

神经内镜下人脐带间充质干细胞外泌体鞘内移植修复脊髓损伤的作用机制

郑伊桐, 汪永新, 刘文, 阿木吉特, 秦虎

<https://doi.org/10.12307/2025.544>

投稿日期: 2024-06-24

采用日期: 2024-08-29

修回日期: 2024-10-08

在线日期: 2024-10-23

中图分类号:

R459.9; R318; R616

文章编号:

2095-4344(2025)36-07743-09

文献标识码: A

文章快速阅读: 人脐带间充质干细胞来源外泌体调节小胶质细胞向 M2 型极化修复脊髓损伤

建立模型:

使用改良 Allen 法建立 SD 大鼠脊髓损伤模型。

分组:

随机分为假手术组、模型组、外泌体组, 每组 16 只。

观察大鼠后肢运动损伤情况和神经功能评分 (BBB 评分)。

结论:

人脐带间充质干细胞来源外泌体可以促进小胶质细胞 M1 型向 M2 型极化, 减少了促炎因子的释放, 从而减轻脊髓损伤中神经炎症的继发性损害。

(1) 苏木精-伊红染色观察损伤区域病理形态;
(2) 尼氏染色观察神经元的形态和数量分析;
(3) 小胶质细胞极化状态标志物诱导型一氧化氮合酶、精氨酸酶 1 表达。

文题释义:

BBB评分: 是一种专门用于评估脊髓损伤后动物(尤其是大鼠)下肢运动功能恢复情况的评分标准。该评分系统通过观察和记录动物在开放场地中的运动行为, 如步态、姿势、协调性等, 来量化脊髓损伤的严重程度和治疗效果。具体评分范围为0-21分, 0分代表完全瘫痪, 21分则表示正常运动功能。该评分方法在脊髓损伤研究中被广泛应用, 因其可靠性和敏感性而备受认可, 是评估治疗方法有效性的关键指标之一。

小胶质细胞: 是中枢神经系统的常驻免疫细胞, 具有双重作用: 在神经损伤早期, 它们能够迅速激活并清除损伤部位的碎片和病原体, 发挥保护作用。然而, 持续的M1型激活会导致慢性炎症并加重神经损伤。小胶质细胞可以通过向M2型转化, 产生抗炎因子如白细胞介素10, 从而促进组织修复和神经再生。研究显示, 调控小胶质细胞的极化状态对减少炎症损害和促进脊髓损伤修复具有重要意义。

摘要

背景: 研究发现, 人脐带间充质干细胞来源外泌体可以有效促进脊髓损伤的神经修复。

目的: 探讨人脐带间充质干细胞来源外泌体是否可以通过促进小胶质细胞向M2型极化减轻神经炎症促进脊髓损伤大鼠运动功能恢复。

方法: 将48只SD大鼠随机分为假手术组、模型组和外泌体组($n=16$), 采用改良Allen法建立大鼠脊髓损伤模型。外泌体组在损伤后24 h通过神经内镜鞘内注射20 μ L人脐带间充质干细胞来源外泌体。在造模后3, 7, 14, 21 d, 采用BBB评分法结合Rivlin斜板实验评估大鼠后肢运动功能的恢复情况, 采用苏木精-伊红染色和尼氏染色检测脊髓组织损伤情况, Western blot检测脊髓组织中脑源性神经营养因子和血管内皮生长因子A蛋白表达水平, 免疫荧光法检测脊髓组织中M1型标志物(诱导型一氧化氮合酶)与M2型标志物(精氨酸酶1)的表达比例, qRT-PCR和Western blot检测脊髓组织中诱导型一氧化氮合酶与精氨酸酶1的表达水平, ELISA法检测脊髓组织中促炎因子(肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素1 β 和白细胞介素6)和抗炎因子(白细胞介素10)水平。

结果与结论: ①术后3, 7, 14 d, 外泌体组BBB评分均高于模型组($P < 0.05$), 术后7, 14 d时外泌体组Rivlin斜板实验角度均显著高于模型组($P < 0.05$), 苏木精-伊红染色和尼氏染色结果显示外泌体组相比于模型组脊髓组织的神经损伤减轻, 术后7 d时外泌体组脑源性神经营养因子和血管内皮生长因子A表达较模型组增加($P < 0.05$); ②免疫荧光实验结果显示, 与模型组相比, 外泌体组术后第7天病变区域的诱导型一氧化氮合酶阳性小胶质细胞明显减少, 而精氨酸酶1阳性小胶质细胞明显增多($P < 0.05$); qRT-PCR和Western blot也证实了免疫荧光实验结果; ③外泌体组脊髓组织中促炎因子肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素1 β 和白细胞介素6分泌量较模型组减少($P < 0.05$), 而抗炎因子白细胞介素10分泌量较模型组增加($P < 0.05$)。结果表明: 人脐带间充质干细胞来源外泌体可以促进小胶质细胞M1型向M2型极化, 减少了促炎因子的释放, 从而减轻脊髓损伤中神经炎症的继发性损害。

关键词: 脊髓损伤; 人脐带间充质干细胞; 小胶质细胞; 外泌体; 炎症; 神经内镜; 工程化干细胞

Action mechanism of intrathecal transplantation of human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes for repair of spinal cord injury under neuroendoscopy

Zheng Yitong, Wang Yongxin, Liu Wen, Amujite, Qin Hu

First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uyghur Autonomous Region, China

Zheng Yitong, Master candidate, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uyghur Autonomous Region, China

Corresponding author: Qin Hu, MD, Associate chief physician, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uyghur Autonomous Region, China

新疆医科大学第一附属医院, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

第一作者: 郑伊桐, 男, 1999年生, 新疆维吾尔自治区石河子市人, 汉族, 新疆医科大学在读硕士, 主要从事脊髓损伤修复研究。**通讯作者:** 秦虎, 博士, 副主任医师, 新疆医科大学第一附属医院, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054<https://orcid.org/0009-0001-6568-0452> (郑伊桐)**基金资助:** 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2021D01C339), 项目负责人: 秦虎**引用本文:** 郑伊桐, 汪永新, 刘文, 阿木吉特, 秦虎. 神经内镜下人脐带间充质干细胞外泌体鞘内移植修复脊髓损伤的作用机制

[J]. 中国组织工程研究, 2025, 29(36):7743-7751.



Abstract

BACKGROUND: Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes were found to be effective in promoting neural repair in spinal cord injury.

OBJECTIVE: To investigate whether exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells are able to attenuate neuroinflammation and promote recovery of motor function by promoting polarization of microglia toward the M2 type.

METHODS: Totally 48 SD rats were randomly divided into a sham operation group, a model group, and an exosome group ($n=16$ per group). A rat spinal cord injury model was established using the modified Allen method. The exosome group was injected with 20 μL of human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes intrathecally via neuroendoscopy 24 hours after injury. At 3, 7, 14, and 21 days after modeling, the recovery of the motor function of the hind limbs of the rats was assessed by BBB scoring method combined with Rivlin's slant plate test. The damage of spinal cord tissues was detected by using hematoxylin-eosin staining and Nissl staining. The expression levels of brain-derived neurotrophic factor and vascular endothelial growth factor A proteins were detected by western blot assay. The expression proportion of M1-type markers (inducible nitric oxide synthase) and M2 markers (arginase-1) in the spinal cord tissues was detected by immunofluorescence method. qRT-PCR and western blot assay were used to detect the expression levels of inducible nitric oxide synthase and arginase-1 in spinal cord tissues. ELISA was utilized to detect the levels of pro-inflammatory factors (tumor necrosis factor α , interleukin 1 β , and interleukin 6) and anti-inflammatory factors (interleukin 10) levels in spinal cord tissues.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) At 3, 7, and 14 days postoperatively, the BBB scores of the exosome group were better than those of the model group ($P < 0.05$). The angles of the Rivlin slanting plate experiments of the exosome group were significantly higher than those of the model group at 7 and 14 days postoperatively ($P < 0.05$). The results of hematoxylin-eosin staining and Nissl staining indicated that the spinal cord tissues and nerve injuries of the exosome group were reduced in comparison with those of the model group, and the levels of brain-derived neurotrophic factor and vascular endothelial growth factor A in spinal cord tissues of the exosome group were higher than those in the model group at 7 days postoperatively ($P < 0.05$). (2) Immunofluorescence experiments showed that the number of inducible nitric oxide synthase-positive microglial cells in the lesion area of the exosome group was significantly reduced and the level of Arg1-positive microglial cells increased in the lesion area of the exosome group compared with the model group at 7 days postoperatively ($P < 0.05$). qRT-PCR and western blot assay also confirmed the results of immunofluorescence experiments. (3) The secretion of pro-inflammatory factors tumor necrosis factor α , interleukin 1 β , and interleukin 6 in spinal cord tissues of the exosome group was reduced compared with the model group ($P < 0.05$), whereas the secretion of the inflammation-suppressing factor interleukin 10 was increased compared with the model group ($P < 0.05$). These findings conclude that human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes could promote the polarization of microglial cells from the M1 to the M2 type and decrease the release of pro-inflammatory factors, thereby reducing the secondary damage of neuroinflammation in spinal cord injury.

