

生物材料功能化表面对巨噬细胞极化调控的研究进展

刘洋^{1,2}, 程威^{1,2}, 芮忠颖³, 张凌韬¹, 徐云强^{1*}, 张西正^{2*}, 李瑞欣^{4*}

(1.天津医科大学总医院 骨科, 天津 300052; 2.军事科学院 系统工程研究院, 卫勤保障技术研究所, 天津 300161;
3.天津医科大学总医院 核医学科, 天津 300052; 4.天津市口腔功能重建重点实验室, 天津 300041)

摘要:假体松动及假体周围炎症是关节置换手术的严重并发症,常需要二次手术进行修复,易对患者身心健康及经济状况产生不利影响。研究表明,巨噬细胞受不同刺激所表达的功能表型即巨噬细胞极化状态,延长的M1极化可导致长期炎症的延续,及时有效的M2巨噬细胞表型会增强骨生成、细胞因子分泌以及随后的骨整合,对假体松动及假体周围炎症的发展与转归起着至关重要的作用。细胞外基质局部微环境作为巨噬细胞活化、迁移、增殖与融合的重要影响因素,研究者主要通过生物材料的表面性能(表面形貌、润湿性、化学组成、生物蛋白)同巨噬细胞之间的串扰联系进行深入了解。巨噬细胞作为一种效应细胞,能够通过对生物材料植入人体后与生理环境接触形成的理化环境进行感知,同时做出复杂的时空细胞功能响应。对近年来巨噬细胞极化与材料表面性能相关发现进行总结与归纳。

关键词:假体植入; 功能化表面; 表面性能; 巨噬细胞极化

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2021.03.027

Research Progress on Regulation of Macrophage Polarization by Biomaterial Functionalized Surface

LIU Yang^{1,2}, CHENG Wei^{1,2}, RUI Zhongying³, SONG Licheng¹, XU Yunqiang^{1*}, ZHANG Xizheng^{2*}, LI Ruixin^{4*}

(1. Department of Orthopedics, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China; 2. Institute of Medical Service Support, Institute of Systems Engineering, Academy of Military Sciences, Tianjin 300161, China; 3. Department of Nuclear Medicine, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China; 4. Tianjin Key Laboratory of Oral and Maxillofacial Function Reconstruction, Tianjin 300041, China)

Abstract: Prosthetic loosening and periprosthetic inflammation, as serious complications after joint replacement surgery, often require the secondary surgery for repair, which is easy to adversely affect the physical/mental health and economic status of patients. Studies have shown that the functional phenotype expressed by macrophages by different stimuli, namely macrophage polarization state, prolonged M1 polarization can lead to the continuation of long-term inflammation, while timely and effective M2 macrophage phenotype will lead to

收稿日期:2020-06-27; 修回日期:2020-07-25

基金项目:国家自然科学基金项目(31470935, 11432016)

通信作者:徐云强,主任医师, E-mail:doexu@sina.com; 李瑞欣,研究员, E-mail:liminxin@163.com; 张西正,研究员, E-mail:z56787@sohu.com

* 为共同通信作者

enhanced osteogenesis and tissue remodeling cytokine secretion and subsequent osseointegration, which play a crucial role in the development and outcome of prosthetic loosening and periprosthetic inflammation. The local micro-environment of extracellular matrix (ECM) is an important factor in the activation, migration, proliferation and fusion of macrophages. Researchers have deeply understood it mainly through the crosstalk between surface properties of biomaterials and macrophages. As an effector cell, macrophages can perform complex spatiotemporal cellular functional responses by sensing the physical and chemical environment (surface topography, wettability, chemical composition, biological proteins) represented by surface properties of biomaterials. This paper summarizes the recent findings on macrophage polarization and material surface properties.

Key words: prosthesis implantation; functionalized surface; surface properties; macrophage polarization

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种严重影响患者生活质量的关节退行性疾病。来自中国健康与养老追踪调查数据库 (China Health and Retirement Longitudinal Study, CHARLS) 的研究结果显示,我国膝关节症状性 OA 患病率为 8.1%^[1]。预计 2020 年 OA 将成为第 4 大致残性疾病,给患者、家庭和社会造成巨大的经济负担^[2]。随着研究者对骨骼及生物材料相关生物力学认识的加深,人工关节置换术作为终末期 OA 成熟且有效的治疗方法,应用日益广泛,而作为人工关节置换术的相关手术并发症—假体松动及假体周围炎发生率也随之增高。

骨关节假体作为人体关节的替代物,其预后效果与骨-植入物材料间生物相容性的关系密切。人工关节置换术中骨科内植入物在植入体内后,材料将暴露于结缔组织并引发白细胞浸润及局部水肿,并启动早期急性炎症反应^[3-4]。在随后的数秒或数天内,宿主的血浆成分(白蛋白、纤连蛋白、纤维蛋白原、补体、脂质、糖和离子)吸附在植入物表面,对局部微环境产生影响,其中白蛋白最为丰富^[5-7]。植入后的几小时内,中性粒细胞成为主要炎性细胞,并对单核细胞进行募集以及对细菌产物产生吞噬作用。细胞募集后,随之而来的急性和慢性炎症的严重程度取决于植入的生物材料的类型、临时基质形成的程度以及炎症反应持续所需的时间^[8]。

