髓等中枢神经系统部位的损伤修复与外周组织存在着不同的微环境和免疫反应机制^[25-27],后续还需要在更大样本量及更多维度的研究中进一步探究 L-PRP 对神经突触再生、轴突导向以及胶质瘢痕形成过程的影响,并明确作用时机和剂量,以实现更具靶向性的应用策略。综合而言,减少继发性炎症损害并适度增强或维持修复过程对于 SCI 具有决定性意义。结合既往文献与本研究结果,在免疫失衡严重的脊髓损伤早中期阶段,L-PRP 所提供的多重生物活性物质或能扭转微环境的有害环节,为后续神经再生与功能重塑创造条件。

【参考文献】

- [1] 苏骏宏,胡梦萱,徐青亲,等. 磁刺激在脊髓损伤康复中的应用及其作用机制的研究进展[J]. 中华物理医学与康复杂志,2025,47(1):78-83.
- [2] Hu X, Xu W, Ren Y, et al. Spinal cord injury: molecular mechanisms and therapeutic interventions [J]. Signal Transduct Target Ther,2023,8(1):245.
- [3] Li C, Wu Z, Zhou L, et al. Temporal and spatial cellular and molecular pathological alterations with single-cell resolution in the adult spinal cord after injury [J]. Signal Transduct Target Ther, 2022,7(1):65.
- [4] Adegeest CY, Ter Wengel PV, Peul WC. Traumatic spinal cord injury:acute phase treatment in critical care [J]. Curr Opin Crit Care,2023,29(6):659-665.
- [5] Kawabata S,Akeda K,Yamada J,et al. Advances in platelet-rich plasma treatment for spinal diseases:A systematic review [J]. Int J Mol Sci,2023,24(8):7677.
- [6] Anitua E, Allende M, Alkhraisat MH. Unravelling alveolar bone regeneration ability of platelet-rich plasma: A systematic review with meta-analysis [J]. Bioengineering (Basel), 2022, 9 (10): 506.
- [7] 李士胜,丁宇,蒋强,等. 腰椎间盘突出源性神经痛免疫复合物表达及富血小板血浆的治疗机制[J]. 中国组织工程研究,2023,27(18):2935-2942.
- [8] Mochizuki T, Ushiki T, Suzuki K, et al. Elevated IL-1 β and comparable IL-1 receptor antagonist levels are characteristic features of L-PRP in female college athletes compared to male professional soccer players [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24 (24): 17487.
- [9] Liu J, Qi L, Bao S, et al. The acute spinal cord injury microenvironment and its impact on the homing of mesenchymal stem cells [J]. Exp Neurol,2024,373(1):114682.
- [10] 郑礼鹏,何沛峰,周庆忠,等. 脊柱外科手术后切口感染患者血清中 miR-182 和 miR-199b 表达及意义[J]. 中国病原生物学杂志, 2023,18(11):1346-1349,1354.
- [11] Everts PA, Podesta L, Lana JF, et al. The Regenerative Marriage Between High-Density Platelet-Rich Plasma and Adipose Tissue [J]. Int J Mol Sci,2025,26(5):2154.
- [12] Gao H,Zhao Z,Li J,et al. Platelet-rich plasma promotes skeletal muscle regeneration and neuromuscular functional reconstitution in a concentration-dependent manner in a rat laceration model [J]. Biochem Biophys Res Commun,2023,672(1):185-192.
- [13] Everts PA, Lana JF, Alexander RW, et al. Profound properties of protein-rich, platelet-rich plasma matrices as novel, multi-purpose biological platforms in tissue repair, regeneration, and wound healing [J]. Int J Mol Sci,2024,25(14):7914.
- [14] Liu X, Li Y, Shen L, et al. Leukocyte and platelet-rich plasma (L-PRP) in tendon models: A systematic review and meta-analysis of *in vivo/in vitro* studies [J]. Evid Based Complement Alternat Med,2022,2022(1):5289145.
- [15] 寇红伟,闫立言,韩萧男,等. 富血小板血浆通过 Nrf2 信号通路对脊髓损伤小鼠的抗炎抗氧化作用及其机制[J]. 中华实验外科杂志,2022,39(11):2081-2083.
- [16] He X, Li Y, Deng B, et al. The PI3K/AKT signalling pathway in inflammation, cell death and glial scar formation after traumatic spinal cord injury: Mechanisms and therapeutic opportunities [J]. Cell Prolif,2022,55(9):e13275.
- [17] Gao X, Han Z, Huang C, et al. An anti-inflammatory and neuroprotective biomimetic nanoplatform for repairing spinal cord injury [J]. Bioact Mater,2022,18(1):569-582.
- [18] 卫麟娜,高雪涵,董品志,等. MTB Hsp60 重组蛋白对巨噬细胞趋化功能的影响[J]. 中国病原生物学杂志,2024,19(2):157-161,171.
- [19] Khaing ZZ, Chen JY, Safarians G, et al. Clinical Trials Targeting Secondary Damage after Traumatic Spinal Cord Injury [J]. Int J Mol Sci,2023,24(4):3824.
- [20] Tamburella F, Lorusso M, Tramontano M, et al. Overground robotic training effects on walking and secondary health conditions in individuals with spinal cord injury: systematic review [J]. J Neuroeng Rehabil,2022,19(1):27.
- [21] Pang QM, Chen SY, Fu SP, et al. Regulatory role of mesenchymal stem cells on secondary inflammation in spinal cord injury [J]. J Inflamm Res,2022,15(1):573-593.