Key words: spinal cord injury; human umbilical cord mesenchymal stem cell; microglia; exosome; inflammation; neuroendoscopy; engineered stem cell

Funding: Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 2021D01C339 (to QH)

How to cite this article: ZHENG YT, WANG YX, LIU W, AMUJITE, QIN H. Action mechanism of intrathecal transplantation of human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes for repair of spinal cord injury under neuroendoscopy. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2025;29(36):7743-7751.

0 引言 Introduction

脊髓损伤是发生于中枢神经系统的严重致残性疾病，脊髓损伤后引起损伤节段以下肢体功能障碍、膀胱排尿功能障碍、神经病理痛、括约肌及自主神经功能障碍等^[1-3]。脊髓损伤的病理生理过程分为2个阶段：第一阶段是最初发生的瞬时机械性损伤^[4]，第二阶段则涉及炎症反应，包括滞留免疫细胞（如小胶质细胞和星形胶质细胞）的激活以及免疫细胞（如巨噬细胞和中性粒细胞）的募集，这些炎症反应共同引发损伤部位及周围神经元、神经胶质细胞和其他细胞的代谢和功能障碍^[5-7]。

在脊髓损伤大鼠模型中，小胶质细胞和巨噬细胞的激活峰值发生在脊髓损伤后1-3 d，而在脊髓损伤小鼠模型中，小胶质细胞和巨噬细胞的激活峰值发生在脊髓损伤后3-7 d^[8]。脊髓损伤时小胶质细胞强烈激活，是炎症递质的重要来源^[9]。小胶质细胞以依赖于外部信号的2种主要极化状态存在：促炎(M1)表型(经典激活)和抗炎(M2)表型(选择性激活)，前者引发一连串的神毒性反应，释放各种细胞毒性物质，如肿瘤坏死因子 α 、诱导型一氧化氮合酶、次氯酸和活性氧，导致内皮细胞、神经元、轴突、少突胶质细胞的凋亡和坏死，后者产生抗炎细胞因子，如白细胞介素10和转化生长因子 β ，以帮助维持体内平衡^[10-12]。

人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUCMSCs)具有多能分化能力、免疫调节功能以及低免疫原性等特点，近年来在脊髓损伤治疗中展现

出良好的应用前景^[13]。然而，静脉移植的人脐带间充质干细胞难以有效到达病变部位，大部分细胞在肺、肝脏和脾脏中积聚^[1]，并且存在免疫排斥、细胞去分化和恶性肿瘤形成的风险，这显著限制其治疗效果^[14-15]。研究表明，人脐带间充质干细胞主要通过分泌细胞因子发挥治疗作用，而不是直接在损伤部位分化^[16]。

外泌体作为人脐带间充质干细胞旁分泌机制的重要组成部分，是直径为30-150 nm的膜囊泡，包含DNA、mRNA、miRNA和蛋白质等功能性物质^[17]，外泌体通过将上述物质转移至靶细胞，发挥多种生物学功能，包括调节免疫反应、减轻炎症、抑制细胞凋亡、促进伤口愈合和血管生成^[18]。外泌体通过调节细胞内复杂的信号传导通路，在多种疾病治疗中发挥重要作用，包括神经退行性疾病和癌症^[19-21]。尽管人脐带间充质干细胞来源外泌体在心血管、肝脏及肾脏疾病治疗中的应用已初见成效，但在脊髓损伤中的研究仍然较少。现有的临床试验数据表明，外泌体具有较高的安全性且能够避免传统细胞移植中可能出现的免疫排斥和恶性转化等问题，因此其在脊髓损伤中的应用潜力值得深入探讨。此外，外泌体的小尺寸和稳定性使其更易通过血脑屏障，并在病灶部位发挥治疗作用。

此研究将人脐带间充质干细胞来源外泌体通过鞘内移植至脊髓损伤大鼠病灶，探讨其神经修复作用及对炎症反应的影响，旨在为未来的临床研究提供理论依据和技术支持。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验, 组间比较时采用单因素方差分析。

1.2 时间及地点 实验于 2023 年 3 月至 2024 年 3 月在新疆医科大学动物实验中心完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 雌性 SD 大鼠 48 只, 6-8 周龄, SPF 级, 体质量 (220±20) g, 采购于新疆医科大学动物中心, 许可证号: SYXK(新) 2016-0002, 研究方案已通过新疆医科大学动物伦理委员会审批, 审批编号为 IACUC-20230321-07。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在麻醉下进行所有的手术, 并最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

1.3.2 实验细胞 人脐带间充质干细胞购自新疆西部赛澳生物科技有限责任公司, 经过流式细胞术及三系分化实验检测符合标准。

1.3.3 实验仪器和试剂 CO₂ 恒温培养箱 (美国 Thermo Fisher, HERAcCell240i); -80 °C 超低温冰箱 (中国合肥美菱, DW-HL388); 低温高速离心机 (德国 Eppendorf, 5430R); 超速离心机 (德国 Beckman, Avanti XE-100); 电泳仪 (美国 BIO RAD, 164-5050); 凝胶成像系统 (美国 BIO RAD, ChemiDoc MP); 切片机 (德国徕卡公司, RM2235); 自动恒温漂片仪 (湖北泰维科技, TK-212); 倒置荧光显微镜 (日本 OLYMPUS, IX73); 荧光定量 PCR 仪 (美国 Thermo Fisher, QuantStudio 5); 酶标仪 (美国 Thermo Fisher, MultiskanGo); 神经内镜 (科众医疗, QK III -16090); 源性神经营养因子抗体 (武汉三鹰, 25699-1-AP); 血管内皮生长因子 A 抗体 (武汉三鹰, 19003-1-AP); 诱导型一氧化氮合酶抗体 (武汉三鹰, 22226-1-AP); 精氨酸酶 1 抗体 (武汉三鹰, 16001-1-AP); GAPDH 抗体 (武汉三鹰, 10494-1-AP); β-Actin 抗体 (武汉三鹰, 20536-1-AP)。

1.4 实验方法

1.4.1 人脐带间充质干细胞来源外泌体的提取

(1) 无外泌体血清的制备: 将胎牛血清在 4 °C、120 000×g 离心 17 h, 胎牛血清分为 2 层: 底层含有胎牛血清来源的微囊泡沉淀, 上层为无外泌体的血清。小心吸取上层血清, 置于 4 °C 冰箱中保存。

(2) 细胞上清液的提取: 第 3 代人脐带间充质干细胞于 T75 培养瓶内培养, 待细胞融合度达到 70% 时, 换用含体积分数 10% 无外泌体血清的 DMEM 培养基继续培养 48 h, 收集细胞培养基上清, 置于 -80 °C 冰箱中保存。

(3) 外泌体的制备 (超速离心法): ① 将上步骤得到的上清液置于冰上融化; ② 4 °C、2 000×g 离心 10 min, 取上清; 4 °C、10 000×g 离心 30 min, 去除细胞碎片,

