

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2025.20.009

文章编号: 1005-8982 (2025) 20-0053-07

实验研究·论著

PRP-Exos通过TLR4/NF- κ B通路对神经病理性疼痛的作用及其机制研究*

田立东¹, 赵丽丽², 刘文娜¹, 龚静¹, 张广华¹

[1. 天津医科大学朱宪彝纪念医院 麻醉科(国家卫生健康委激素与发育重点实验室), 天津 300134; 2. 天津市第四中心医院 护理部, 天津 300140]

摘要: **目的** 探讨富血小板血浆来源外泌体 (PRP-Exos) 通过 TLR4/NF- κ B 信号通路对坐骨神经损伤 (SNI) 大鼠神经病理性疼痛的作用及其分子机制。 **方法** 将 30 只雄性 SD 大鼠随机分为空白组、模型组和 PRP-Exos 组, 每组 10 只。模型组和 PRP-Exos 组采用 SNI 法复制神经病理性疼痛模型。PRP-Exos 组模型复制后第 7 天起鞘内注射 200 mg/L PRP-Exos (0.5 mL/次, 隔日 1 次, 共 10 次), 模型组注射等体积生理盐水。检测干预前后大鼠机械痛阈值 (MTWT)、热痛阈值 (TWL) 及坐骨神经运动神经传导速度 (MNCV); 干预结束后, 坐骨神经甲苯胺蓝染色观察病理形态, 透射电镜观察并测量有髓神经纤维的轴突直径和髓鞘厚度, 酶联免疫吸附试验测定脊髓组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和白细胞介素-6 (IL-6) 水平, Western blotting 检测脊髓 Toll 样受体 4 (TLR4)、核因子- κ B (NF- κ B)、p65 蛋白表达。 **结果** 空白组、模型组和 PRP-Exos 组术前、模型复制后第 6 天、给药 10 次时 MTWT、TWL、MNCV 水平比较, 结果: ①不同时间点 MTWT 和 TWL 水平比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。②3 组 MTWT、TWL、MNCV 水平比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与空白组相比, 模型组和 PRP-Exos 组模型复制后第 6 天、给药 10 次时 MTWT、TWL、MNCV 水平均降低; 与模型组相比, PRP-Exos 组给药 10 次时 MTWT、TWL、MNCV 水平均升高。③3 组 MTWT、TWL、MNCV 水平变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与空白组相比, 模型组和 PRP-Exos 组轴突直径和髓鞘厚度均减小 ($P < 0.05$); 与模型组相比, PRP-Exos 组轴突直径和髓鞘厚度均增大 ($P < 0.05$)。与空白组相比, 模型组和 PRP-Exos 组 TNF- α 、IL-6 水平和 TLR4、NF- κ B p65 蛋白相对表达量均升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, PRP-Exos 组 TNF- α 、IL-6 水平和 TLR4、NF- κ B p65 蛋白相对表达量均降低 ($P < 0.05$)。 **结论** PRP-Exos 可通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路, 减少脊髓炎症因子释放, 改善 SNI 大鼠神经病理形态, 从而缓解神经病理性疼痛。

关键词: 神经病理性疼痛; 坐骨神经分支选择性损伤; 富血小板血浆外泌体; 鞘内注射; TLR4/NF- κ B 信号通路

中图分类号: R741.02

文献标识码: A

Effects and mechanisms of PRP-Exos on neuropathic pain via the TLR4/NF- κ B pathway*

Tian Li-dong¹, Zhao Li-li², Liu Wen-na¹, Gong Jing¹, Zhang Guang-hua¹

[1. Department of Anesthesiology, Tianjin Medical University Chu Hsien-I Memorial Hospital (NHC Key Lab of Hormones and Development), Tianjin 300134, China; 2. Department of Nursing, Tianjin Fourth Central Hospital, Tianjin 300140, China]

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effects and molecular mechanisms of platelet-rich

收稿日期: 2025-06-26

* 基金项目: 天津市科技计划项目 (No: 22JCYBJC01430); 天津市卫生健康科技项目 (No: TJWJ2021MS021); 天津医科大学护理学科提升计划 (No: 2024XKHL12)

