光生物调节对中度创伤性脑损伤小鼠损伤修复的影响

陈桂琳[1,2]，马珩钞[1,2]，徐振华[1,2]，江小霞[3]，张　军[1]
[1]解放军总医院第一医学中心神经外科医学部，北京　100853；[2]解放军医学院，北京　100853；[3]军事科学院军事医学研究院，北京　100850

摘要：背景　创伤性脑损伤(traumatic brain injury，TBI)是一种具有高致残率、高致死率的神经系统疾病，其治疗手段亟待创新。光生物调节(photobiomodulation，PBM)是一种新的非侵入性物理疗法，但目前其对中度TBI的作用机制及疗效参数缺乏系统性研究。**目的**　探究PBM对中度TBI小鼠损伤修复的影响及其可能机制。**方法**　36只8周龄的雄性C57BL/6小鼠随机采用随机数表法分为假手术组(Sham组)、TBI组和PBM组。TBI组和PBM组采用控制皮质冲击损伤法构建中度TBI模型；Sham组仅行相同伤口处理，不进行脑皮质冲击损伤；PBM组接受1 064 nm光治疗，功率密度为25 mW/cm²，每天12 min，治疗时间14 d。行为学上，通过疲劳转棒、Y迷宫等行为学试验评估小鼠运动和认知功能。组织学上，通过免疫荧光染色观察脑组织冰冻切片胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein，GFAP)、微管相关蛋白2(microtubule-associated protein 2，MAP2)表达变化。分子生物学上，采用实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction，RT-qPCR)检测损伤区周围脑组织中脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor，BDNF)、星形胶质细胞肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor α，TNF-α)、白细胞介素-1β(interleukin-1β，IL-1β)、IL-6的表达变化。**结果**　在行为学方面，疲劳转棒实验显示，与TBI组比较，PBM组的平均跌落时间延长，运动距离显著增加，掉落时速度更快($P<0.05$)；Y迷宫实验显示，与TBI组比较，PBM组进入新异臂探索的时间和次数均增加($P<0.05$)。在组织学方面，TBI组损伤区脑组织MAP2的平均荧光强度显著低于Sham组和PBM组，GFAP的平均荧光强度显著高于Sham组和PBM组，差异均有统计学意义(P均<0.05)。在分子生物学方面，RT-qPCR结果显示，与TBI组比较，PBM组小鼠损伤区的BDNF相对mRNA水平显著升高($P<0.05$)；在细胞层面，PBM治疗后炎性活化的星形胶质细胞中TNF-α、IL-1β、IL-6的表达显著下降($P<0.05$)。**结论**　1 064 nm PBM可能通过促进神经元损伤修复、抑制星形胶质细胞活化、降低炎症因子水平来改善TBI后的运动和认知功能。

关键词：创伤性脑损伤；光生物调节；损伤修复；神经炎症；星形胶质细胞；小鼠
中图分类号：R651. 1+5　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**2095-5227(2025)07-0672-08
DOI：10.12435/j.issn.2095-5227.25033101
引用本文：陈桂琳，马珩钞，徐振华，等.光生物调节对中度创伤性脑损伤小鼠损伤修复的影响［J］.解放军医学院学报，2025，46（7）：672−679.

Effects of photobiomodulation on damage repair after moderate traumatic brain injury

CHEN Guilin[1,2], MA Hengchao[1,2], XU Zhenhua[1,2], JIANG Xiaoxia[3], ZHANG Jun[1]
[1]Department of Neurosurgery, the First Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China; [2]Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China; [3]Beijing Institute of Basic Medical Sciences, Beijing 100850, China
Corresponding author: ZHANG Jun. Email: junzhang301@163.com

Abstract: Background　Traumatic brain injury (TBI), as a neurological disorder characterized by high disability and mortality rates, demands urgent innovation in therapeutic approaches. Although photobiomodulation (PBM) demonstrates potential as a novel non-invasive physical therapy, current research lacks systematic investigation into its mechanisms of action and efficacy parameters specifically for moderate traumatic brain injury. **Objective**　To investigate the neuroprotective effects and potential mechanisms of 1064 nm PBM in moderate TBI models. **Methods**　Thirty six 8-week-old male C57BL/6 mice were randomized into sham group, TBI group, and PBM group. The TBI group and the PBM group were established using controlled cortical impact injury to model moderate brain injury, while the sham group underwent identical craniotomy procedures without cortical impact induction. The PBM group received daily 1064 nm irradiation (25 mW/cm², 12 min/day) for 14 consecutive days. Behavioral assessments employing rotarod fatigue testing and Y-maze paradigms were implemented to quantify locomotor coordination and spatial working memory, while histopathological evaluation utilizing immunofluorescence staining on cryopreserved cerebral

收稿日期：2025-03-31
基金项目：国家自然科学基金面上项目(81971167)
第一作者：陈桂琳，硕士。Email: chenguilin301@163.com
通信作者：张军，博士，主任医师，教授。Email: junzhang301@163.com

sections enabled quantitative analysis of glial fibrillary acidic protein (GFAP) astrogliosis and microtubule-associated protein 2 (MAP2) neuronal integrity, complemented by molecular profiling through quantitative real-time PCR (RT-qPCR) that systematically measured transcriptional alterations in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and astrocyte-mediated pro-inflammatory cytokines including tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), and interleukin-6 (IL-6) within peri-contusional parenchyma. **Results** In behavioral tests, the fatigue rotarod test showed that compared to the TBI group, the PBM group exhibited a longer average fall latency, a significantly increased travel distance, and a higher falling speed (P<0.05). In the Y-maze test, compared to the TBI group, the PBM group demonstrated increased time spent exploring the novel arm and more entries into the novel arm (P<0.05). Histologically, the TBI group exhibited significantly lower mean fluorescence intensity of MAP2 and significantly higher GFAP fluorescence intensity in the injured brain region compared to both the sham and PBM groups (all P< 0.05). Molecular analysis by RT-qPCR showed that the PBM group had significantly increased BDNF mRNA expression levels in the injured area relative to the TBI group (P<0.05), while cellular studies revealed that PBM treatment significantly reduced the expression of pro-inflammatory cytokines TNF-α, IL-1β and IL-6 in activated astrocytes (P<0.05). **Conclusion** 1064 nm PBM may improve motor and cognitive functions after moderate TBI by promoting the repair of neuronal damage, inhibiting the activation of astrocytes, as well as decreasing their levels of pro-inflammatory factors.