取上清液转移至新的离心管中; ③ 4 °C、100 000×g 离心 90 min, 吸去上清, 留沉淀, 得到沉淀主要为外泌体和干扰蛋白; ④ 加入 PBS 吹打, 4 °C、140 000×g 离心 90 min, 吸去上清, 留沉淀, 漂洗 2 遍, 得到的沉淀即为外泌体; ⑤ 加入 100 μL PBS, 置于 -80 °C 超低温冰箱中保存。

1.4.2 人脐带间充质干细胞来源外泌体的鉴定

(1) 透射电镜观察: 用移液器吸取 20 μL 外泌体悬液滴加于电镜铜网状栅中, 沉淀 2 min 后, 使用滤纸吸去多余液体。然后, 在铜网状栅上滴加 10 μL 2% 磷钨酸溶液, 室温下染色 2 min。在室温下干燥 10 min 后, 上机观察, 使用 200 kV 观察电压进行拍照, 即可获得外泌体的透射电镜图像。

(2) 粒径分析: 取 10 μL 外泌体样品, 用 PBS 稀释至 30 μL。首先使用标准品进行纳米颗粒追踪分析的性能测试, 确保测试系统正常运行。性能测试合格后, 将外泌体样品进行梯度稀释, 以避免样本堵塞进样针。待样品检测完成后, 即可获得外泌体的粒径分布和浓度信息。

(3) Western blot 检测 CD63、TSG-101、Alix 的表达: 取 50 μL 外泌体溶液加入等体积的 RIPA 裂解液, 在冰上进行裂解, 每 5 min 吹打 1 次, 裂解 50 min, 离心后取上清, 即为外泌体蛋白, 将所得外泌体蛋白进行蛋白定量后, 样品与 5×Loading Buffer 混合以达相同浓度后, 100 °C 煮沸 10 min, 进行 SDS 凝胶电泳后转至 PVDF 膜, 快速封闭液封闭 30 min, 加入 CD63(1 : 1 000)、TSG-101(1 : 3 000)、Alix(1 : 20 000)、GAPDH(1 : 20 000) 一抗, 4 °C 孵育过夜, 第 2 天 1×TBST 洗 3 次, 每次 10 min, 加入相应二抗 (1 : 25 000), 室温孵育 1 h, 1×TBST 洗 3 次, 每次 10 min, 进行 ECL 化学发光, 拍照。使用 Image J 软件进行条带处理及分析, 结果以目的蛋白灰度值 / 相应内参灰度值表示, 使用 GraphPad Prism 9 进行可视化展示。

1.4.3 大鼠脊髓损伤模型的制作及分组 将 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组和外泌体组, 每组 16 只。1% 戊巴比妥钠溶液腹腔麻醉后, 在 T₁₃ 肋骨与脊柱中线处切开皮肤及皮下筋膜, 显露 T₉-T₁₁ 的 3 个棘突。解剖特征显示 T₉ 棘突倾向尾侧, T₁₀ 棘突处于中立位, 而 T₁₁ 棘突倾向头侧, 这 3 个棘突簇集在一起作为解剖定位的标志 (图 1A)。移入神经内镜进行后续操作, 使用小咬骨钳移除 T₁₀ 棘突, 并用齿镊轻提起 T₉ 横突。在 T₁₁ 两侧横突处剪开两个小口, 随后剪断 T₁₀ 椎弓根, 再用小咬骨钳从下往上剪开缺口处的椎板, 扩窗过程中可用神经剥离子拨开脊髓, 最终用小咬骨钳移除双侧 T₁₀ 椎板, 充分暴露目标脊髓段 T₁₀ (图 1B, C)。将 1 mm 厚的垫片贴附在硬脊膜上 (图 1D), 用自制打击器打击 T₁₀ 段脊髓 (30 g, 2.5 cm), 打击冲量为 75 g/cm, 并保持克氏针停留 5 s, 建立脊髓损伤模型 (图

1E-I)。假手术组：暴露脊髓后即缝合切口，余无其他处理。模型组：暴露脊髓后建立大鼠脊髓损伤模型，鞘内注射 20 μL PBS。外泌体组：暴露脊髓后建立大鼠脊髓损伤模型，损伤 24 h 后鞘内注射 20 μL 人脐带间充质干细胞来源外泌体 (1.3 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)。

1.4.4 术后护理 手术后大鼠分笼饲养，防止互咬伤口，伤口每天碘伏消毒 1 次，给予 10 万 U 青霉素腹腔注射，持续 3 d，人工辅助排尿，每日 3 次。

1.4.5 大鼠神经功能评价 在造模后第 1, 3, 7, 14, 21 天，对各组大鼠进行 BBB 评分^[22]，以动态监测各组大鼠后肢运动功能的恢复情况。实验环境保持安静，光线均匀，测试区域为一个开阔的平坦区域，以便于观察大鼠的运动情况。大鼠在每次测试前被允许在测试区域内自由活动数分钟，以适应环境。由 3 名独立实验者进行每只大鼠的 BBB 评分，实验者不知晓分组情况，观察大鼠后肢运动状态 (图 2)，最终结果取三者平均值。

1.4.6 Rivlin 斜板实验 在造模后第 3, 7, 14, 21 天，对各组大鼠进行 Rivlin 斜板实验，以评估各组大鼠后肢运动功能随时间的变化。实验采用角度可调的斜板，初始角度设置为 0°，即与地面平行。将大鼠置于自制 Rivlin 斜板上，确保其四肢均接触板面，并能够自由活动。缓慢增加斜板角度，每次增加 5°，直至大鼠无法继续维持身体稳定并滑下斜板。记录大鼠滑落时的最大角度。每只大鼠重复测试 3 次，取 3 次测试的平均值。

1.4.7 苏木精-伊红染色 造模后第 3, 7, 14, 21 天麻醉后处死大鼠，每个时间点每组 4 只大鼠，取损伤部位 1.0-2.0 cm 脊髓节段放置于 40 g/L 多聚甲醛中浸泡固定。经过脱水处理和包埋后，将脊髓组织切片 (厚度 5 μm) 以待染色。每只大鼠随机选取 3 张切片，按照苏木精-伊红染色的步骤进行染色。显微镜下观察损伤部位的胶质区空洞及瘢痕组织的形成情况。

1.4.8 尼氏染色 采用步骤 1.4.7 中的蜡块进行切片，对各组脊髓组织切片进行尼氏染色，观察神经元的形态和数量分布，从而对损伤后神经元的功能状态进行评估。尼氏染色方法主要用于染色神经元细胞体中的尼氏物质 (粗面内质网)，这有助于评估神经元的结构完整性和数量变化。

1.4.9 Western blot 检测 按照 1.4.2 步骤采用 Western blot 检测造模后第 3, 7, 14, 21 天时各组大鼠脊髓组织中脑源性神经生长因子、血管内皮生长因子 A 蛋白表达，使用一抗及稀释比例如下：脑源性神经生长因子 (1 : 1 000)、血管内皮生长因子 A (1 : 6 000)、内参 GAPDH (1 : 20 000)；采用 Western blot 检测造模后第 7 天时各组大鼠脊髓组织中诱导型一氧化氮合酶、精氨酸酶 1 蛋白表达，使用一抗及稀释比例如下：诱导型一氧化氮合酶 (1 : 500)、精氨酸酶 1 (1 : 20 000)、内参 β -Actin (1 : 8 000)。

1.4.10 免疫荧光检测 将脊髓组织使用 40 g/L 多聚甲醛固定 24 h，随后在蔗糖溶液中脱水，脱水后用冰冻切片机切成厚度为 20 μm 的连续切片，并将切片铺贴在预处理好的载玻片上。切片室凉干后，使用 0.3% Triton X-100 透化细胞膜 30 min，用含体积分数 10% 正常山羊羊血清的 PBS 在室温下封闭非特异性结合位点 1 h，随后依次孵育一抗 (诱导型一氧化氮合酶、精氨酸酶 1 抗体)，4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日，使用 PBS 洗涤切片 3 次，每次 5 min，然后分别孵育对应的荧光标记二抗，室温下避光孵育 1 h，再次用 PBS 洗涤切片 3 次，每次 5 min，用含 DAPI 的抗荧光淬灭剂封固，使用共聚焦显微镜进行成像。实验设置阴性对照组以排除非特异性荧光和背景信号。