[通信作者] 赵丽丽, E-mail: 182500552@qq.com; Tel: 13302176016

plasma-derived exosomes (PRP-Exos) on neuropathic pain in spared nerve injury (SNI) rats through the Toll-like receptor 4 (TLR4)/ nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway. **Methods** Thirty male SD rats were randomly divided into the sham, SNI model, and PRP-Exos groups (each $n = 10$). Neuropathic pain models were established in the latter two groups using SNI. From day 7 post-modeling, the PRP-Exos group received intrathecal injections of 200 mg/L PRP-Exos (0.5 mL/dose, every other day for 10 doses), while the model group received saline. Before and after the intervention, the mechanical withdrawal threshold (MWT), thermal withdrawal latency (TWL), and motor nerve conduction velocity (MNCV) were assessed. After the intervention, the pathological morphology of the sciatic nerve was assessed using toluidine blue staining. Transmission electron microscopy was performed to observe and measure the axonal diameter and myelin thickness of myelinated nerve fibers. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to quantify tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) levels in spinal cord tissues. Western blotting was conducted to determine the expression of TLR4, NF- κ B, and p65 proteins in the spinal cord. **Results** The comparison of MWT, TWL, and MNCV at baseline, on day 6 after model establishment, and after 10 doses of treatment in the sham, SNI model, and PRP-Exos groups demonstrated that significant differences in MWT and TWL were observed across the different time points ($P < 0.05$) and that significant differences in MWT, TWL, and MNCV were observed among the three groups ($P < 0.05$). Compared with the sham group, both the SNI model and PRP-Exos groups showed decreased MWT, TWL, and MNCV on day 6 after modeling and after 10 doses of treatment. Compared with the SNI model group, the PRP-Exos group showed increased MWT, TWL, and MNCV after 10 doses of treatment. The change trends in MWT, TWL, and MNCV among the three groups were significantly different ($P < 0.05$). Compared with the sham group, both the SNI model and PRP-Exos groups exhibited reduced axonal diameter and myelin thickness ($P < 0.05$), while the PRP-Exos group showed increased axonal diameter and myelin thickness compared with the SNI model group ($P < 0.05$). Similarly, TNF- α and IL-6 levels, as well as spinal cord TLR4 and NF- κ B p65 protein expression, were elevated in the SNI model and PRP-Exos groups compared with the blank group ($P < 0.05$), whereas these markers were reduced in the PRP-Exos group relative to the SNI model group ($P < 0.05$). **Conclusion** PRP-Exos can mitigate neuropathic pain in SNI rats by suppressing the TLR4/NF- κ B pathway, thereby reducing the release of inflammatory factors in the spinal cord and improving neuropathological morphology.

Keywords: neuropathic pain; spared nerve injury; platelet-rich plasma-derived exosomes; intrathecal injection; TLR4/NF- κ B signaling pathway

神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP) 是由躯体感觉神经系统损伤或疾病引起的一种慢性疼痛综合征, 临床表现为自发性疼痛、痛觉过敏和触诱发痛, 严重影响患者的生活质量及心理健康^[1-2]。NP 的发病机制复杂, 涉及外周及中枢敏化、神经炎症反应、离子通道异常等多个环节, 其中脊髓水平的炎症信号通路激活被认为是疼痛持续和加重的重要原因之一^[3]。研究表明, Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 及其下游核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路的过度激活可促进肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 等促炎细胞因子的释放, 加剧神经炎症反应, 进而促进 NP 的发生、发展^[4-5]。

目前, 临床治疗 NP 的非甾体抗炎药、阿片类药物等疗效有限, 且长期使用易产生耐受性和不良反应, 因此探索新型治疗靶点及干预策略具有

重要意义^[6-7]。近年来, 外泌体 (Exosomes, Exos) 因其独特的生物学功能成为再生医学研究的热点。富血小板血浆来源 Exos (platelet-rich plasma-derived-Exos, PRP-Exos) 富含生长因子、microRNA 及抗炎蛋白, 具有促进组织修复、调节免疫反应及抑制炎症的作用。有研究证实, PRP-Exos 可通过调控巨噬细胞极化减轻炎症反应, 但其在 NP 中的作用及机制尚未明确^[8-9]。鞘内注射是一种直接作用于脊髓的给药方式, 可提高药物靶向性并减少全身副作用, 为 PRP-Exos 的临床应用提供了潜在途径^[10]。然而, PRP-Exos 是否通过 TLR4/NF- κ B 信号通路调控神经炎症反应, 进而改善 NP, 目前缺乏系统研究。基于此, 本研究以坐骨神经损伤 (sciatic nerve injury, SNI) 诱导的 NP 大鼠为模型, 探讨鞘内注射 PRP-Exos 对疼痛行为学、脊髓炎症因子及 TLR4/NF- κ B 通路的影响, 旨在阐明 PRP-Exos 治疗 NP 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