Keywords: traumatic brain injury; photobiomodulation; damage repair; neuroinflammation; astrocyte; mice

Cited as: Chen GL, Ma HCH, Xu ZHH, et al. Effects of photobiomodulation on damage repair after moderate traumatic brain injury[J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2025, 46(7): 672-679.

创伤性颅脑损伤(traumatic brain injury，TBI)是一个重要的全球性公共卫生问题，具有高发病率、高致死率、高致残率等特点。美国每年约有170万人遭受TBI，25个发达国家TBI平均致死率为11.7/100 000[1]；中国人群TBI的致死率为13/100 000[2]。根据报道，轻型TBI患者在受伤后3个月内，记忆减退和注意力障碍的发生率为40%～60%；中、重型患者的认知功能障碍发生率显著升高(≥90%)，与损伤程度呈正相关[3]。TBI后可引起长期的认知功能障碍和情绪紊乱[4-7]，包括易怒、有攻击性、焦虑、抑郁、注意力和记忆力下降、睡眠障碍、易疲倦等，是阿尔茨海默病、帕金森病、慢性创伤性脑病等慢性神经退行性疾病的重要危险因素[8-9]。目前TBI的治疗方法包括手术、药物治疗、对症支持治疗、高压氧疗和经颅磁刺激等[10]，但这些方法存在一些弊端，如创伤较大、不良反应多、无法恢复受损的神经功能、治疗过程较为复杂等。因此，迫切需要一种更实用和有效的TBI治疗方法。

光生物调节(photobiomodulation，PBM)是一种在神经科学领域逐渐兴起的非侵入式物理疗法，包括红光(600～670 nm)和近红外光(800～1 100 nm)[11-12]。有研究表明，近红外的光生物调节作用对脊髓损伤和外周神经损伤具有神经保护作用[13-14]，也有学者将PBM用于TBI的治疗，目前研究较多的为810 nm激光[15]。但另有研究表明，1 064 nm波长的发光二极管(light emitting diode，LED)相比其他波长有更强的组织穿透能力[16-17]，还有研究提示其对神经退行性疾病具有保护作用[15,18-19]，总体上1 064 nm LED对TBI后脑高级功能尤其是认知功能调节作用的研究较少。本研究旨在观察1 064 nm LED对中度TBI小鼠损伤修复和星形胶质细胞活化的影响，为PBM治疗TBI的临床转化提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

36只6～8周龄清洁级健康C57BL/6小鼠，饲养于室温[(22±2)℃]，相对湿度50%～60%，通风良好，自然昼夜规律的环境中(光照12 h/黑暗12 h)，自由获取水和食物。按随机数字表法将小鼠分为假手术组(Sham组)、创伤性脑损伤组(TBI组)、光生物调节治疗组(PBM组)，每组12只。Sham组仅开脑窗，不进行TBI造模；TBI组放置于1 064 nm LED光照下，但不开机；PBM组接受TBI造模和1 064 nm LED光照治疗。所有实验方案均经解放军军事医学研究院实验动物管理与使用委员会批准(IA-CUC-DWZX-2021-759)。

1.2 小鼠TBI模型的建立

采用经典的控制性皮质撞击(controlled cortical impact，CCI)法构建小鼠TBI模型。每只小鼠根据体质量腹腔注射2,2,2-三溴乙醇(240 mg/kg)进行麻醉。动物被放置在附着于温控加热垫(37℃)的立体定向框架上，头皮脱毛，75%乙醇消毒后沿脑正中线左侧切开头皮。暴露颅骨后，在皮质上进行直径为4 mm的颅骨钻孔术(3.0 mm AP和2.0 mm ML to bregma)。气动操作的金属冲击器(直径3 mm)以3.5 m/s的速度撞击大脑，到达硬脑膜层以下1.0 mm的深度，并在大脑中停留400 ms。止血及碘伏消毒后缝合伤口。

1.3　细胞培养

小鼠星形胶质细胞C8-DA1培养于含10%胎牛血清(Gibco公司，美国)和1%青霉素/链霉素的DMEM培养基(Gibco公司，美国)中，置于37℃、5% CO_2培养箱中培养。细胞在80%～90%融合时传代。

1.4　光生物调节治疗

动物PBM处理：将小鼠置于光照箱内，小鼠自由活动。调节光照装置，用积分球光谱仪测量光照强度为25 mW/cm^{2}时固定光照仪器。PBM组从TBI后4 h开始接受光照每天1次，具体参数：LED连续波长1 064 nm，照射12 min，能量密度18 J/cm^2，治疗周期14 d。Sham组和TBI组小鼠置于光照箱同样的位置，但不打开电源。

细胞分组及PBM处理：将C8-D1A细胞随机分为3组：(1)Sham组，即对照组；(2)脂多糖(lipopolysaccharide，LPS)组，即使用100 ng/mL的LPS进行刺激，构建体外炎症模型；(3)PBM组，即在LPS刺激后12 h，使用1 064 nm波长的LED进行连续照射，功率密度为12 mW/cm^2，能量密度为4 J/cm^2，间隔12 h后进行收样。