1.4.11 qRT-PCR 检测 造模后第 3, 7, 14, 21 天，从大鼠脊髓组织中提取总 RNA，使用 Trizol 试剂按照制造商的说明进行操作。提取的 RNA 样品通过 NanoDrop 分光光度计检测纯度和浓度。将 500 ng 总 RNA 反转录为 cDNA，使用反转录试剂盒按照制造商的说明进行操作。随后，使用 SYBR Green Master Mix 在 96 孔板上进行 qRT-PCR 反应，每个样本设立 3 个重复。qRT-PCR 反应体系总量为 20 μL ，包含 2 μL cDNA 模板、10 μL SYBR Green Master Mix、0.4 μL 前向引物 (10 $\mu\text{mol}/\text{L}$)、0.4 μL 反向引物 (10 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 以及 7.2 μL 无核酸酶水。PCR 反应在 ABI 7500 快速荧光定量 PCR 仪上进行，反应条件为：95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min，接着 40 个循环的 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s，60 $^{\circ}\text{C}$ 退火延伸 30 s。数据采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法进行分析，并使用 GAPDH 作为内参基因。各基因和内参引物序列见表 1。

表 1 | 各基因和内参引物序列
Table 1 | Sequences of each gene and internal reference primers

基因	引物序列 (5'-3')
GAPDH-F	CTG GAG AAA CCT GCC AAG TAT G
GAPDH-R	GGT GGA AGA ATG GGA GTT GCT
诱导型一氧化氮合酶 -F	CTT GGA GCG AGT TGT GGA TTG T
诱导型一氧化氮合酶 -R	GGT AGT GAT GTC CAG GAA GTA GGT G
精氨酸酶 1-F	CAA GCC AAA GCC CAT AGA GAT TA
精氨酸酶 1-R	CAC CAG GCC AGC TTT CCT TAA T

1.4.12 ELISA 检测 造模后第 3, 7, 14, 21 天，将大鼠脊髓组织匀浆并使用 RIPA 裂解液裂解以提取总蛋白，将 100 μL 含有已知浓度蛋白的标准品或样本蛋白加入 96 孔 ELISA 板中，每组设置 3 个重复；随后，封闭未结合的结合位点，使用含 5% BSA 的 PBS 在室温下孵育 1 h；用 PBS 洗涤板孔 3 次，每次 5 min，加入 100 μL 肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6、白细胞介素 10 一抗 (稀释度按照制造商说明)，在 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜；次日，用 PBS 洗涤板孔 3 次，每次 5 min，加入 100 μL 酶联二抗溶液，在室温下孵育 1 h；用 PBS 洗涤板孔 3 次，每次 5 min，加入 100 μL TMB 底物溶液，避光孵育 10-15 min，直到显色反应达到预期程度；通过加入 50 μL

终止液终止反应,并在 450 nm 波长下使用酶标仪测量吸光度值。根据标准曲线计算样本中炎症因子水平。

1.5 主要观察指标 ①各组大鼠脊髓损伤后神经功能评分;②各组大鼠斜板实验结果;③各组大鼠脊髓组织苏木精-伊红染色、尼氏染色结果;④各组大鼠脊髓组织中脑源性神经营养因子、血管内皮生长因子 A 蛋白表达;⑤各组大鼠脊髓组织中诱导型一氧化氮合酶和精氨酸酶 1 的表达;⑥各组大鼠脊髓组织中炎症因子水平。

1.6 统计学分析 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS 20.0 进行统计学分析。组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),并进行 LSD 多重比较,同时进行方差齐性检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 人脐带间充质干细胞来源外泌体鉴定结果 人脐带间充质干细胞来源外泌体的颗粒物浓度为 $3.5 \times 10^{11} \text{ L}^{-1}$,外泌体颗粒直径大小为 100 nm 左右,透射电镜下呈圆盘状,中间凹陷,与人脐带间充质干细胞对照组比较,外泌体的特异性标记物 CD63、TSG-101 和 Alix 表达显著升高,见图 3。

2.2 实验动物数量分析 研究共纳入 48 只 SD 大鼠,随机分为假手术组、模型组和外泌体组(每组 16 只)。在实验过程中,各组大鼠均按照既定的实验方案进行处理和观察,均进入结果分析。

2.3 神经功能评分 术后 1, 3, 7, 14, 21 d 进行 BBB 评分,模型组、外泌体组均有不同程度的后肢运动功能障碍,在术后 3, 7, 14 d,外泌体组 BBB 评分均高于模型组($P < 0.05$),见图 4。

2.4 Rivlin 斜板实验结果 各组大鼠术前 Rivlin 斜板实验均为 55° ,脊髓损伤后 1, 3, 21 d 模型组和外泌体组 Rivlin 斜板实验结果差异无显著性意义($P > 0.05$),在 7 d 和 14 d 时外泌体组 Rivlin 斜板角度均高于模型组($P < 0.05$),见图 5。结果表明:外泌体组大鼠后肢运动功能显著改善,但随着时间的延长,效果逐渐减弱,14 d 后需加强治疗。

2.5 苏木精-伊红染色结果 脊髓损伤第 3 天,模型组和外泌体组胶质空洞和瘢痕组织形成相似,在脊髓损伤后第 7 天,正常脊髓的中央灰质区域内可以观察到大量完整的神经元细胞,且没有明显的空洞和瘢痕组织形成。相比之下,模型组神经元周围出现了大量瘢痕组织,并伴有空泡状的坏死区域。而外泌体组神经元的数量较模型组有所增加,坏死区域显著减少,胶质空洞也较少,见图 6。

2.6 尼氏染色结果 脊髓损伤第 3 天时,模型组和外泌体组胶质空洞相当,神经元分布稍多,在脊髓损伤后第 7 天,假手术组可见大量正常分布的神经元,而模型组神经损伤较为严重,观察区域内的神经元分布最少。相比之下,外泌体组的神经元分布优于模型组,见图 7。

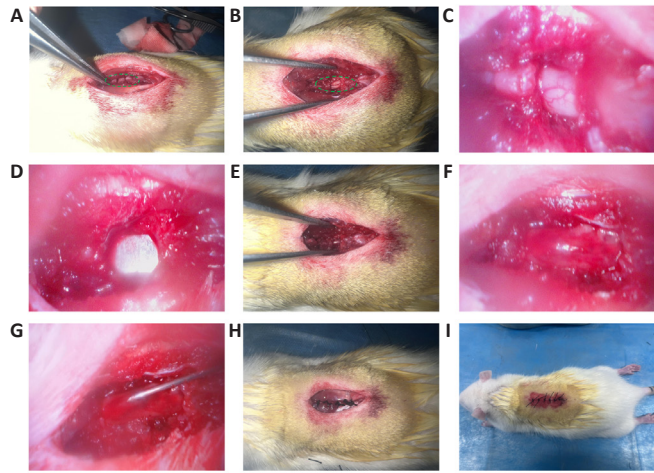
2.7 脊髓组织中脑源性神经营养因子、血管内皮生长因子 A 蛋白表达比较 假手术组脑源性神经营养因子和血管内皮生长因子 A 蛋白在各时间点表达较为稳定,模型组和外泌体组脊髓组织中脑源性神经营养因子蛋白表达均呈现逐渐降低的趋势,但外泌体组脑源性神经营养因子降低速率变慢且在第 7, 21 天时两组脑源性神经营养因子蛋白表达存在统计学差异($P < 0.05$);模型组脊髓组织中血管内皮生长因子 A 蛋白表达呈现逐渐升高的趋势,外泌体组则呈现先升高后逐渐减少的趋势且在第 7 天时两组血管内皮生长因子 A 蛋白表达存在统计学差异($P < 0.05$),见图 8。