(下转 993 页)

- [3] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.
- [4] El Skhawry N, Eissa MM. Shedding light on a mysterious link between *Toxoplasma gondii* and cancer: A review [J]. Exp Parasitol, 2023, 250: 108544.
- [5] Chen J, Liao W, Peng H. *Toxoplasma gondii* infection possibly reverses host immunosuppression to restrain tumor growth[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 959300.
- [6] Bougdour A, Durandau E, Brenier-Pinchart MP, et al. Host cell subversion by *Toxoplasma* GRA16, an exported dense granule protein that targets the host cell nucleus and alters gene expression[J]. Cell Host Microbe, 2013, 13(4): 489-500.
- [7] Seo SH, Kim SG, Shin JH, et al. *Toxoplasma* GRA16 inhibits NF- κ B activation through PP2A-B55 upregulation in non-small-cell lung carcinoma cells[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(18): 6642.
- [8] Zaccara S, Ries RJ, Jaffrey SR. Reading, writing and erasing mRNA methylation[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(10): 608-624.
- [9] Liu J, Yue Y, Han D, et al. A METTL3-METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N6-adenosine methylation[J]. Nat Chem Biol, 2014, 10(2): 93-95.
- [10] Xiao W, Adhikari S, Dahal U, et al. Nuclear m(6) A Reader YTHDC1 Regulates mRNA Splicing[J]. Mol Cell, 2016, 61(4): 507-519.
- [11] Jiang X, Liu B, Nie Z, et al. The role of m6A modification in the biological functions and diseases[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 74.
- [12] Chen XY, Zhang J, Zhu JS. The role of m6A RNA methylation in human cancer[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 103.
- [13] Li Y, He X, Lu X, et al. METTL3 acetylation impedes cancer metastasis via fine-tuning its nuclear and cytosolic functions[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 6350.
- [14] Mao Y, Li W, Weng Y, et al. METTL3-mediated m6A modification of lncRNA MALAT1 facilitates prostate cancer growth by activation of PI3K/AKT signaling [J]. Cell Transplant, 2022, 31: 9636897221122997.
- [15] Chen M, Wei L, Law CT, et al. RNA N6-methyladenosine methyltransferase-like 3 promotes liver cancer progression through YTHDF2-dependent posttranscriptional silencing of SOCS2[J]. Hepatology, 2018, 67(6): 2254-2270.
- [16] Wang L, Yang Q, Zhou Q, et al. METTL3-m6A-EGFR-axis drives lenvatinib resistance in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Lett, 2023, 559: 216122.
- [17] Li B, Xiong X, Xu J, et al. METTL3-mediated m6A modification of lncRNA TSPAN12 promotes metastasis of hepatocellular carcinoma through SENP1-dependent deSUMOylation of EIF31 [J]. Oncogene, 2024, 43(14): 1050-1062.
- [18] Nie X, Zhou Z, Chen Y, et al. VEPH1 suppresses the progression of gastric cancer by regulating the Hippo-YAP signalling pathway[J]. Dig Liver Dis, 2024, 56(1): 187-197.