30只雄性SD大鼠,体重250~300 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0010,实验动物使用许可证号:SYXK(津)2020-0001。PRP-Exos由天津医科大学朱宪彝纪念医院实验室制备并鉴定。苏木精-伊红染色液购自广州维格斯公司,TNF- α 、IL-6酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒、SDS-PAGE配胶试剂盒均购自上海碧云天生物公司,辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标山羊抗兔IgG购自武汉Boster公司,HRP标山羊抗小鼠IgG购自北京中杉金桥公司,4%多聚甲醛、2.5%戊二醛、RIPA裂解液(含PMSF)、BCA试剂盒、10×电转液、购自北京Solarbio公司,TLR4(96 kD)、NF- κ B p65(65 kD)、GAPDH(37 kD)抗体均购自武汉三鹰生物公司。

1.2 主要仪器

Von Frey 纤维丝测痛仪(美国 Von Frey Hairs 公司),BME-410C型全自动热痛刺激仪(天津伯尔尼科技公司),光学显微镜(日本 Nikon 公司),透射电镜(日本 Hitachi 公司),蛋白质凝胶电泳系统(美国 Bio-Rad 公司),凝胶成像分析仪(北京六一仪器厂)。

1.3 方法

1.3.1 SNI模型大鼠复制 参照参考文献[11]的方法复制SNI模型大鼠,吸入七氟醚麻醉后进行常规消毒,备皮消毒左后肢手术区,暴露坐骨神经主干,使用4号丝线结扎坐骨神经,结扎处紧密包绕神经,注意不损伤神经血管。术毕,逐层关闭皮肤和肌肉层,将大鼠置于温暖的笼子中常规饲养,术后2周后,如出现行走无力、后肢外翻、明显肌肉萎缩、自发性抬足、趾间距缩小及跛行等表现,即认为模型复制成功。本研究获得天津医科大学朱宪彝纪念医院动物伦理委员会批准(No: DXBYY-IACUC-2021047)。样本量通过功效分析确定。基于预实验获得的机械缩足反射阈(mechanical withdrawal threshold, MWT)效应量(Cohen's $d=1.20$),转换为Cohen's $f=0.49$,设定 $\alpha=0.05$ 、 $\beta=0.20$,G*Power计算显示每组需 ≥ 8 只动物。考虑手术损耗及多时间点检测需求,最终每组纳

入10只SD大鼠。该样本量同时满足本研究所有检测指标的统计功效要求(Post-hoc power >0.8)。

1.3.2 分组给药 30只SD大鼠随机分为3组,每组10只。空白组:仅暴露坐骨神经,不结扎,不接受任何干预;模型组:SNI模型复制后第7天开始鞘内注射0.9%生理盐水(0.5 mL/次),隔日1次,共10次;PRP-Exos组:SNI模型复制后,鞘内注射200 mg/L PRP-Exos 0.5 mL,给药方案同模型组。

1.3.3 疼痛行为学评估 使用Von Frey机械刺激仪检测大鼠MWT,通过Von Frey丝对大鼠左后肢足底中部进行逐渐加压(1 g/s),记录引发缩足或舔足的最小压力为MWT;使用BME-410C型全自动热痛刺激仪检测热辐射缩足潜伏期(thermal withdrawal latency, TWL),调节热辐射光源的强度为55℃,照射大鼠左后肢足底,记录从开始照射至大鼠抬足或舔足的时间即TWL,设置最大刺激时间为20 s。分别在术前、模型复制后第6天、给药10次时评估MWT和TWL,每只大鼠测试3次,间隔时间为5 min,取平均值作为结果。

1.3.4 神经电生理学测量 采用电生理记录系统测定大鼠坐骨神经运动神经传导速度(motor nerve conduction velocity, MNCV)。大鼠麻醉固定后,于同侧后肢第5趾及踝关节处分别放置一对刺激电极(两极间距1 cm),并于坐骨切迹附近坐骨神经干上放置记录电极。以强度10 V、波宽1 ms的方波脉冲分别刺激趾部与踝部两点,记录由刺激诱发的复合肌肉动作电位。MNCV(m/s)通过两点间的传导距离(1 cm)与复合肌肉动作电位潜伏期差值(ms)的比值计算得出。测定过程中,信号滤波器带宽设置为20~5 kHz,刺激频率1次/60 s。所有测量在室温下进行。

1.3.5 坐骨神经染色 采用甲苯胺蓝染色,取SNI大鼠损伤远端坐骨神经10 mm,4%多聚甲醛固定24 h,梯度脱水、透明、石蜡包埋,制备5 μ m切片。切片脱蜡水化后,苏木精染色5 min,盐酸乙醇分化,伊红染色3 min,流水冲洗。梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。光学显微镜(400倍)观察神经纤维排列、髓鞘完整性及炎症细胞浸润。