2.8 诱导型一氧化氮合酶和精氨酸酶 1 的免疫荧光染色 使用代表性的 M1 相关标记物诱导型一氧化氮合酶和 M2 相关标记物精氨酸酶 1 与 Iba1 进行双重免疫荧光染色,以评估大鼠脊髓损伤后小胶质细胞的极化特征。如图 9 所示,假手术组诱导型一氧化氮合酶和精氨酸酶 1 表达较少且稳定,模型组和外泌体组之间 Iba1 阳性小胶质细胞的数量无显著差异($P > 0.05$)。然而,与模型组相比,外泌体组损伤后第 7 天病变区域内诱导型一氧化氮合酶阳性小胶质细胞显著减少($P < 0.01$),而精氨酸酶 1 阳性小胶质细胞显著增加($P < 0.01$)。这些结果表明,外泌体处理对脊髓损伤后小胶质细胞的抗炎和促炎表型比例具有显著影响,并能够将小胶质细胞的极化从 M1 表型转变为 M2 表型。

2.9 qRT-PCR 检测脊髓组织中诱导型一氧化氮合酶和精氨酸酶 1 基因的表达 为了验证病理学检查结果,采用 qRT-PCR 分析 M1 (诱导型一氧化氮合酶)和 M2 (精氨酸酶 1)基因的表达情况。如图 10 所示,与模型组相比,外泌体组精氨酸酶 1 基因表达明显升高,诱导型一氧化氮合酶基因表达降低,该趋势在第 7 天时最为明显。

2.10 Western blot 检测脊髓组织中诱导型一氧化氮合酶和精氨酸酶 1 蛋白的表达 采用 Western blot 检测脊髓损伤后 7 d 时各组脊髓组织中诱导型一氧化氮合酶和精氨酸酶 1 蛋白的表达,证实了 qRT-PCR 结果,假手术组两种蛋白表达较少且较为稳定,与模型组相比,外泌体组精氨酸酶 1 蛋白表达明显升高,诱导型一氧化氮合酶蛋白表达降低,见图 11。

2.11 ELISA 法检测脊髓损伤后炎症因子的表达 ELISA 法检测结果显示,在脊髓损伤后 3, 7 d 时,外泌体组脊髓组织中促炎因子肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1β 和白细胞介素 6 分泌量较模型组减少,且差异有显著性意义($P < 0.05$);而抑炎因子白细胞介素 10 分泌量较模型组则增加,差异有显著性意义($P < 0.05$),但 14 d 时结果相反,炎症因子水平出现升高($P < 0.05$),可能是因为外泌体的作用主要集中在损伤早期阶段,随着时间的推移,外泌体的活性逐渐减弱,导致第 14 天时炎症指标有所回升,见图 12。



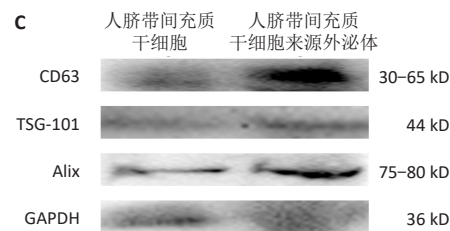
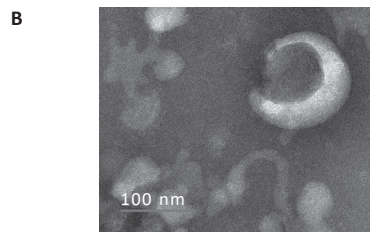
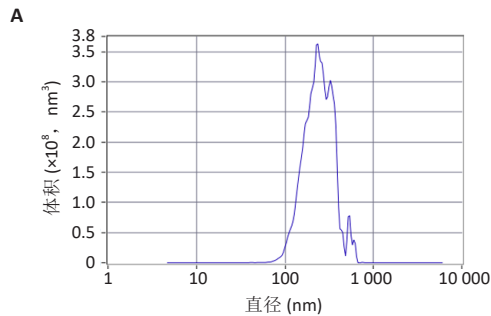
图注：图 A 为 T₁₀ 解剖定位标志；B 为暴露脊髓节段；C 为内镜下打击前脊髓正常状态；D 为放置金属垫片；E 为打击后脊髓充血水肿；F 为内镜下打击后脊髓充血水肿状态；G 为进行鞘内注射；H 为分层缝合；I 为分层缝合；缝合表皮层。

图 1 | 大鼠脊髓损伤模型的建立

Figure 1 | Model establishment of spinal cord injury in rats



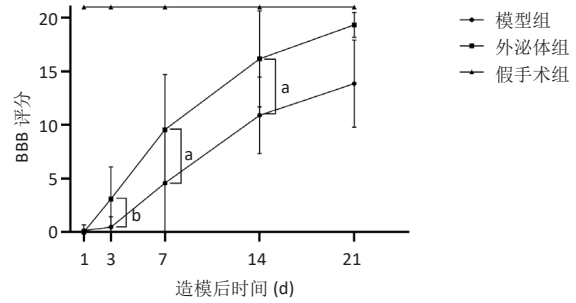
图 2 | 大鼠脊髓损伤模型成功建立
Figure 2 | Successful establishment of a rat spinal cord injury model



图注：图 A 为外泌体粒径分析；B 为外泌体透射电镜拍照；C 为外泌体表面标记物的表达。

图 3 | 人脐带间充质干细胞来源外泌体鉴定

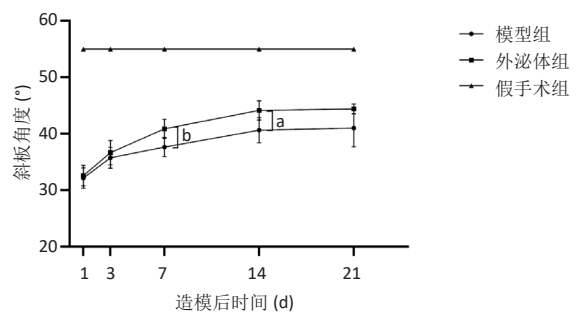
Figure 3 | Identification of human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes



图注：^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

图 4 | 各组大鼠在脊髓损伤不同时间点的 BBB 评分

Figure 4 | BBB scores of rats with spinal cord injury at different time points in each group



图注：^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

图 5 | 各组大鼠在脊髓损伤不同时间点的斜板实验角度

Figure 5 | Angles of oblique plate experiments at different time points of spinal cord injury in rats of each group

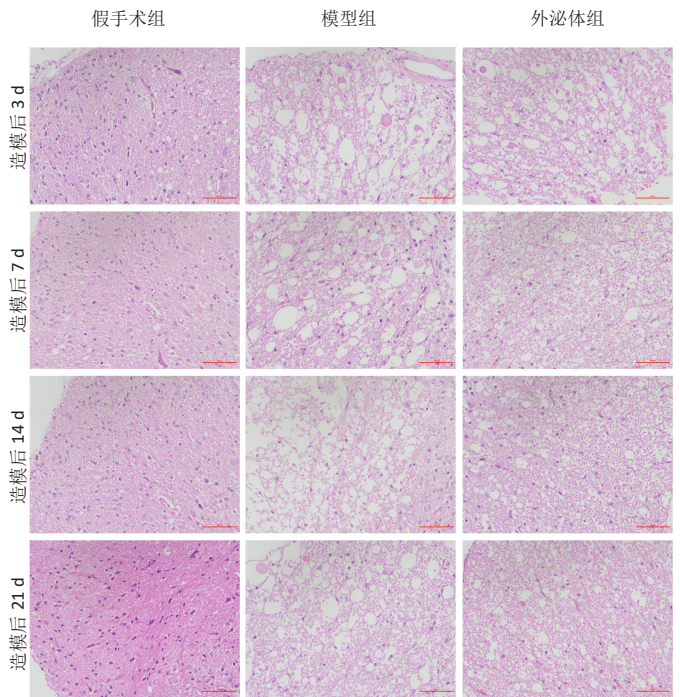


图 6 | 各组大鼠脊髓组织苏木精 - 伊红染色 ($\times 20$)

Figure 6 | Hematoxylin-eosin staining of the spinal cord tissue of rats of various groups ($\times 20$)