1.5　行为学检测

1.5.1　疲劳转棒实验　为检测小鼠运动协调与平衡能力，对小鼠进行疲劳转棒试验。首先对小鼠进行2 d的训练：第1天训练，设置转速为5 r/min，时间5 min；第2天训练，设置转速为40 r/min，时间5 min；每天训练4次，上午2次，下午2次，每两次实验之间至少相隔30 min，训练期间小鼠掉落则再次将小鼠放置在转棒上。第3天测试，设置转速为40 r/min，时间上限为5 min，记录小鼠在棒时间、运动距离。注意每一轮实验后，都用75%乙醇喷洒擦拭转棒，避免留有其他鼠的气味。

1.5.2　Y迷宫实验　Y迷宫试验利用小鼠对新异环境的探索天性检测其空间识别记忆能力[20]。Y迷宫实验装置由3个完全相同的臂组成，分别标记为A臂、B臂、C臂，各个臂之间夹角为120°。小鼠首先在实验场地适应30 min，指定一个区域为新异臂，并将其封闭，将小鼠放在A臂的远端，面对迷宫中心。让小鼠在迷宫中自由探索5 min。1 h后打开新异臂的挡板，进入正式测试阶段，让小鼠重新在Y迷宫中进行探索5 min，记录小鼠进入新异臂的时间及次数。

自发性交替行为：测试时将小鼠头部朝Y迷宫中央置于A臂起始端，赋予其8 min自主探索权限。通过视频追踪系统连续记录运动轨迹，量化分析臂间转换次数与有效交替次数。交替百分比(%)=(交替次数/总探索次数-2)×100%。

每只动物实验结束后清除箱底粪便，75%乙醇喷洒箱底并用洁净纱布抹干，以避免前次实验动物的残留气味影响本次实验。

1.6　组织分子学检测

1.6.1　脑组织取材　每只小鼠腹腔注射5 mL 2,2,2-三溴乙醇进行麻醉。将麻醉的小鼠仰卧固定在解剖板上，用剪刀沿胸骨正中线剪开皮肤，暴露胸腔，用镊子轻轻拉开胸腔，暴露心脏。将头皮针针头插入左心室，可见回血，用剪刀在右心耳处剪一个小口。20 mL注射器吸取0.9%氯化钠注射液，缓慢推动注射器，以2～3 mL/min的速度灌注0.9%氯化钠注射液，直到肝和肺部完全变白。20 mL注射器吸取4%多聚甲醛溶液，缓慢推动注射器，以2～3 mL/min的速度进行灌注，观察小鼠四肢肌肉僵直，表明固定液已充分灌注。灌注完成后，用剪刀沿冠状缝剪开颅骨，暴露脑组织，用镊子和剪刀小心地将脑组织完整取出，放入预冷的4%多聚甲醛溶液中，4℃固定24 h。

1.6.2　免疫荧光染色　小鼠麻醉后进行心脏灌注取材，并使用4%多聚甲醛固定脑组织，分别使用15%和30%的蔗糖溶液进行梯度脱水，使用包埋剂包埋后在-20℃下进行厚度为35 μm的冷冻切片。在孔板中加入封闭液，室温封闭1 h后加入稀释好的一抗(比例为1∶200) 4℃过夜孵育，然后使用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline，PBS)洗涤脑片3～5次，每次5 min。加入相应的二抗(比例为1∶200)继续室温孵育1 h，PBS溶液洗涤3次以上，每次不低于5 min。将脑片用枪头吸出至干净的载玻片上，使用滤纸缓慢吸干脑片周围的水分后再滴加4’,6-二氨基-2-苯基吲哚(4’,6-diamidino-2-phenylindole，DAPI)(Sigma公司，美国)抗荧光淬灭剂，轻轻盖上盖玻片，避免产生气泡。将制备好的脑片置于荧光显微镜下观察，拍照记录，4℃保存。所用的一抗为胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein，GFAP) (Millipore公司，德国)、微管相关蛋白2(microtubule-associated protein 2，MAP2) (Abcam公司，美国)，二抗为琥珀酰亚胺酯488(alexa 488)(Jackson Immuno Research公司，美国)和花青染料3(cyanine3，Cy3) (Jackson Immuno Research公司，美国)。采用ImageJ软件分析平均荧光强度。

1.6.3　RT-qPCR　使用Trizol试剂(Invitrogen公司，美国)将含有脑组织样本溶解，采用氯仿提取和异丙醇沉淀法提取总RNA，然后进行反转录。每个扩增循环包括95℃(5 min)的初始步骤，然后40个循环的95℃变性(15 s)，60℃退火(1 min)，72℃延伸(30 s)。以GAPDH、β-actin作为内参对照，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor α，TNF-α)、白细胞介素-1β(interleukin 1β，IL-1β)、IL-6、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor，BDNF)相对于内参基因的表达量。引物序列由上海生工生物工程股份有限公司设计合成(表1)。

表1　引物序列

Tab. 1　Primer sequences

引物名称	引物序列(5'-3')
β-actin	F:GGCTGTATTCCCCTCCATCG R:GCCAGGTAACAATGCCATG
BDNF	F:CCCATGAAAGAAGTAAACGTCC R:CCTTATGGTTTTCTTCGTTGGG
TNF-α	F:GCACTAGCCAGGAGGGAGAACAC R:CCAGTGAGTGAAAGGGACAGAAC
IL-1β	F:TCGCAGCAGCACATCAACAAGAG R:AGGTCCACGGGAAAGACACAGG
IL-6	F:TCTGGAGCCCACCAAGAACGATAG R:GTCACCAGCATCAGTCCCAAGAAG

