

## 血袋法制备富血小板血浆治疗斑秃 1 例\*

罗开云<sup>1</sup> 齐清<sup>1</sup> 王愨<sup>2</sup> 王淑君<sup>1,3</sup> 栾建凤<sup>1</sup>

**[摘要]** 血袋法制备富血小板血浆(PRP)用于斑秃患者治疗,并对其制备过程、质量控制及疗效进行探讨。采集 300 mL 全血梯度密度离心制备 PRP,并检测血小板计数、细菌培养、生长因子浓度检测。对患者进行斑秃皮损处注射治疗,3 个月后评估疗效。制备 32 mL PRP,血小板浓度为  $914 \times 10^9/L$ , TGF- $\beta$ 1、VEGF、PDGF-BB 浓度分别为 1 782.16 pg/mL、212.40 pg/mL、11 550.33 pg/mL,细菌培养阴性。治疗 1 次,3 个月后回访,患者疗效为治愈。提示 PRP 治疗斑秃是一种相对有效和安全的干预措施。血袋法制备 PRP 全程无菌,且对血液进行了最大程度地回收和利用,避免了过度增加耗材使用和患者负担,可作为将来 PRP 制备的备选方案之一。

**[关键词]** 富血小板血浆;斑秃;血袋法

**DOI:**10.13201/j.issn.1004-2806.2022.12.014

**[中图分类号]** R457.1 **[文献标志码]** D

## Platelet rich plasma prepared with blood bag in treating alopecia areata: a case report

LUO Kaiyun<sup>1</sup> QI Qing<sup>1</sup> WANG Min<sup>2</sup> WANG Shujun<sup>1,3</sup> LUAN Jianfeng<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Jinling Hospital Department Blood Transfusion Medicine, Nanjing University, School Medicine, Nanjing, 210002, China; <sup>2</sup>Jinling Hospital Department Burn Plastic, Nanjing University, School Medicine; <sup>3</sup>School of Medicine, Southeast University)

**Summary** To discuss the preparation of platelet rich plasma(PRP) with blood bag, and investigate the effect of PRP on hair regrowth in patients with alopecia areata(AA). PRP was prepared from 300 mL whole blood with density gradient centrifugation and PRP was tested for platelet count, bacterial culture, and growth factors. Then PRP was injected into the scalp with 0.05 mL in each point. Thirty-two mL PRP was prepared, platelet count was  $914 \times 10^9/L$ , bacterial cultures were negative, TGF- $\beta$ 1, VEGF and PDGF-BB was respectively 1 782.16 pg/mL, 212.40 pg/mL and 11 550.33 pg/mL. There was greater hair re-growth after treatment. PRP was safe and promising therapeutic option in AA. To prepare the PRP with blood bag was a safe and economical method.

**Key words** platelet rich plasma; alopecia areata; blood bag

斑秃(alopecia areata, AA)是一种以圆形或者类圆形为界限的局限性斑片状脱发,不会伴有明显痛感或严重损伤。随着病情加重,可累及全身毛发,对患者形象造成的不良影响容易引起心理不适<sup>[1]</sup>。目前针对斑秃的治疗方法主要有糖皮质激素、米诺地尔、免疫抑制剂等,但疗效不确定<sup>[2]</sup>。富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)能够促进毛囊干细胞增殖、分化并改善毛囊周围环境,从而达到促进毛发生长的作用,近年来被应用于脱发领域<sup>[3]</sup>。笔者通过本院利用血袋法制备自体 PRP 局部皮损内注射 1 次,成功治疗 1 例经 5%米诺地尔治疗 4 个月不愈的斑秃患者,为临床医务工作者处理此类情况提供经验交流。

### 1 对象与方法

#### 1.1 研究对象

患者,男,34 岁,其右颞部与枕部交界处有一处直径 2.5 cm 类圆形脱发。患者于半年前因工作压力大,出现头发脱落,于我院就诊,予以 5%米诺地尔局部涂敷 4 个月,无明显好转,后自行停药 2 个月。为进一步治疗再次来我院就诊,告知患者 PRP 治疗并签署知情同意后,予以采集 300 mL 全血,血袋法制备 PRP 后剩余血液予以回输。