1.3.6 神经纤维的超微结构观察 取SNI大鼠损伤远端坐骨神经10 mm,2.5%戊二醛4℃固定2 h,PBS漂洗3次,10 min/次,1%锇酸后固定1 h。组

织经梯度乙醇(50%~100%)脱水,环氧树脂812浸透包埋,60℃聚合48 h,半薄切片(1 μm)甲苯胺蓝染色定位,超薄切片机切50 nm切片,柠檬酸铅染色15 min。所有处理完毕后,使用透射电子显微镜观察神经纤维的超微结构(髓鞘板层结构、轴突完整性及雪旺细胞形态)。通过Image J软件测量有髓神经纤维的轴突直径和髓鞘厚度,评估神经损伤和修复情况。

1.3.7 ELISA检测TNF-α、IL-6表达水平 取大鼠L₄~L₆段脊髓组织,预冷PBS冲洗后称重,按1:9(w/v)加入RIPA裂解液,冰上匀浆,4℃、14 000 r/min离心15 min,取上清液。按ELISA试剂盒说明书操作:标准品梯度稀释,样本按1:5稀释,以100 μL/孔加入预包被板,37℃孵育90 min;洗板5次,加生物素化抗体(1:100)100 μL,37℃孵育60 min;洗板后加HRP-链霉亲和素(1:100)100 μL,37℃避光30 min;TMB显色15 min,2 mol/L H₂SO₄终止,450 nm波长处测OD值,标准曲线计算浓度。

1.3.8 Western blotting检测NF-κB及TLR-4蛋白表达 取脊髓组织100 mg,加入1 mL RIPA裂解液(含PMSF),冰上裂解30 min,4℃、14 000 r/min离心15 min,BCA法测蛋白浓度。上样量40 μg,10% SDS-PAGE电泳(80 V、30 min,120 V、60 min);300 mA恒流转膜90 min至PVDF膜;5%脱脂奶粉

封闭2 h,一抗(TLR4 1:1 000、NF-κB p65 1:800)4℃孵育过夜;TBST洗3次,10 min/次,HRP标记二抗(1:5 000)室温孵育1 h;ECL显影,采用Image J软件分析相对灰度值(内参GAPDH 1:2 000)。

1.4 统计学方法

数据分析采用SPSS 26.0统计软件。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用重复测量设计的方差分析或单因素方差分析,两两比较用LSD-*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PRP-Exos对大鼠疼痛行为学的影响

空白组、模型组、PRP-Exos组大鼠术前、模型复制后第6天、给药10次时MWT和TWL水平比较,采用重复测量设计的方差分析,结果:①不同时间点MWT和TWL水平比较,差异均有统计学意义($F=178.199$ 、 86.077 ,均 $P=0.000$)。②3组MWT和TWL水平比较,差异均有统计学意义($F=135.164$ 、 157.721 ,均 $P=0.000$);与空白组相比,模型组和PRP-Exos组模型复制后第6天、给药10次时MWT和TWL水平均降低;与模型组相比,PRP-Exos组给药10次时MWT和TWL水平均升高。③3组MWT和TWL水平变化趋势比较,差异有统计学意义($F=56.219$ 、 21.840 ,均 $P=0.000$)。见表1。

表1 3组大鼠不同时间点MWT和TWL水平比较 ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	MWT/g			TWL/s		
	术前	模型复制后6 d	给药10次	术前	模型复制后6 d	给药10次
空白组	9.97 ± 1.15	9.94 ± 1.19	9.96 ± 1.15	17.12 ± 2.01	17.15 ± 2.14	17.13 ± 2.17
模型组	9.81 ± 1.08	3.25 ± 0.47 ^{①②}	3.41 ± 0.49 ^{①②}	16.68 ± 2.13	6.52 ± 1.08 ^{①②}	6.78 ± 1.19 ^{①②}
PRP-Exos组	9.77 ± 1.22	3.18 ± 0.52 ^{①②}	7.73 ± 0.92 ^{①②③}	16.97 ± 2.19	6.47 ± 1.03 ^{①②}	11.24 ± 1.51 ^{①②③}

注:①与术前比较, $P < 0.05$;②与空白组比较, $P < 0.05$;③与模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 PRP-Exos对大鼠神经生理学的影响

空白组、模型组、PRP-Exos组大鼠术前、模型复制后第6天、给药10次时MNCV水平比较,采用重复测量设计的方差分析,结果:①不同时间点MNCV水平比较,差异均有统计学意义($F=209.338$, $P=0.000$)。②3组MNCV水平比较,差异均有统计学意义($F=423.107$, $P=0.000$);与空白组相比,模型组和PRP-Exos组模型复制后第6天、给药10次时MNCV水平均降低;与模型组相比,PRP-Exos组给药10次时MNCV水平升高。③3组