1.7　统计学分析

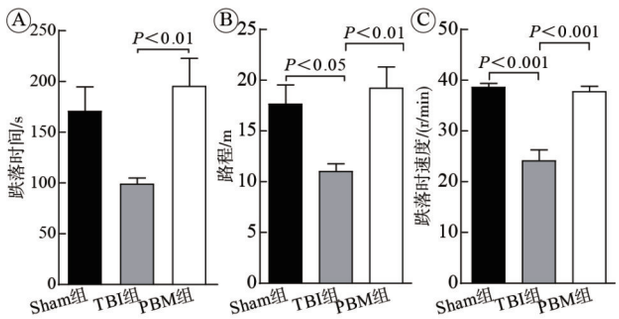
使用GraphPad Prism 9.5软件对实验数据进行统计和作图，经Shapiro-Wilk正态性检验，所有数据符合正态分布，以$\bar{x}\pm s$表示，三组间比较采用单因素方差分析，$P<0.05$为差异有统计学意义。所有实验均独立重复3次。

2　结果

2.1　行为学检测结果

采用控制性皮质撞击法构建小鼠TBI模型，撞击速度3.5 m/s，深度为到达硬脑膜层以下1.0 mm，在大脑中停留400 ms。分别在不同时间点对三组小鼠进行行为学检测。TBI后第7天的疲劳转棒实验结果显示，与TBI组比较，PBM组的平均跌落时间延长($P<0.01$)，运动距离显著增加($P<0.01$)，掉落时速度更快($P<0.001$，图1)。提示PBM治疗后小鼠的运动耐力和运动协调性得到改善。

TBI后第17天，采用Y迷宫实验评估1 064 nm PBM对TBI小鼠空间认知能力的影响，见图2。与

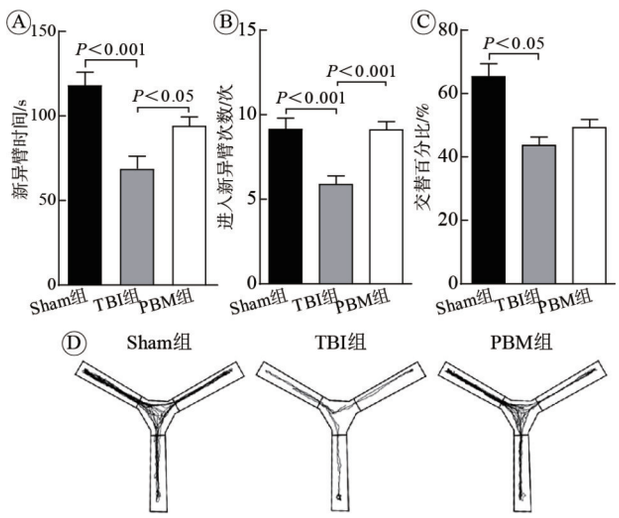


A：三组小鼠的平均跌落时间；B：三组小鼠在转棒上运动的距离；C：三组小鼠从转棒上掉落时的速度。

图1　疲劳转棒实验显示PBM改善了TBI小鼠的运动协调功能

Fig. 1　Rotarod test showed that PBM improved motor coordination in TBI mice

Sham组比较，TBI组的新异臂探索时间显著下降($P<0.001$)，进入新异臂的次数减少($P<0.001$)，经过PBM治疗后，小鼠的新异臂探索时间($P<0.05$)和探索次数($P<0.001$)均提高。TBI后小鼠的交替百分比显著下降($P<0.05$)，PBM治疗后无显著变化($P>0.05$)。图2D是三组小鼠在Y迷宫中的运动路线图。以上结果表明，TBI后小鼠的空间记忆能力受损，经过PBM治疗后，小鼠的空间记忆能力得到显著提高。



A：三组小鼠进入新异臂的时间；B：三组小鼠进入新异臂的次数；C：三组小鼠在Y迷宫中轮转的交替百分比。

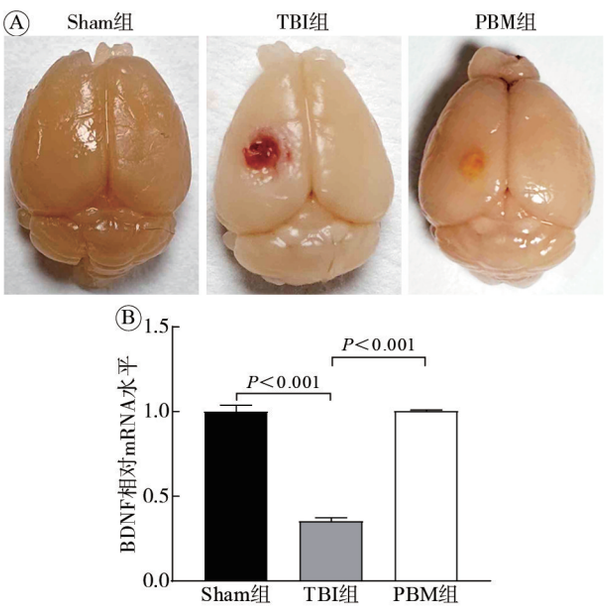
图2　Y迷宫实验显示PBM改善了TBI小鼠的空间认知功能

Fig. 2　Y-maze experiment showed that PBM improved spatial cognitive function in TBI mice

2.2　组织与分子学检测结果

TBI后第7天分别对三组小鼠进行脑组织取材(图3A)，PBM组小鼠伤口处的面积和深度均显著轻于TBI组。为进一步探究1 064 nm LED对BDNF的影响，通过RT-qPCR检测BDNF的表达，结果