#### 1.2 仪器与试剂

Cryofuge 6000i 大容量低温离心机(德国 Kendro),Centifuge 5415R 低温离心机(德国 Eppendorf),SE250 热合机(韩国森通),STW6810 无菌接驳机(武汉佰美斯),XE2100 全自动血细胞分析仪(日本 Sysmex),一次性使用滤除白细胞型血袋(广州费森尤斯卡比 85PA06FE00),TGF- $\beta$ 1 ELISA 试剂盒(杭州联科, A98110121)、PDGF-BB

\*基金项目:江苏省卫生健康委科研项目(No:H2019110)

<sup>1</sup>解放军东部战区总医院输血医学科(南京,210002)

<sup>2</sup>解放军东部战区总医院烧伤整形科

<sup>3</sup>东南大学医学院

ELISA 试剂盒(杭州联科, A913700823)、VEGF ELISA 试剂盒(杭州联科, A183310135), 10%葡萄糖酸钙注射液。所有仪器设备均按要求进行维护保养, 试剂均为经检验合格且在有效期内使用, 并确保能够正常工作。

### 1.3 PRP 制备及检测

**1.3.1 PRP 制备** 采集 300 mL 全血利用梯度密度 3 次离心法, 第 1 次离心为  $1200 \times g$ , 10 min, 第 2 次离心为  $213 \times g$ , 10 min, 第 3 次离心为  $4650 \times g$ , 6 min<sup>[4]</sup>。

**1.3.2 PRP 生长因子检测** 1.5 mL PRP 加入 10%葡萄糖酸钙注射液 300  $\mu$ L, 充分混匀后 37 $^{\circ}$ C 水浴, 待形成凝胶后予以  $10\ 000 \times g$ , 10 min 离心, 析出上清。检测上清中 TGF- $\beta$ 1、VEGF、PDGF-BB 含量, 严格按照操作说明书进行。

### 1.4 治疗方法

取 1 袋 -80 $^{\circ}$ C 冻存 PRP 经 37 $^{\circ}$ C 水浴 15 min 完全融化后, 在超净台内用无菌注射器按照 1 : 5 加入 10%葡萄糖酸钙注射液。再次 37 $^{\circ}$ C 水浴 15 min 形成凝胶后, 置于 Cryofuge 6000i 大容量低温离心机中离心 3800 r/min, 10 min, 析出上清。局部脱发皮肤予以皮下点状注射, 每点 0.05 mL, 点间距离 0.5 cm, 计划每月 1 次, 3 个月为 1 个疗程。

### 1.5 疗效判定

治愈: 斑秃区全部有终毛生长, 覆盖达到美容要求, 拔毛试验阴性; 显效: 斑秃普遍有毳毛生长, 毛发停止脱落, 终毛覆盖率  $\geq 50\%$ , 拔毛试验阴性; 好转: 斑秃区普遍有毳毛生长, 毛发停止脱落, 终毛覆盖率  $< 50\%$ , 拔毛试验阴性或阳性; 无效: 治疗观察 3 个月, 仅有少许毳毛生长, 头发继续脱落, 拔毛试验阳性。

## 2 结果

### 2.1 PRP 制备

共制备 PRP 32.0 mL, 无菌接驳后分装 5 袋, 每袋 4.0 mL, -80 $^{\circ}$ C 冻存。其余 PRP 0.5 mL 用于检测血小板计数, 10.0 mL 用于细菌培养, 1.5 mL 用于生长因子浓度检测。

### 2.2 PRP 血小板计数及细菌培养

检测血小板计数  $914 \times 10^9/L$ , 革兰阳性及革兰阴性细菌培养结果均为阴性。

### 2.3 PRP 生长因子浓度

TGF- $\beta$ 1 1 782.16 pg/mL、VEGF 212.40 pg/mL、PDGF-BB 11 550.33 pg/mL。

### 2.4 治疗周期及疗效判定

原计划每月进行脱发部位皮下注射 1 次, 但因新冠疫情等多重因素影响, 仅进行 1 次注射后未再能就诊。3 个月后随访, 脱发部位已经完全有终毛覆盖, 拔毛试验阴性, 提示治愈, 见图 1、图 2。