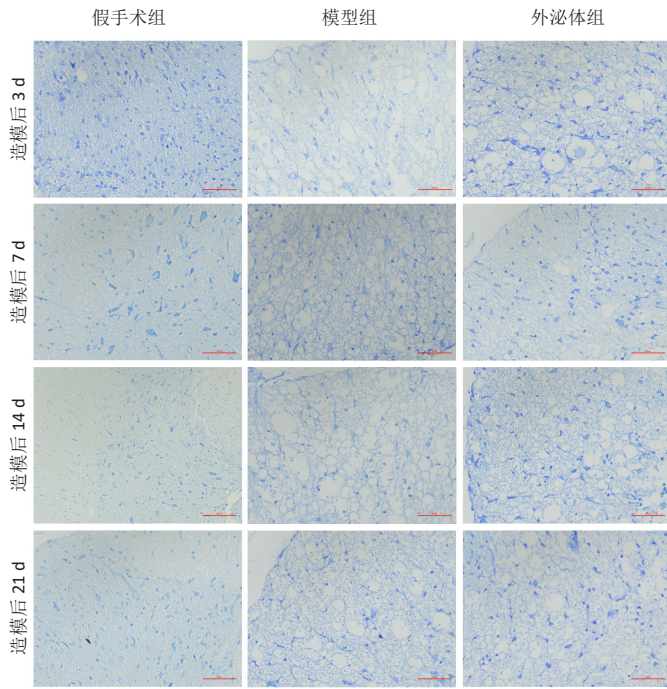
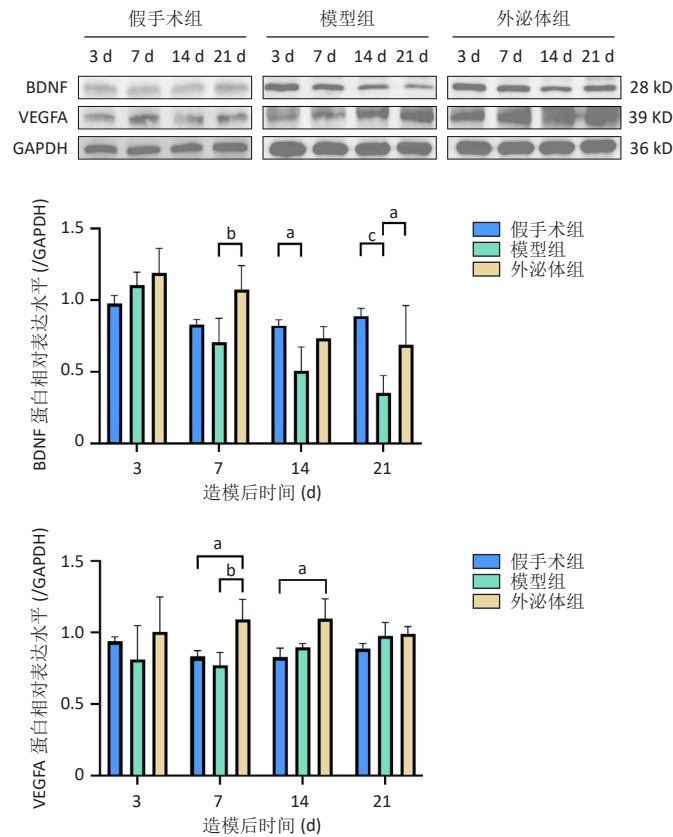
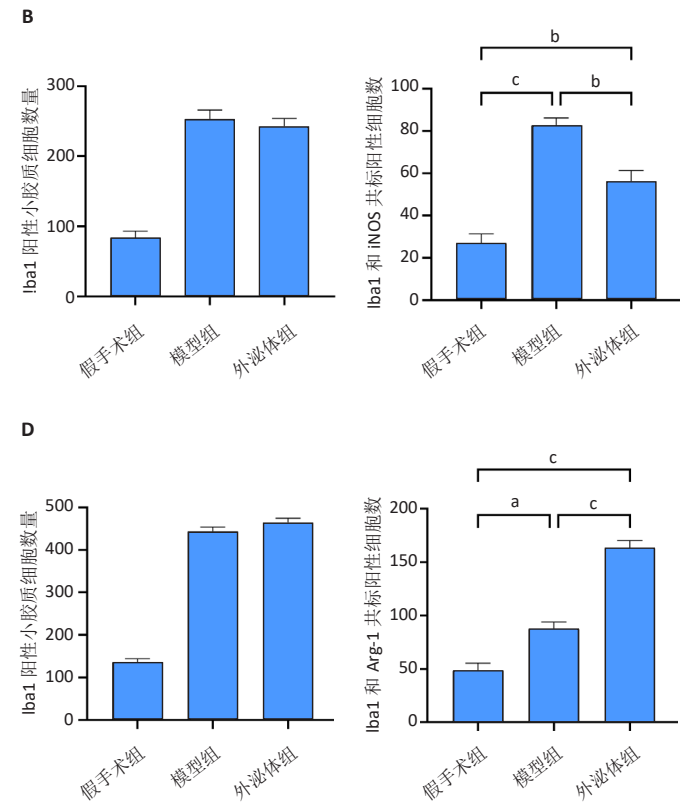
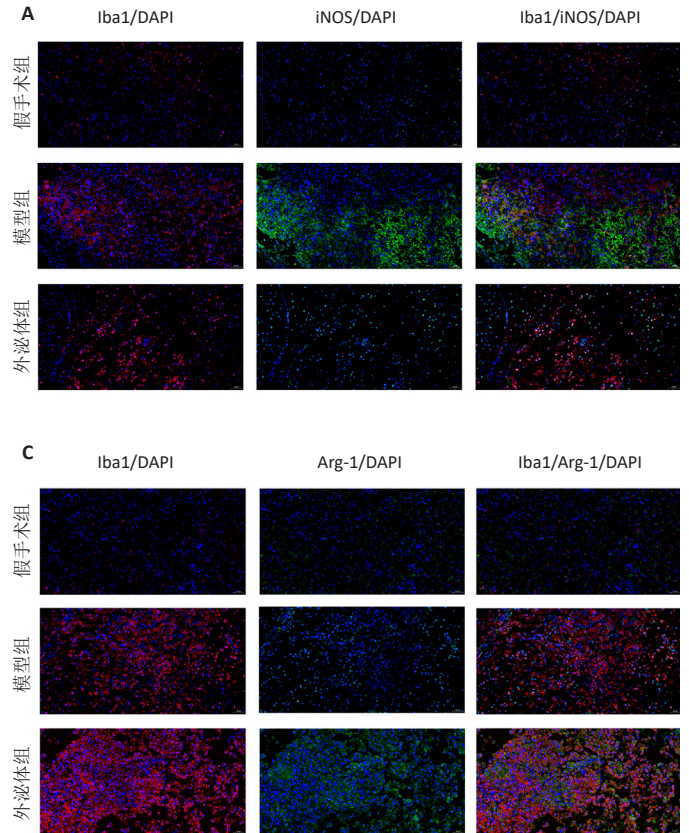


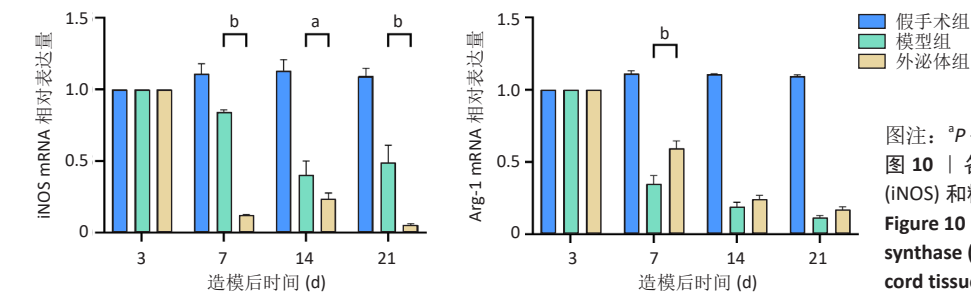
图 7 | 各组大鼠脊髓组织尼氏染色 (×20)
Figure 7 | Nissl staining of the spinal cord tissue of rats of various groups (×20)