见图3B，TBI后小鼠损伤区皮质周围组织表达的BDNF显著减少($P<0.001$)，经过PBM治疗后，BDNF的表达显著上调($P<0.001$)。



A：三组小鼠第7天脑组织取材外观图；B：RT-qPCR显示第4天损伤区皮质的BDNF的mRNA水平。

图3　PBM促进脑组织损伤修复

Fig. 3　PBM promoted the repair of brain tissue damage

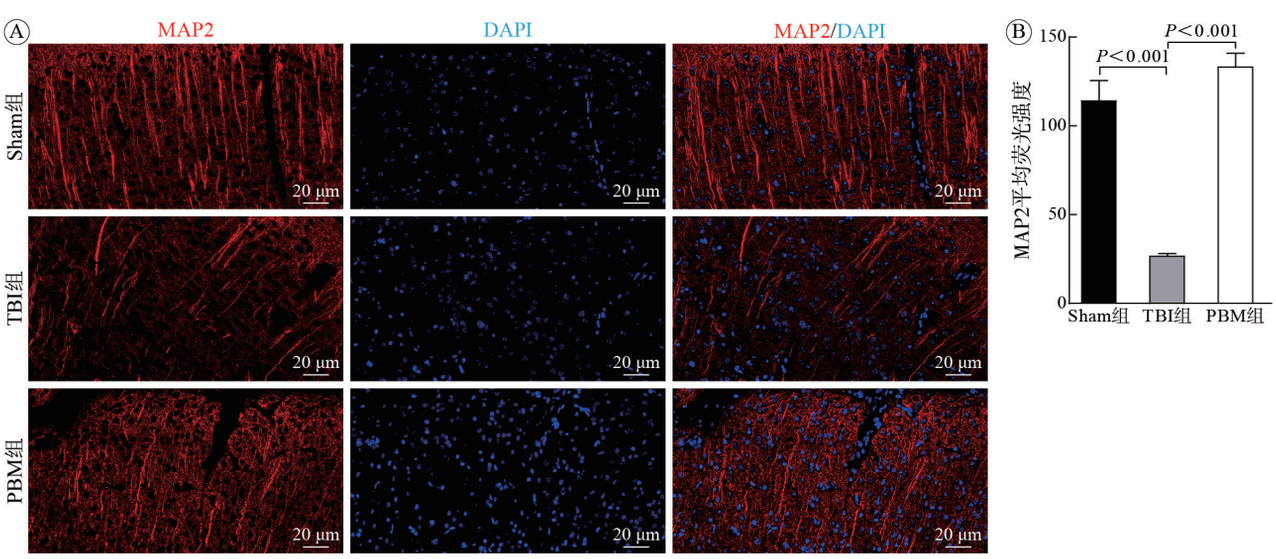
为了量化成熟的神经元，我们在损伤后的第4天对损伤区脑组织进行MAP2染色和平均荧光强度统计(图4)。结果显示，在TBI后的第4天，TBI组损伤区脑组织的神经元大多断裂、杂乱，且MAP2染色强度均显著低于Sham组($P<0.001$)，PBM组神经元的连续性恢复，MAP2染色荧光强度定量与Sham组相当($P<0.001$)。

在体内实验中，我们使用GFAP标记三组脑组织中星形胶质细胞。免疫荧光染色和强度定量数据显示，在第4天TBI组的损伤区观察到星形胶质细胞增大、分支扩大的现象，GFAP表达水平升高，荧光强度较Sham组增加($P<0.001$)，而PBM组的GFAP标记的荧光强度降低至Sham组水平($P<0.001$)，形态接近静息状态(图5)。

在体外实验中，我们进行了星形胶质细胞系C8-D1A的培养，并且使用LPS诱导C8-D1A的炎性表达，随后通过PBM治疗。RT-qPCR结果显示(图6)，PBM可以显著抑制C8-D1A细胞中炎症因子IL-6、IL-1β、TNF-α的表达($P<0.001$)。

3　讨论

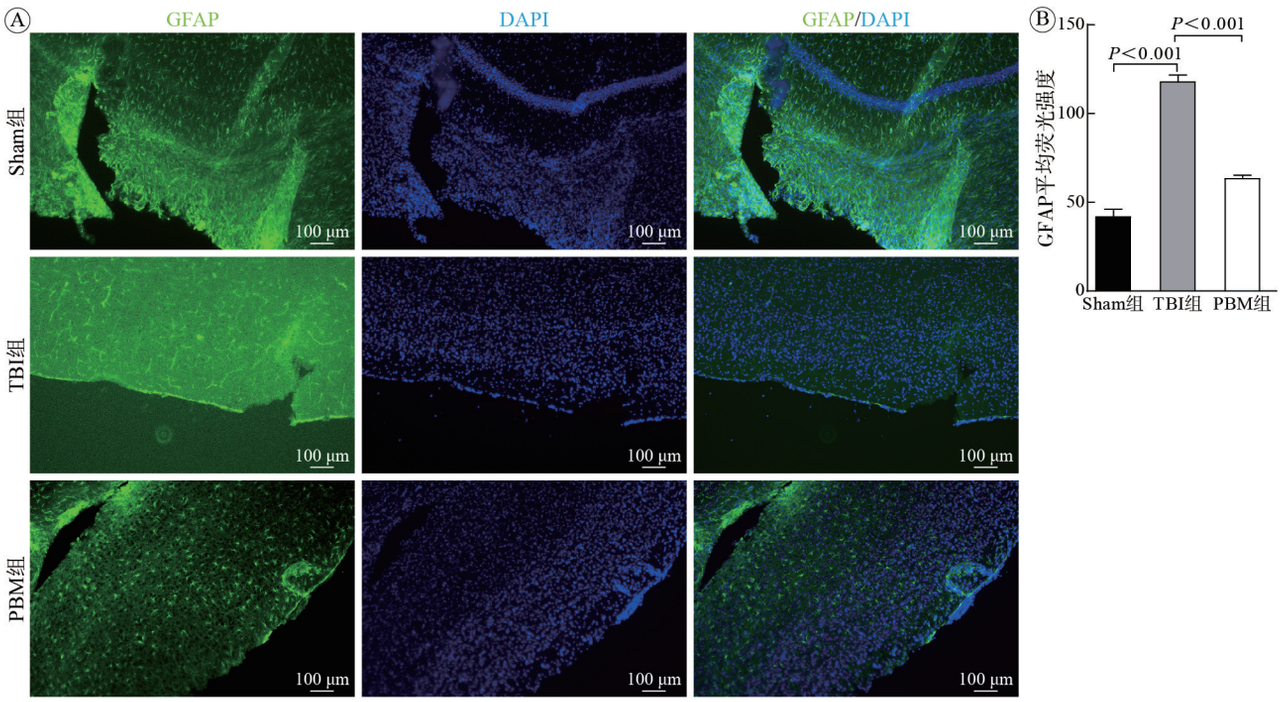
TBI易导致认知和情绪障碍的发生，且对患者的生活质量和社会功能产生严重的负面影响，目前的治疗方法效果有限。干细胞治疗是一种新兴的改善TBI预后的方法，但相关研究尚不成熟，存在伦理问题，且干细胞具有成瘤的风险，治疗效果具有不确定性[21]。虽然有研究报道，经颅磁刺激和经颅直流电刺激可通过调控皮质兴奋性改善TBI患者的认知功能和情绪状态，但对操作人员技术的要求较高，对于颅骨缺损或有金属置入物的患者禁用[22]。越来越多研究表明，PBM对脑损伤、脊髓损伤等神经系统损伤以及神经退行性疾病有着积极的调节作用。不同波长PBM的不同干预模式可显著改善模型小鼠的神经行为学表现，其作