图 1 PRP 治疗前; 图 2 PRP 治疗后

## 3 讨论

AA 患病率约为 0.1%~0.2%<sup>[5]</sup>, 约占皮肤科门诊初诊患者的 1.0%<sup>[6]</sup>。发病群体以青壮年多见, 其发病机制尚不明确, 主要与以下因素相关: ①免疫因素: 研究表明自身免疫性疾病对于 AA 的发病有主要作用, AA 与甲状腺自身免疫具有相关性<sup>[7]</sup>。银屑病、白癜风、糖尿病等疾病患 AA 的风险也比较高。②遗传因素: AA 患者中约 8.4%~25.0% 有阳性家族史, 其一级亲属患 AA 的概率比正常人高。③精神因素: 精神因素也与 AA 的发病有密切关系, 国外学者认为 74% 的 AA 患者至少有 1 项以上的精神因素<sup>[8]</sup>。

目前针对 AA 治疗的方法疗效不确定, 其中应用较多的糖皮质激素具有使皮肤萎缩、毛细血管扩张和体重增加等不良反应<sup>[3]</sup>。PRP 因含多种生长因子, 如 EGF、TGF- $\beta$ 、PDGF、IGF、VEGF 等<sup>[9]</sup>。其中, EGF 通过激活 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号通路促进毛囊外根鞘细胞的增殖, PDGF 通过改善毛乳头细胞功能诱导毛发生长, TGF 和 IGF 促进毛囊干细胞的增殖、分化, VEGF 通过促进毛囊周围血管的生成增加毛囊的血供和营养<sup>[10]</sup>。

目前应用 PRP 治疗 AA 包括个案报道、系列研究<sup>[11-12]</sup>、随机对照试验<sup>[5, 13-17]</sup>、非随机临床试验<sup>[18]</sup>等。本研究阐述了 PRP 治疗 AA 的方式和方法, 以及 PRP 与 5%米诺地尔、曲地奈德等治疗方案的比较, 认为在 AA 的治疗中 PRP 是一种相对有效和安全的干预措施, 其不良反应最小, 可能出现的不良反应包括治疗过程中暂时可耐受的疼痛、轻度头痛、轻微瘙痒、短暂红斑水肿和脱皮<sup>[13-17, 19-22]</sup>。

本文报道了 1 例 AA 患者进行自体血液采集, 血袋法分离制备 PRP 用于皮损处注射治疗。原计划行 3 次 PRP 治疗, 但仅进行 1 次治疗, 并且治疗效果显著。相比较目前报道较多的 PRP 的制备方法<sup>[23]</sup>, 如单采法和试管法, 结合该患者考虑, 其单次使用 PRP 的量少, 使用血袋法制备的 PRP 耗材