MNCV水平变化趋势比较,差异有统计学意义($F=72.237$, $P=0.000$)。见表2。

表2 3组大鼠不同时间点MNCV水平比较

($n=10$, m/s, $\bar{x} \pm s$)

组别	术前	模型复制后6 d	给药10次
空白组	56.29 ± 2.84	56.51 ± 3.11	56.76 ± 3.05
模型组	55.85 ± 3.03	30.07 ± 2.45 ^{①②}	32.41 ± 2.79 ^{①②}
PRP-Exos组	55.94 ± 2.78	29.88 ± 2.04 ^{①②}	47.94 ± 2.93 ^{①②③}

注:①与术前比较, $P < 0.05$;②与空白组比较, $P < 0.05$;③与模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 PRP-Exos 对大鼠坐骨神经形态的影响

甲苯胺蓝染色结果显示, 空白组大鼠坐骨神经纤维排列紧密, 轴突形态规则, 髓鞘结构完整, 无空泡变性, 神经外膜连续, 未见炎症细胞浸润; 模型组大鼠神经纤维结构紊乱, 可见 Wallerian 变

性, 轴突萎缩断裂, 髓鞘崩解形成空泡, 雪旺细胞增生, 外膜部分断裂, 局部炎症细胞浸润; PRP-Exos 组大鼠神经纤维排列较模型组规整, 空泡数量减少, 轴突再生迹象明显, 髓鞘结构部分修复, 雪旺细胞有序增殖, 炎症浸润减轻。见图 1。

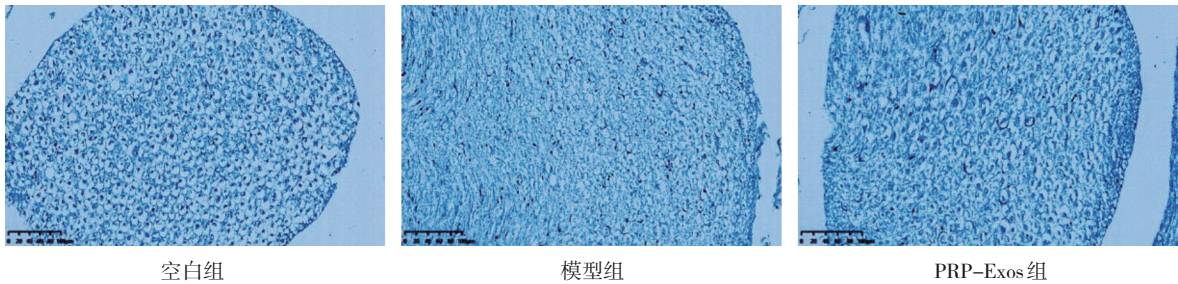


图 1 各组大鼠坐骨神经形态观察 (甲苯胺蓝染色 $\times 200$)

2.4 PRP-Exos 对大鼠髓神经纤维超微结构的影响

空白组、模型组、PRP-Exos 组髓神经纤维的轴突直径和髓鞘厚度比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与空白组相比, 模型组和 PRP-Exos 组轴突直径和髓鞘厚度均减小 ($P < 0.05$); 与模型组相比, PRP-Exos 组轴突直径和髓鞘厚度均增大 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 3 组大鼠髓神经纤维的轴突直径和髓鞘厚度比较
($n=10$, μm , $\bar{x} \pm s$)

组别	轴突直径	髓鞘厚度
空白组	5.72 ± 0.71	1.68 ± 0.09
模型组	3.55 ± 0.72^{①}	1.02 ± 0.11^{①}
PRP-Exos 组	4.67 ± 0.98^{①②}	1.39 ± 0.16^{①②}
F 值	17.817	71.681
P 值	0.000	0.000

注: ①与空白组比较, $P < 0.05$; ②与模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.5 PRP-Exos 对大鼠脊髓内 TNF- α 和 IL-6 表达的影响

空白组、模型组、PRP-Exos 组大鼠脊髓内 TNF- α 和 IL-6 水平比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与空白组相比, 模型组和 PRP-Exos 组 TNF- α 和 IL-6 水平均升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, PRP-Exos 组 TNF- α 和 IL-6 水平均降低 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.6 PRP-Exos 对大鼠脊髓组织 TLR4/NF- κ B 通路相关蛋白表达的影响