A：三组小鼠损伤区皮质中MAP2表达的免疫荧光染色(40×)；B：三组小鼠损伤区皮质中MAP2平均荧光强度分析。

图4　PBM促进TBI后的神经发生和突触重塑

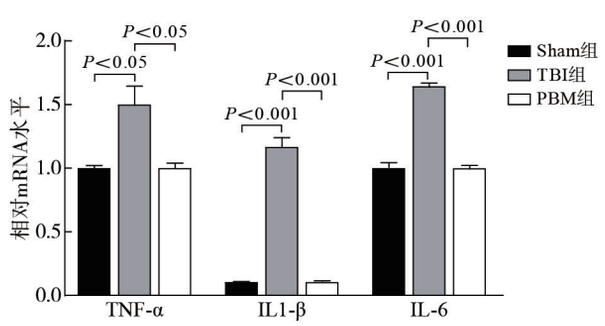
Fig. 4　PBM promoted neurogenesis and synaptic remodeling after TBI



A：三组小鼠损伤区皮质中GFAP表达的免疫荧光染色(10 ×)；B：三组小鼠损伤区皮质中GFAP平均荧光强度分析。

图 5　PBM抑制了TBI后星形胶质细胞的过度激活

Fig. 5　PBM inhibited the over-activation of astrocytes after TBI



C8-D1A中TNF-α、IL1-β、IL-6的相对mRNA水平。

图 6　RT-qPCR检测炎症因子表达情况

Fig. 6　Detection of pro-inflammatory factors by real-time quantitative PCR

用机制也不尽相同。

研究表明，光在组织中的穿透性取决于波长、辐照度、曝光时间、暴露面积、相干性和脉冲结构等，其中波长是最重要的影响参数[23]。目前研究较多的为810 nm的激光。然而有研究表明，1 064 nm波长的LED较其他波长有更强的组织穿透能力，已有研究提示其对神经退行性疾病具有保护作用[24]。相较于810 nm激光，1 064 nm的LED能够更有效地穿透头皮和颅骨，达到更深的脑组织，组织吸收效率较高，这是由于其在血红蛋白和水中的散射和吸收减少，从而能够有效调节对认知和情绪至关重要的皮质下和海马区域，而810 nm左右波长的光可能需要更高的能量密度才能达到相同的治疗效果[25-26]。此外，LED的散射性使其能够提供更广泛的覆盖范围，热损伤的风险更低，更适合于长期或重复治疗[27]。针对1 064 nm光的上述特征，我们创新性地将其用于TBI的治疗，证明了1 064 nm的LED在TBI中的有效作用，行为学实验表明，使用1 064 nm的LED改善了TBI小鼠的运动协调能力和空间认知功能，这不仅为PBM治疗TBI提供了新的波长选择依据，也为进一步探索其潜在机制提供了方向。

神经发生与突触可塑性是TBI后功能恢复的生物学基础。MAP2是一种微管相关蛋白，属于MAP2/Tau蛋白家族，主要存在于神经元中，是神经元细胞骨架的重要组成部分，参与神经元的可塑性、学习记忆以及神经递质传递等过程[28]。为了量化成熟的神经元，我们在损伤后的第4天对损伤区进行MAP2染色，TBI组损伤区的MAP2染色强度均显著低于Sham组，PBM治疗组的MAP2染色荧光强度定量与Sham组相当，表明PBM治疗可有效保护神经元，促进突触重塑。

神经炎症在继发性脑损伤中发挥着核心作用，适度的炎症反应有助于清除细胞碎片并启动修复程序，但持续或过度的炎症则会加剧组织损伤[26]。TBI后星形胶质细胞大量激活，释放大量炎症因子，加重神经损伤。本研究中，TBI后损伤区周围

皮质中星形胶质细胞的免疫荧光强度增加，PBM治疗后GFAP表达下降。体外实验显示PBM后星形胶质细胞中炎症因子TNF-α、IL-1β和IL-6的表达显著下降。这些结果表明，PBM可抑制星形胶质细胞活化，抑制炎症因子的释放。

尽管已有研究揭示了PBM治疗TBI的部分机制[29]，但其具体作用机制仍不完全清楚。有研究表明，近红外光能够增强阿尔兹海默症小鼠的脑膜类淋巴引流，从而促进β淀粉样蛋白的清除，改善老年小鼠的认知功能[30]。这提示我们PBM改善认知作用可能与其对脑内免疫系统和代谢系统的调节相关。Wu等[31]研究发现，PBM的神经保护作用可能与肺脑轴相关。我们的研究结果提示，PBM可能通过抑制星形胶质细胞，抑制神经炎症，从而改善TBI后的运动及认知功能，但发挥作用的信号通路仍需要进一步探索。