成本低,且全程无菌,疗效提示血袋法制备 PRP 安全有效。对于不适合无偿献血的患者,可以在制备 PRP 后将剩余的红细胞及血浆进行血液回输,该方法对血液进行了最大程度地回收和利用,且避免过度增加耗材使用及患者负担,可作为 PRP 制备的方案之一。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] 费文敏,李可可,李承旭,等.斑秃相关精神心理合并症及其发病机制[J].皮肤科学通报,2021,38(2):131-135.
- [2] 谭红梅,郭芸,张佩莲.新疗法治疗斑秃的进展[J].皮肤病与性病,2020,42(4):493-496.
- [3] 李安琪,孟宪芙,刘军连,等.富血小板血浆治疗斑秃的研究进展[J].中国麻风皮肤病杂志,2020,36(4):246-248,252.
- [4] 王淑君,赵广超,栾建凤,等.不同规格全血制备富血小板血浆的最佳离心条件研究[J].临床输血与检验,2017,19(2):119-122.
- [5] El Taieb MA, Ibrahim H, Nada EA, et al. Platelets rich plasma versus minoxidil 5% in treatment of alopecia areata: A trichoscopic evaluation[J]. Dermatol Ther, 2017, 30(1).
- [6] 彭雅雯,雷铁池.关于斑秃治疗的新进展[J].医学综述,2020,26(5):940-944.
- [7] 马超,郁博,潘敏,等.斑秃与甲状腺自身免疫相关性的 Meta 分析[J].青岛大学学报(医学版),2019,55(2):225-229.
- [8] 王红艳,王再兴,李卉,等.斑秃 1556 例临床分析[J].中国麻风皮肤病杂志,2009,25(6):470-471.
- [9] 王淑君.血小板胶促进创面愈合的研究进展[J].医学研究生学报,2017,30(3):333-336.
- [10] Gentile P, Garcovich S. Advances in Regenerative Stem Cell Therapy in Androgenic Alopecia and Hair Loss: Wnt pathway, Growth-Factor, and Mesenchymal Stem Cell Signaling Impact Analysis on Cell Growth and Hair Follicle Development[J]. Cells, 2019, 8(5): 466.
- [11] Donovan J. Successful treatment of corticosteroid-resistant ophiasis-type alopecia areata (AA) with platelet-rich plasma (PRP) [J]. JAAD Case Rep, 2015, 1(5): 305-307.
- [12] Pototschnig H, Madl MT. Successful Treatment of Alopecia Areata Barbae with Platelet-rich Plasma[J]. Cureus, 2020, 12(4): e7495.
- [13] Albalat W, Ebrahim HM. Evaluation of platelet-rich plasma vs intralesional steroid in treatment of alopecia areata[J]. J Cosmet Dermatol, 2019.
- [14] Rinaldi F, Marzani B, Pinto D, et al. Randomized controlled trial on a PRP-like cosmetic, biomimetic peptides based, for the treatment of alopecia areata[J]. J Dermatolog Treat, 2019, 30(6): 588-593.
- [15] Gupta V, Parihar AS, Sharma VK, et al. Evaluation of platelet-rich plasma on hair regrowth and lesional T-cell cytokine expression in alopecia areata: A randomized observer-blinded, placebo-controlled, split-head pilot study[J]. J Am Acad Dermatol, 2021, 84(5): 1321-1328.
- [16] Balakrishnan A, Joy B, Thyvalappil A, et al. A Comparative Study of Therapeutic Response to Intralesional Injections of Platelet-Rich Plasma Versus Triamcinolone Acetonide in Alopecia Areata[J]. Indian Dermatol Online J, 2020, 11(6): 920-924.
- [17] Kapoor P, Kumar S, Brar BK, et al. Comparative Evaluation of Therapeutic Efficacy of Intralesional Injection of Triamcinolone Acetonide versus Intralesional Autologous Platelet-rich Plasma Injection in Alopecia Areata[J]. J Cutan Aesthet Surg, 2020, 13(2): 103-111.
- [18] Singh S. Role of platelet-rich plasma in chronic alopecia areata: Our centre experience[J]. Indian J Plast Surg, 2015, 48(1): 57-59.
- [19] Marchitto MC, Qureshi A, Marks D, et al. Emerging Nonsteroid-Based Procedural Therapies for Alopecia Areata: A Systematic Review [J]. Dermatol Surg, 2019, 45(12): 1484-1506.
- [20] Alves R, Grimalt R. Randomized Placebo-Controlled, Double-Blind, Half-Head Study to Assess the Efficacy of Platelet-Rich Plasma on the Treatment of Androgenetic Alopecia[J]. Dermatol Surg, 2016, 42(4): 491-497.
- [21] Anitua E, Pino A, Martinez N, et al. The Effect of Plasma Rich in Growth Factors on Pattern Hair Loss: A Pilot Study[J]. Dermatol Surg, 2017, 43(5): 658-670.
- [22] Kachhawa D, Vats G, Sonare D, et al. A Split Head Study of Efficacy of Placebo versus Platelet-rich Plasma Injections in the Treatment of Androgenic Alopecia[J]. J Cutan Aesthet Surg, 2017, 10(2): 86-89.
- [23] 姚勇,张欢欢,孙振超,等.3种血细胞分离机采集血小板活化和功能的分析[J].临床血液学杂志,2021,34(2):127-129.

(收稿日期:2022-03-21)