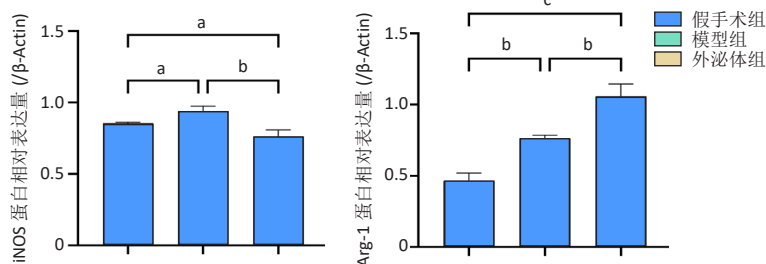
图注: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$.
图 8 | 各组大鼠脊髓组织中脑源性神经营养因子 (BDNF) 和血管内皮生长因子 A (VEGFA) 蛋白表达
Figure 8 | Expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and vascular endothelial growth factor A (VEGFA) proteins in spinal cord tissues of rats from each group



图注: 图 A, B 为 iNOS 与 Lba1 双重免疫荧光染色及定量分析, C, D 为 Arg-1 与 Lba1 双重免疫荧光染色及定量分析. ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$.
图 9 | 各组大鼠脊髓组织诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 和精氨酸酶 1 (Arg-1) 的免疫荧光染色 (×20)
Figure 9 | Immunofluorescence staining of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and arginase 1 (Arg-1) in the spinal cord tissue of rats from each group (×20)



图注: ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.0001$ 。
图 10 | 各组大鼠脊髓组织诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 和精氨酸酶 1(Arg-1) mRNA 表达
Figure 10 | mRNA expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and arginase 1 (Arg-1) in the spinal cord tissue of rats from each group



图注: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.0001$ 。
图 11 | 各组大鼠脊髓组织诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 和精氨酸酶 1(Arg-1) 的蛋白表达
Figure 11 | Protein expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and arginase 1 (Arg-1) in the spinal cord tissue of rats from each group

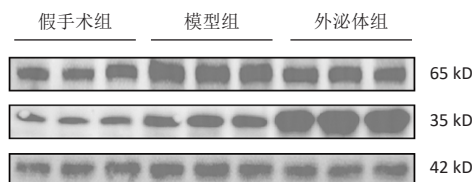
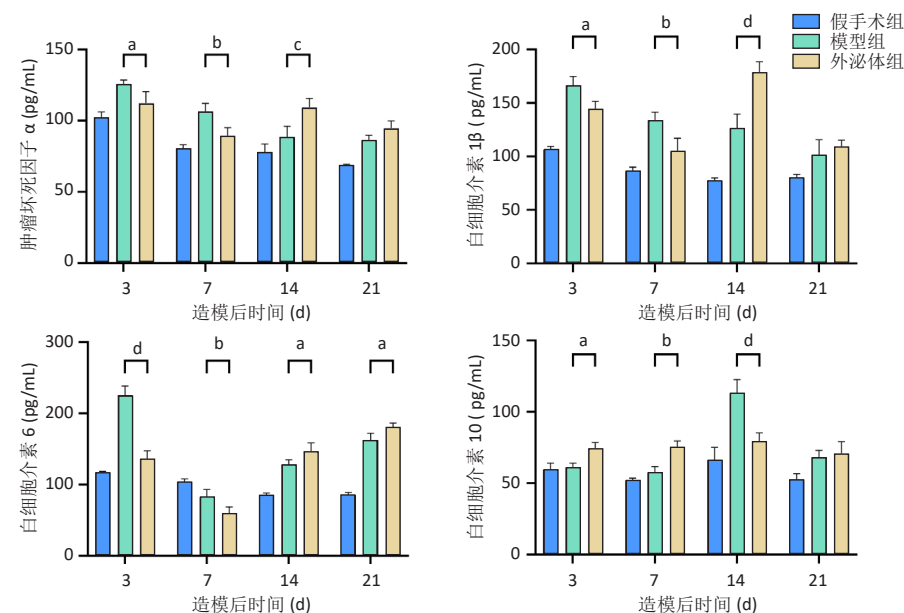


Figure 11 | Protein expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and arginase 1 (Arg-1) in the spinal cord tissue of rats from each group



图注: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$, ^d $P < 0.0001$ 。
图 12 | 各组大鼠脊髓组织中炎症因子水平
Figure 12 | Inflammatory factor levels in spinal cord tissue of rats from each group

3 讨论 Discussion

脊髓损伤是一种严重的中枢神经系统疾病, 开发新的有效治疗方法对于改善脊髓损伤患者的预后具有重要意义。多项研究表明, 通过调控小胶质细胞从 M1 型向 M2 型转化, 能够有效减少炎症损害并促进脊髓修复^[23-25]。小胶质细胞是中枢神经系统中的常驻免疫细胞, 具有双重作用: 既可以在损伤初期发挥保护作用, 也可以通过持续的 M1 型激活加剧炎症反应和组

织损伤。M1 型小胶质细胞具有促炎特性, 分泌大量的促炎因子如肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 1β , 导致神经元的进一步损伤^[26]。相反, M2 型小胶质细胞具有抗炎和促修复特性, 不但能够分泌抗炎因子如白细胞介素 10 和转化生长因子 β , 促进组织修复和再生, 其来源外泌体还能够通过携带 miR-124 等分子, 抑制神经炎症并促进神经再生^[27]。此外, 这些外泌体还可以通过减少 A1 型星形胶质细胞

的激活, 进一步保护神经组织^[28]。因此, 调控小胶质细胞从 M1 型向 M2 型转化的策略在脊髓损伤治疗中显示出巨大的潜力。例如, 纳米颗粒递送的 IRF5 siRNA 能够下调 M1 型小胶质细胞相关基因的表达, 显著减少 M1 型小胶质细胞的数量, 同时增加 M2 型小胶质细胞的数量, 从而减少神经炎症、抑制脱髓鞘并促进伤口愈合^[23]。此外, 通过全身或脊髓内给药白细胞介素 4 能够增加抗炎因子白细胞介素 10 水平, 并促进小胶质细胞向 M2 型转化, 从而减轻脊髓损伤后的炎症反应^[26-27]。

此研究旨在探究人脐带间充质干细胞来源外泌体在脊髓损伤修复中的应用潜力及机制。人脐带间充质干细胞来源外泌体作为一种新型的治疗策略, 具有多方面的优势。例如, 与直接使用干细胞相比, 使用外泌体具有更低的免疫原性和致癌风险^[29-30]。此外, 外泌体的小尺寸和生物膜特性使得它们能更有效地穿越生物屏障, 从而提高治疗效果^[31-32]。因此, 人脐带间充质干细胞来源外泌体有望成为治疗脊髓损伤的有效手段之一。

此研究使用大鼠脊髓损伤模型, 对比分析了人脐带间充质干细胞来源

外泌体与模型组在神经功能恢复、神经组织损伤程度、神经保护因子表达等方面的差异。研究发现，外泌体组在 BBB 评分、苏木精-伊红染色和尼氏染色等指标上均表现出显著的神经功能恢复和神经组织保护效果。研究结果还观察到外泌体处理能够增加脊髓组织中神经保护因子如脑源性神经营养因子和血管内皮生长因子的表达，这些因子对神经细胞的存活和再生至关重要，人脐带间充质干细胞来源外泌体通过提升这些保护因子的表达，可能促进了损伤神经细胞的修复和再生。此外，外泌体促进了脊髓组织中小胶质细胞从 M1 型向 M2 型转化，从而发挥抑制炎症损伤的作用，这些发现进一步支持了外泌体在抑制炎症损伤和促进组织修复中的双重作用。另外，为确保治疗因子能够准确到达损伤部位并发挥作用还需要开发更高效的递送系统，此研究在神经内镜下进行鞘内注射外泌体，鞘内注射可以使外泌体快速到达损伤部位发挥作用，与临床上腰穿原理相同，有利于临床转化，同时神经内镜下进行操作又减少了目视注射对脊髓组织造成的不必要损害。然而，此研究也存在一定局限性，例如仅在动物模型中进行研究，尚需进一步研究其在人类脊髓损伤治疗中的效果和安全性。此外由于外泌体的时效性和免疫细胞浸润可能发生变化，需探索治疗中期疗效监测的必要性，以及是否需要加强注射。因此，基于此研究的发现，建议未来的研究应关注以下几个方面：①探索人脐带间充质干细胞来源外泌体促进脊髓损伤修复的其他可能机制；②研究不同剂量和给药方式对治疗效果的影响；③开展临床前研究，以评估其在人类脊髓损伤治疗中的潜在应用。