本研究存在一定的局限性，如未进一步探索PBM发挥作用的靶点蛋白及信号通路、对于PBM的长期有效性观察不够等。此外，PBM的疗效高度依赖波长、能量密度和照射频率等，本研究未系统探索剂量效应关系，可能遗漏最佳治疗窗口。

综上所述，本研究为1 064 nm的PBM治疗TBI的临床应用提供了潜在依据，未来需要对治疗机制以及合适的光照参数，包括波长、功率密度、照射时间、照射频率等，进一步探索和优化，为不同程度的TBI提供更加个性化的治疗方案。

作者贡献　陈桂琳：实验设计与实施，论文撰写；马珩钞：实验实施；徐振华：统计分析；江小霞：实验设计与指导，审读和修订；张军：实验设计与指导，审读和修订，获取研究经费。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突。

数据共享声明　本论文相关数据可依据合理理由从作者处获取，Email：chenguilin301@163.com。

参考文献

1　Raj R，Luostarinen T，Pursiainen E，et al. Machine learning-based dynamic mortality prediction after traumatic brain injury［J］. Sci Rep，2019，9（1）：17672.
2　Jiang JY，Gao GY，Feng JF，et al. Traumatic brain injury in China［J］. Lancet Neurol，2019，18（3）：286-295.
3　Lambez B，Vakil E. The effectiveness of memory remediation strategies after traumatic brain injury：Systematic review and meta-analysis［J］. Ann Phys Rehabil Med，2021，64（5）：101530.
4　Chan AS，Lee TL，Yeung MK，et al. Photobiomodulation improves the frontal cognitive function of older adults［J］. Int J Geriatr Psychiatry，2019，34（2）：369-377.
5　Lee TL，Chan AS. Photobiomodulation may enhance cognitive efficiency in older adults：a functional near-infrared spectroscopy study［J］. Front Aging Neurosci，2023，15：1096361.
6　Kim UJ，Hong N，Ahn JC. Photobiomodulation attenuated cognitive dysfunction and neuroinflammation in a prenatal valproic acid-induced autism spectrum disorder mouse model［J］. Int J Mol Sci，2022，23（24）：16099.
7　Askalsky P，Iosifescu DV. Transcranial photobiomodulation for the management of depression：current perspectives［J］. Neuropsychiatr Dis Treat，2019，15：3255-3272.
8　Delic V，Beck KD，Pang KCH，et al. Biological links between traumatic brain injury and Parkinson’s disease［J］. Acta Neuropathol Commun，2020，8（1）：45.
9　McInnes K，Friesen CL，MacKenzie DE，et al. Mild Traumatic Brain Injury（mTBI）and chronic cognitive impairment：a scoping review［J］. PLoS One，2017，12（4）：e0174847.
10　Khellaf A，Khan DZ，Helmy A. Recent advances in traumatic brain injury［J］. J Neurol，2019，266（11）：2878-2889.
11　Salehpour F，Mahmoudi J，Kamari F，et al. Brain photobiomodulation therapy：a narrative review［J］. Mol Neurobiol，2018，55（8）：6601-6636.
12　Cardoso FDS，Gonzalez-Lima F，Gomes da Silva S. Photobiomodulation for the aging brain［J］. Ageing Res Rev，2021，70：101415.
13　Ju C，Ma YG，Zuo XS，et al. Potential targets and mechanisms of photobiomodulation for spinal cord injury［J］. Neural Regen Res，2023，18（8）：1782-1788.
14　Zheng Q，Zhang JW，Zuo XS，et al. Photobiomodulation promotes neuronal axon regeneration after oxidative stress and induces a change in polarization from M1 to M2 in macrophages via stimulation of CCL2 in neurons：relevance to spinal cord injury［J］. J Mol Neurosci，2021，71（6）：1290-1300.
15　Yang BC，Xu JY，Li Y，et al. Photobiomodulation therapy for repeated closed head injury in rats［J］. J Biophotonics，2020，13（2）：e201960117.
16　Penberthy WT，Vorwaller CE. Utilization of the 1064 nm wavelength in photobiomodulation：a systematic review and meta-analysis［J］. J Lasers Med Sci，2021，12：e86.
17　Heiskanen V，Hamblin MR. Photobiomodulation：lasers vs. light emitting diodes?［J］. Photochem Photobiol Sci，2018，17（8）：1003-1017.
18　Zhang RL，Zhou T，Samanta S，et al. Synergistic photobiomodulation with 808-nm and 1064-nm lasers to reduce the β-amyloid neurotoxicity in the in vitro Alzheimer’s disease models［J］. Front Neuroimaging，2022，1：903531.
19　Pruitt T，Wang XL，Wu AQ，et al. Transcranial photobiomodulation（tPBM）with 1，064-nm laser to improve cerebral metabolism of the human brain in vivo［J］. Lasers Surg Med，2020，52（9）：807-813.
20　Prieur EAK，Jadavji NM. Assessing spatial working memory using the spontaneous alternation Y-maze test in aged male mice［J］. Bio Protoc，2019，9（3）：e3162.
21　Tsai MH，Wu CY，Wu CH，et al. The current update of conventional and innovative treatment strategies for central nervous system injury［J］. Biomedicines，2024，12（8）：1894.
22　Galimberti A，Tik M，Pellegrino G，et al. Effectiveness of rTMS and tDCS treatment for chronic TBI symptoms：a systematic review and meta-analysis［J］. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry，2024，128：110863.
23　Lim L. Traumatic brain injury recovery with