空白组、模型组、PRP-Exos 组大鼠脊髓组织

表 4 3 组大鼠脊髓内 TNF- α 和 IL-6 水平比较
($n=10$, pg/mg , $\bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α	IL-6
空白组	12.35 ± 1.42	15.72 ± 1.85
模型组	30.67 ± 3.25^{①}	41.83 ± 4.07^{①}
PRP-Exos 组	21.54 ± 2.16^{①②}	26.39 ± 2.94^{①②}
F 值	145.970	180.569
P 值	0.000	0.000

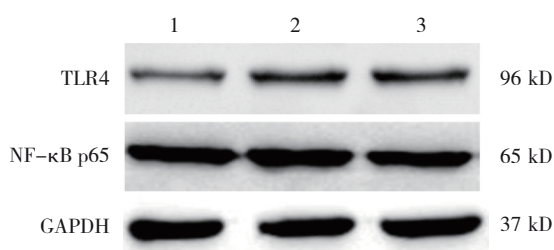
注: ①与空白组比较, $P < 0.05$; ②与模型组比较, $P < 0.05$ 。

TLR4/NF- κ B 通路相关蛋白相对表达量比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 进一步两两比较结果: 与空白组相比, 模型组和 PRP-Exos 组 TLR4、NF- κ B p65 蛋白相对表达量均升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, PRP-Exos 组 TLR4、NF- κ B p65 蛋白相对表达量均降低 ($P < 0.05$)。见表 5 和图 2。

表 5 3 组大鼠脊髓组织 TLR4/NF- κ B 通路相关蛋白相对表达量比较 ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	TLR4	NF- κ B p65
空白组	0.32 ± 0.05	0.51 ± 0.06
模型组	0.87 ± 0.12^{①}	0.97 ± 0.15^{①}
PRP-Exos 组	0.51 ± 0.08^{①②}	0.68 ± 0.09^{①②}
F 值	100.472	47.456
P 值	0.000	0.000

注: ①与空白组比较, $P < 0.05$; ②与模型组比较, $P < 0.05$ 。



1: 空白组; 2: 模型组; 3: PRP-Exos 组。

图2 各组脊髓组织 TLR4/NF-κB 通路相关蛋白的表达

3 讨论

NP 是由神经系统损伤或疾病引起的慢性疼痛状态,常伴随有持久性疼痛、感觉异常及情绪障碍,极大地影响患者的生活质量。现有治疗方法包括药物治疗和物理治疗,虽然在一定程度上缓解疼痛症状,但效果有限且伴随显著副作用^[12-13]。因此,寻找新的治疗途径及机制成为 NP 治疗的重要课题。近年来,PRP-Exos 在神经系统中的修复作用逐渐得到重视,由于其富含生长因子及抗炎分子,被认为在神经损伤修复中具有潜力^[14-15]。本研究的目的在于探讨 PRP-Exos 通过 TLR4/NF-κB 信号通路对 NP 的治疗作用,为其临床应用提供新的理论依据。

PRP-Exos 作为富含多种生物活性分子的 Exos,被证实在组织修复、抗炎和免疫调节方面具有显著效果。HE 等^[16]研究表明,PRP-Exos 在糖尿病创面中可通过诱导巨噬细胞向 M2 型极化,而非直接依赖于细胞替代,调节局部免疫反应并加速创面修复。在神经损伤模型中,PRP-Exos 则主要作用于脊髓小胶质细胞和雪旺细胞,促进神经纤维的再生,从而改善神经功能^[17-18]。本研究结果表明,PRP-Exos 通过鞘内注射的方式能够显著改善 SNI 大鼠 NP。具体而言,PRP-Exos 组大鼠在 MWT 和热痛阈值 TWL 上较模型组有显著升高,同时炎症因子 TNF-α 和 IL-6 水平显著降低,表明 PRP-Exos 能够有效抑制脊髓炎症反应,改善神经功能,与现有研究结果一致^[19]。此外,PRP-Exos 组的神经病理学变化也有所改善,甲苯胺蓝染色结果显示,PRP-Exos 能够促进神经纤维排列的整齐性,并增加轴突直径和髓鞘厚度,进一步证实了 PRP-Exos 对神经损伤的修复作用,表明其具有潜在的临床应用价值。本研究通过神经电生理学评估,为 PRP-Exos 促进神经功能恢复提供了客观的功能性证据。重复测量设计的方差分析结果显示,各组大鼠 MNCV 在不同时间点及组间均存在显著差