综上所述，此研究证明了人脐带间充质干细胞来源外泌体通过促进小胶质细胞从 M1 型向 M2 型转化，显著促进了脊髓损伤大鼠的神经功能恢复，并减轻了炎症反应。鞘内注射外泌体作为一种新的治疗策略，显示出在脊髓损伤修复中的巨大潜力。未来的研究应进一步验证其在临床应用中的可行性，以期脊髓损伤患者提供更加有效的治疗手段。

致谢：感谢新疆医科大学动物实验中心李志强及其他各位老师的指导与帮助。

作者贡献：郑伊桐负责实验实施、论文撰写，刘文负责实验数据分析处理，阿木吉特负责细胞培养、指标检测，秦虎负责数据和文章的校对，汪永新负责实验设计。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让：文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范：该文章撰写遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》；文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次文字和图表查重；文章经小同行外审专家双盲审稿，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- YU T, YANG LL, ZHOU Y, et al. Exosome-mediated repair of spinal cord injury: a promising therapeutic strategy. *Stem Cell Res Ther.* 2024;15(1):6.
- STERNER RC, STERNER RM. Immune response following traumatic spinal cord injury: Pathophysiology and therapies. *Front Immunol.* 2023;13:1084101.
- KARSY M, HAWRYLUK G. Modern Medical Management of Spinal Cord Injury. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2019;19(9):65.
- ROWLAND JW, HAWRYLUK GW, KWON B, et al. Current status of acute spinal cord injury pathophysiology and emerging therapies: promise on the horizon. *Neurosurg Focus.* 2008;25(5):E2.
- SHECHTER R, MILLER O, YOVEL G, et al. Recruitment of beneficial M2 macrophages to injured spinal cord is orchestrated by remote brain choroid plexus. *Immunity.* 2013;38(3):555-569.
- LUKACOVA N, KISUCKA A, KISS BIMBOVA K, et al. Glial-Neuronal Interactions in Pathogenesis and Treatment of Spinal Cord Injury. *Int J Mol Sci.* 2021;22(24):13577.
- FADEN AI, WU J, STOICA BA, et al. Progressive inflammation-mediated neurodegeneration after traumatic brain or spinal cord injury. *Br J Pharmacol.* 2016;173(4):681-691.
- SROGA JM, JONES TB, KIGERL KA, et al. Rats and mice exhibit distinct inflammatory reactions after spinal cord injury. *J Comp Neurol.* 2003;462(2):223-240.
- QU WS, TIAN DS, GUO ZB, et al. Inhibition of EGFR/MAPK signaling reduces microglial inflammatory response and the associated secondary damage in rats after spinal cord injury. *J Neuroinflammation.* 2012;9:178.
- XU GY, XU S, ZHANG YX, et al. Cell-Free Extracts from Human Fat Tissue with a Hyaluronan-Based Hydrogel Attenuate Inflammation in a Spinal Cord Injury Model through M2 Microglia/Macrophage Polarization. *Small.* 2022;18(17):e2107838.
- ANWAR MA, AL SHEHABI TS, EID AH. Inflammogenesis of Secondary Spinal Cord Injury. *Front Cell Neurosci.* 2016;10:98.
- GILGUN-SHERKI Y, MELAMED E, OFFEN D. Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology.* 2001;40(8):959-975.
- YANG Y, PANG M, CHEN YY, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells to treat spinal cord injury in the early chronic phase: study protocol for a prospective, multicenter, randomized, placebo-controlled, single-blinded clinical trial. *Neural Regen Res.* 2020;15(8):1532-1538.
- LIU J, LIN M, QIAO F, et al. Exosomes Derived from lncRNA TCTN2-Modified Mesenchymal Stem Cells Improve Spinal Cord Injury by miR-329-3p/IGF1R Axis. *J Mol Neurosci.* 2022;72(3):482-495.
- FAN L, LIU C, CHEN X, et al. Exosomes-Loaded Electroconductive Hydrogel Synergistically Promotes Tissue Repair after Spinal Cord Injury via Immunoregulation and Enhancement of Myelinated Axon Growth. *Adv Sci (Weinh).* 2022;9(13):e2105586.
- AN N, YANG J, WANG H, et al. Mechanism of mesenchymal stem cells in spinal cord injury repair through macrophage polarization. *Cell Biosci.* 2021;11(1):41.
- LIU WZ, MA ZJ, KANG XW. Current status and outlook of advances in exosome isolation. *Anal Bioanal Chem.* 2022;414(24):7123-7141.
- VALADI H, EKSTRÖM K, BOSSIOS A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol.* 2007;9(6):654-659.
- YATES AG, ANTHONY DC, RUITENBERG MJ, et al. Systemic Immune Response to Traumatic CNS Injuries-Are Extracellular Vesicles the Missing Link? *Front Immunol.* 2019;10:2723.
- TIAN F, YANG J, XIA R. Exosomes Secreted from circZFHX3-modified Mesenchymal Stem Cells Repaired Spinal Cord Injury Through mir-16-5p/IGF-1 in Mice. *Neurochem Res.* 2022;47(7):2076-2089.
- DONG Y, YONG VW. Oxidized phospholipids as novel mediators of neurodegeneration. *Trends Neurosci.* 2022;45(6):419-429.
- BASSO DM, BEATTIE MS, BRESNAHAN JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma.* 1995;12(1):1-21.
- FU SP, CHEN SY, PANG QM, et al. Advances in the research of the role of macrophage/microglia polarization-mediated inflammatory response in spinal cord injury. *Front Immunol.* 2022;13:1014013.
- XUE MT, SHENG WJ, SONG X, et al. Atractylenolide III ameliorates spinal cord injury in rats by modulating microglial/macrophage polarization. *CNS Neurosci Ther.* 2022;28(7):1059-1071.
- MA H, WANG C, HAN L, et al. Tofacitinib Promotes Functional Recovery after Spinal Cord Injury by Regulating Microglial Polarization via JAK/STAT Signaling Pathway. *Int J Biol Sci.* 2023;19(15):4865-4882.
- BROCKIE S, HONG J, FEHLINGS MG. The Role of Microglia in Modulating Neuroinflammation after Spinal Cord Injury. *Int J Mol Sci.* 2021;22(18):9706.
- ZHANG J, HU D, LI L, et al. M2 Microglia-derived Exosomes Promote Spinal Cord Injury Recovery in Mice by Alleviating A1 Astrocyte Activation. *Mol Neurobiol.* 2024;61(9):7009-7025.
- HAN M, YANG H, LU X, et al. Three-Dimensional-Cultured MSC-Derived Exosome-Hydrogel Hybrid Microneedle Array Patch for Spinal Cord Repair. *Nano Lett.* 2022;22(15):6391-6401.
- HAN C, SUN X, LIU L, et al. Exosomes and Their Therapeutic Potentials of Stem Cells. *Stem Cells Int.* 2016;2016:7653489.
- YU B, SHAO H, SU C, et al. Exosomes derived from MSCs ameliorate retinal laser injury partially by inhibition of MCP-1. *Sci Rep.* 2016;6:34562.
- LV CX, DUAN H, WANG S, et al. Exosomes Derived from Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Promote Proliferation of Allogeneic Endometrial Stromal Cells. *Reprod Sci.* 2020;27(6):1372-1381.
- QU Q, PANG Y, ZHANG C, et al. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells inhibit vein graft intimal hyperplasia and accelerate reendothelialization by enhancing endothelial function. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):133.

(责任编辑: MZH, ZN, QY, ZLJ)