- [19] Dong P, Wang X, Liu L, et al. Dampened VEPH1 activates mTORC1 signaling by weakening the TSC1/TSC2 association in hepatocellular carcinoma [J]. J Hepatol, 2020, 73(6): 1446-1459.
- [20] 焦玉萌, 陶志勇, 崔裕健, 等. 弓形虫排泄分泌抗原对 Lewis 肺癌小鼠瘤体生长的抑制作用[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2019, 31(4): 400-403, 438.
- [21] 罗强, 孙黎, 田青青, 等. 刚地弓形虫速殖子培养上清液对人胃癌细胞 BGC-823 增殖和凋亡的影响[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2014, 32(2): 123-127.
- [22] Baird JR, Fox BA, Sanders KL, et al. Avirulent *Toxoplasma gondii* generates therapeutic antitumor immunity by reversing immunosuppression in the ovarian cancer microenvironment[J]. Cancer Res, 2013, 73(13): 3842-3851.
- [23] 殷荷, 马磊, 党甜甜, 等. 弓形虫 ROP16 I / III 蛋白激活 STAT3 磷酸化调节 THP-1 细胞周期、增殖及凋亡[J]. 中国人兽共患病学报, 2024, 40(12): 1115-1121, 1127.
- [24] Xu Y, Lv D, Yan C, et al. METTL3 promotes lung adenocarcinoma tumor growth and inhibits ferroptosis by stabilizing SLC7A11 m6A modification [J]. Cancer Cell Int, 2022, 22(1): 11.
- [25] Yang DD, Chen ZH, Yu K, et al. METTL3 promotes the progression of gastric cancer via targeting the MYC pathway [J]. Front Oncol, 2020, 10: 115.
- [26] Wang Q, Chen C, Ding Q, et al. METTL3-mediated m6A modification of HDGF mRNA promotes gastric cancer progression and has prognostic significance [J]. Gut, 2020, 69(7): 1193-1205.
- [27] Yu X, Li Y, Kong F, Xu Q. METTL3 regulates FAM83D m6A modification to accelerate tumorigenesis of triple-negative breast cancer via the Wnt/ β -catenin pathway [J]. Toxicol In Vitro, 2024, 95: 105746.
- [28] Yin J, Ding F, Cheng Z, et al. METTL3-mediated m6A modification of LINC00839 maintains glioma stem cells and radiation resistance by activating Wnt/ β -catenin signaling[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(7): 417.

【收稿日期】 2025-03-13 【修回日期】 2025-06-03

(上接 987 页)

- [22] Bretheau F, Castellanos-Molina A, Belanger D, et al. The alarmin interleukin-1 α triggers secondary degeneration through reactive astrocytes and endothelium after spinal cord injury [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 5786.
- [23] Jung SH, Hwang BH, Shin S, et al. Spatiotemporal dynamics of macrophage heterogeneity and a potential function of Trem2(hi) macrophages in infarcted hearts [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 4580.
- [24] Qin S, Zhu J, Zhang G, et al. Research progress of functional motifs based on growth factors in cartilage tissue engineering: A review [J]. Front Bioeng Biotechnol, 2023, 11(1): 1127949.
- [25] 袁天阳. 应用增强 PRP 的生物 3D 打印水凝胶支架对脊髓损伤修复的实验研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2023.
- [26] Duan M, Xu Y, Li Y, et al. Targeting brain-peripheral immune responses for secondary brain injury after ischemic and hemorrhagic stroke [J]. J Neuroinflammation, 2024, 21(1): 102.
- [27] Feng Y, Peng Y, Jie J, et al. The immune microenvironment and tissue engineering strategies for spinal cord regeneration [J]. Front Cell Neurosci, 2022, 16(1): 969002.

【收稿日期】 2025-02-25 【修回日期】 2025-05-18