异。尽管模型组与 PRP-Exos 组在模型复制后 MNCV 均出现下降,但经 PRP-Exos 干预后,其 MNCV 水平在给药 10 次时显著高于模型组。这一结果直接证实 PRP-Exos 能够有效促进受损坐骨神经的电信号传导功能恢复。MNCV 的改善与上述痛觉行为学及炎症指标的改善高度一致,共同构成了 PRP-Exos 治疗有效的完整证据链。类似的研究也表明,PRP-Exos 通过促进神经细胞的增殖和神经传导的恢复,在治疗神经损伤和 NP 中展现出良好的潜力^[20-21]。

TLR4/NF-κB 信号通路在 NP 中的作用被广泛研究。TLR4 是一种重要的免疫受体,其激活能够引发一系列细胞内信号转导,最终导致炎症因子的释放和神经损伤的加剧^[22]。NF-κB 是下游重要转录因子,能够通过调节多种炎症基因的表达,进一步促进神经炎症反应^[23]。现有研究表明,神经损伤后的炎症反应是 NP 发生的重要机制之一,特别是 TLR4/NF-κB 信号通路在神经系统中的激活被认为是疼痛传导和慢性疼痛维持的关键途径^[24]。本研究中,Western blotting 检测结果进一步显示 PRP-Exos 可同时下调 TLR4 表达和 NF-κB 磷酸化,表明其具有多靶点调控优势,PRP-Exos 能够通过抑制 TLR4/NF-κB 信号通路,显著降低脊髓组织中炎症因子的表达,从而减轻神经损伤引发的炎症反应,改善 NP 的症状。类似的研究发现,抑制 TLR4/NF-κB 通路不仅能减轻神经炎症,还能够促进神经修复,与本研究结果相符^[25]。然而,与巴茜远等^[26]报道的抗生素介导的肠道菌群缺失可完全逆转 TLR4 过表达不同,这种差异可能源于模型特异性,不同病因导致的 NP 具有不同的诱导机制,神经损伤引发的 TLR4/NF-κB 通路激活和炎症反应的变化,可能与肠道菌群介导的免疫反应机制有所不同。因此,尽管两者都涉及 TLR4/NF-κB 通路的作用,但不同的病理背景和实验模型可能会导致机制上的差异,进一步验证和比较这些不同模型的结果对于深入理解 NP 的机制至关重要。

综上所述,本研究首次系统阐明了 PRP-Exos 通过抑制 TLR4/NF-κB 信号通路对 NP 的治疗作用,为临床转化提供了新思路。与既往研究相比,本研究创新性地采用鞘内注射递送方式,克服了外周给药生物利用度低的局限,同时通过行为学-组织学-分子生物学多模态评价体系全面验证了治疗效果。尽管本研究初步证明了 PRP-Exos 在缓解 NP 中的潜

力,但PRP-Exos的成分多样,具体是哪种成分发挥了主要的治疗作用尚不明确,未来需要进一步解析PRP-Exos的具体作用机制。此外,本研究选择鞘内注射确保了PRP-Exos在中枢神经系统的有效浓度,但多次穿刺可能引发局部炎症反应,未来需进一步优化给药方式、剂量和给药时间等。

参考文献:

- [1] 金学廷,邱正红,刘向国. 胶质细胞源性神经营养因子在大鼠神经病理性疼痛模型中的作用及机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(11): 37-42.
- [2] 杜成欣,董建群,颜流霞,等. 神经病理性疼痛患者的自我管理: 定义、要素与展望[J]. 中国慢性病预防与控制, 2023, 31(9): 702-705.
- [3] 陈秀兰,刘淑娟,苏乌云,等. 白蛋白结合型紫杉醇诱导大鼠神经病理性疼痛的作用机制[J]. 中国医科大学学报, 2022, 51(12): 1102-1108.
- [4] 崔吉正,孟瑶,唐萍萍,等. 甘草酸二铵通过TLR4/NF- κ B信号通路负调控LPS诱导的BV2小胶质细胞神经炎症反应[J]. 中国免疫学杂志, 2024, 40(10): 2135-2140.
- [5] 吴丽萍,梁英业,唐宏亮,等. 枢经推拿对脊髓神经结扎大鼠模型炎症反应及SOCS1、TLR4蛋白表达的影响[J]. 保健医学研究与实践, 2024, 21(1): 35-41.
- [6] GRØVLE L, HASVIK E, HOLST R, et al. NSAIDs in sciatica (NIS): study protocol for an investigator-initiated multicentre, randomized placebo-controlled trial of naproxen in patients with sciatica[J]. Trials, 2022, 23(1): 493.
- [7] 林相宏,江仁,黄长顺,等. 非药物疗法在慢性疼痛干预中的应用和治疗机制[J]. 生物化学与生物物理进展, 2023, 50(10): 2406-2419.
- [8] 于同. 雪旺细胞外泌体联合富血小板血浆外泌体修复脊髓损伤的实验研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2022.
- [9] ZHAO H, ZHAO Z, LI D, et al. Effect study of exosomes derived from platelet-rich plasma in the treatment of knee cartilage defects in rats[J]. J Orthop Surg Res, 2023, 18(1): 160.
- [10] 张莎,许晶妹,李平,等. 鞘内注射人羊水外泌体对小鼠神经病理性痛的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2023, 43(1): 67-71.
- [11] 杜佳繁,应泽华,李灿东,等. 骨髓间充质干细胞外泌体对神经病理性大鼠镇痛、病理及anx1- Src -NMDAR-2B的影响[J]. 解剖学研究, 2023, 45(6): 529-534.
- [12] BELAVY D L, TAGLIAFERRI S D, BUNTINE P, et al. Interventions for promoting evidence-based guideline-consistent surgery in low back pain: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials[J]. Eur Spine J, 2022, 31(11): 2851-2865.
- [13] 庄见雄,莫宜璋,邓棕元,等. 退行性颈椎病相关神经病理性疼痛的机制与多模式治疗: 现状与进展[J]. 中南大学学报(医学版), 2024, 49(11): 1840-1848.
- [14] 易丹,张永一,蒋文莉,等. 人富血小板血浆来源外泌体促进体外培养施万细胞的增殖[J]. 中国医学科学院学报, 2023, 45(3): 374-381.
- [15] 曾婧楠,程惠,刘曾旭. 外泌体移植治疗缓解神经病理性疼痛的研究进展[J]. 南昌大学学报(医学版), 2024, 64(2): 70-74.
- [16] HE L, ZHAO N, CHEN X, et al. Platelet-rich plasma-derived exosomes accelerate the healing of diabetic foot ulcers by promoting macrophage polarization toward the M2 phenotype[J]. Clin Exp Med, 2025, 25(1): 163.
- [17] YI D, ZHANG Y, LI M, et al. Ultrasound-targeted microbubble destruction assisted delivery of platelet-rich plasma-derived exosomes promoting peripheral nerve regeneration[J]. Tissue Eng Part A, 2023, 29(23/24): 645-662.
- [18] ZHANG Y, YI D, HONG Q, et al. Platelet-rich plasma-derived exosomes boost mesenchymal stem cells to promote peripheral nerve regeneration[J]. J Control Release, 2024, 367: 265-282.
- [19] 聂新宇. 富血小板血浆来源外泌体在脊髓损伤后修复血脊髓屏障及抑制神经炎症中的作用及机制研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2024.
- [20] 赵航宇,付海亮. 富血小板血浆来源外泌体及其组织修复作用研究进展[J]. 实用骨科杂志, 2021, 27(10): 935-940.
- [21] NIE X, LIU Y, YUAN T, et al. Platelet-rich plasma-derived exosomes promote blood-spinal cord barrier repair and attenuate neuroinflammation after spinal cord injury[J]. J Nanobiotechnology, 2024, 22(1): 456.
- [22] 李莉,姜雪,姜荣格,等. TLR4 NF- κ B通路-神经相关因子探究依达拉奉对急性脑梗死患者炎症反应与神经损伤的保护机制[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2025, 28(1): 47-52.
- [23] 洗思彤,林采玥,施学丽,等. 壮医药线灸抑制核因子- κ B通路及炎症因子改善带状疱疹后遗神经痛大鼠神经炎症的机制研究[J]. 环球中医药, 2025, 18(3): 397-404.
- [24] 王志成,姜明瑞,岳珠珠,等. 延胡索总碱贴片安全性和对神经病理性疼痛大鼠镇痛作用研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2023, 32(3): 336-341.
- [25] 苏虹,张熙,李竞,等. 麦粒灸对坐骨神经损伤大鼠脊髓组织TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2024, 31(1): 78-83.
- [26] 巴茜远,郝悦,蒋昌宇,等. 肠道菌群缺失在紫杉醇诱导的神经病理性疼痛中的作用[J]. 中国微生态学杂志, 2024, 36(12): 1382-1387.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 田立东,赵丽丽,刘文娜,等. PRP-Exos通过TLR4/NF- κ B通路对神经病理性疼痛的作用及其机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2025, 35(20): 53-59.

Cite this article as: TIAN L D, ZHAO L L, LIU W N, et al. Effects and mechanisms of PRP-Exos on neuropathic pain via the TLR4/NF- κ B pathway[J]. China Journal of Modern Medicine, 2025, 35(20): 53-59.