photobiomodulation：cellular mechanisms，clinical evidence，and future potential［J］. Cells，2024，13（5）：385.
24 Shen Q，Guo HY，Yan YH. Photobiomodulation for neurodegenerative diseases：a scoping review［J］. Int J Mol Sci，2024，25（3）：1625.
25 Pruitt T，Carter C，Wang XL，et al. Photobiomodulation at different wavelengths boosts mitochondrial redox metabolism and hemoglobin oxygenation：Lasers vs. Light-emitting diodes in vivo［J］. Metabolites，2022，12（2）：103.
26 Guo BQ，Zhang MY，Hao WS，et al. Neuroinflammation mechanisms of neuromodulation therapies for anxiety and depression［J］. Transl Psychiatry，2023，13（1）：5.
27 Fernandes F，Oliveira S，Monteiro F，et al. Devices used for photobiomodulation of the brain-a comprehensive and systematic review［J］. J Neuroeng Rehabil，2024，21（1）：53.
28 Kim Y，Jang YN，Kim JY，et al. Microtubule-associated protein 2 mediates induction of long-term potentiation in hippocampal neurons［J］. FASEB J，2020，34（5）：6965-6983.
29 Long XB，Yao XL，Jiang Q，et al. Astrocyte-derived exosomes enriched with miR-873a-5p inhibit neuroinflammation via microglia phenotype modulation after traumatic brain injury［J］. J Neuroinflammation，2020，17（1）：89.
30 Mocciaro E，Grant A，Esenaliev RO，et al. Non-invasive transcranial nano-pulsed laser therapy ameliorates cognitive function and prevents aberrant migration of neural progenitor cells in the hippocampus of rats subjected to traumatic brain injury［J］. J Neurotrauma，2020，37（8）：1108-1123.
31 Wu CY，Li M，Chen Z，et al. Remote photobiomodulation ameliorates behavioral and neuropathological outcomes in a rat model of repeated closed head injury［J］. Transl Psychiatry，2025，15（1）：8.

（责任编辑：迟素敏，潘越）

（上接第660页）

17 Li MY，Thorne RF，Shi RH，et al. DDIT3 directs a dual mechanism to balance glycolysis and oxidative phosphorylation during glutamine deprivation［J］. Adv Sci（Weinh），2021，8（11）：e2003732.
18 Schulte ML，Fu A，Zhao P，et al. Pharmacological blockade of ASCT2-dependent glutamine transport leads to antitumor efficacy in preclinical models［J］. Nat Med，2018，24（2）：194-202.
19 Edwards DN，Ngwa VM，Raybuck AL，et al. Selective glutamine metabolism inhibition in tumor cells improves antitumor T lymphocyte activity in triple-negative breast cancer［J］. J Clin Invest，2021，131（4）：e140100.
20 Wang XL，Ding BB，Liu W，et al. Dual starvations induce pyroptosis for orthotopic pancreatic cancer therapy through simultaneous deprivation of glucose and glutamine［J］. J Am Chem Soc，2024，146（26）：17854-17865.
21 Adhikary G，Shrestha S，Naselsky W，et al. Mesothelioma cancer cells are glutamine addicted and glutamine restriction reduces YAP1 signaling to attenuate tumor formation［J］. Mol Carcinog，2023，62（4）：438-449.
22 Reinfeld BI，Madden MZ，Wolf MM，et al. Cell-programmed nutrient partitioning in the tumour microenvironment［J］. Nature，2021，593（7858）：282-288.
23 Jin HJ，Wang SY，Zaal EA，et al. A powerful drug combination strategy targeting glutamine addiction for the treatment of human liver cancer［J］. Elife，2020，9：e56749.
24 陆健，朱颖炜，龚镭，等. 氨基酸转运载体ASCT2和LAT1在胃癌组织的表达及其临床价值［J］. 现代生物医学进展，2020，20（23）：4515-4521.
25 Kato K，Ogura T，Kishimoto A，et al. Critical roles of AMP-activated protein kinase in constitutive tolerance of cancer cells to nutrient deprivation and tumor formation［J］. Oncogene，2002，21（39）：6082-6090.
26 Izuishi K，Kato K，Ogura T，et al. Remarkable tolerance of tumor cells to nutrient deprivation：possible new biochemical target for cancer therapy［J］. Cancer Res，2000，60（21）：6201-6207.
27 McGuirk S，Audet-Delage Y，St-Pierre J. Metabolic fitness and plasticity in cancer progression［J］. Trends Cancer，2020，6（1）：49-61.
28 Li Q，Zhang LR，Yang Q，et al. Thymidine kinase 1 drives hepatocellular carcinoma in enzyme-dependent and-independent manners［J］. Cell Metab，2023，35（6）：912-927.
29 Zheng PJ，Lin ZH，Ding YM，et al. Targeting the dynamics of cancer metabolism in the era of precision oncology［J］. Metabolism，2023，145：155615.
30 Luo ZY，Xu JN，Sun JJ，et al. Co-delivery of 2-Deoxyglucose and a glutamine metabolism inhibitor V9302 via a prodrug micellar formulation for synergistic targeting of metabolism in cancer［J］. Acta Biomater，2020，105：239-252.
31 Yang WH，Qiu YJ，Stamatatos O，et al. Enhancing the efficacy of glutamine metabolism inhibitors in cancer therapy［J］. Trends Cancer，2021，7（8）：790-804.
32 Leone RD，Zhao L，Englert JM，et al. Glutamine blockade induces divergent metabolic programs to overcome tumor immune evasion［J］. Science，2019，366（6468）：1013-1021.
33 Guo CS，You ZY，Shi H，et al. SLC38A2 and glutamine signalling in cDC1s dictate anti-tumour immunity［J］. Nature，2023，620（7972）：200-208.
34 Huang RH，Wang H，Hong J，et al. Targeting glutamine metabolic reprogramming of SLC7A5 enhances the efficacy of anti-PD-1 in triple-negative breast cancer［J］. Front Immunol，2023，14：1251643.
35 Byun JK，Park M，Lee S，et al. Inhibition of glutamine utilization synergizes with immune checkpoint inhibitor to promote antitumor immunity［J］. Mol Cell，2020，80（4）：592-606.

（责任编辑：迟素敏，孙菲）