已有观察表明,骨科植入物在植入机体后可引起机体的固有免疫反应;种植体材料不同的表面特性和微结构能够影响其表型及功能,极化的巨噬细胞在组织炎症破坏与损伤修复过程中发挥重要作用^[9]。巨噬细胞作为一种可塑性极强的固有免疫

细胞,在单核细胞募集后,受植入的生物材料性能、临时基质及微环境细胞因子的影响,出现 M1/M2 巨噬细胞极化表型,参与局部炎症反应的进展,为随后的骨整合提供反应微环境。研究已证实, M1/M2 巨噬细胞极化处于动态平衡中,较长时间的 M1 型巨噬细胞活化,易导致局部假体周围炎症迁延不愈,引发假体周围炎,最终产生假体松动;而较长时间的 M2 型巨噬细胞活化,则易导致假体周围早期骨整合时间延长及纤维包裹^[10]。因此,受骨-植入物界面反应调控,适宜表达 M1/M2 巨噬细胞极化表型对植入物早期骨整合至关重要。

生物材料提供的微环境在调节细胞反应中起着不可或缺的作用,基础研究清楚地证明了它们在骨骼生物学中巨大而实质性的作用^[11]。但目前有关巨噬细胞对植入生物材料反应的研究鲜有报道。因此,更好地表征和理解巨噬细胞与骨植入物,在骨整合和维持方面具有重要意义。

1 细胞与材料表面性能

1.1 巨噬细胞极化态

巨噬细胞是固有免疫的细胞,来源于循环单核细胞和胚胎卵黄囊。它们常表现出高可塑性,对来源于微环境的不同刺激,会选择性地触发为经典激活的 M1 型巨噬细胞和交替激活的 M2 型巨噬细胞^[12]。M1-M2 二分法是基于巨噬细胞从炎症反应出现到愈合相关的固有特性,会在缺乏适应性免疫应答的情况下发生,并在炎症早期出现。

M1 型巨噬细胞又称经典激活型、促炎症型、炎症损伤型巨噬细胞。常由脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)、干扰素 (interferons- γ , IFN- γ) 或细胞

因子(如 TNF 和 GM-CSF)协同诱导产生。M1 细胞高表达肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)、INDO、趋化因子 11(chemotactic factor 11, CXCL11)、趋化因子受体 7(chemokine receptor 7, CCR7)、白介素 12(interleukin-12, IL-12)、白介素 23(IL-23)、低表达白介素 10(IL-10)表型,是效应分子(活性氧和氮中间体)和炎性细胞因子(IL-1 β 、IL-6)的重要表达细胞,在极化的 Th1 反应中起诱导和效应细胞的作用,并介导寄生虫与肿瘤相关免疫^[13-14]。

M2 型巨噬细胞又称交替激活型、抑炎症型、炎症修复型巨噬细胞,包含多种形式的非经典激活的巨噬细胞。这些巨噬细胞是由于单核细胞暴露于白介素 4(IL-4)、白介素 10(IL-10)、白介素 13(IL-13)和糖皮质激素或类固醇(维生素 D₃)激素等极化产生,通常显示出高含量转化细胞因子(transforming growth factor- β , TGF- β)、巨噬细胞炎症蛋白 10(macrophage inflammatory protein-10, CCL10)、巨噬细胞炎症蛋白 18(CCL18)、清道夫受体(scavenger receptor, CD36)、甘露糖和半乳糖型受体。M2 巨噬细胞有助于组织修复,促进血管生成^[15-17]。

1.2 表面形貌

巨噬细胞在骨科植入物周围的骨稳态和骨/生物材料整合中起着重要作用。当作为异物的植入体植入骨组织周围,巨噬细胞通常在植入物表面迅速积累。植入体表面的物理信号也可能调节巨噬细胞的表型变化。例如,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)硬度、结构、形态、图案和表面组成会对细胞状态产生较大影响^[18-19]。在这些物理因素中,表面形貌被认为是调节细胞行为的主要因素之一。

1.2.1 表面硬度 Blakney 等^[20]在不同硬度基底聚乙烯乙二醇水凝胶表面观察到:在给予脂多糖刺激后,随基底硬度增加,低硬度(130 kPa)能够降低巨噬细胞激活所分泌的 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6,较高硬度(240、840 kPa)则表现为巨噬细胞促炎表型,具有更高的炎症细胞因子分泌量。同上述研究所用的基底硬度区间不同, Sridharan 等^[21-22]和 Okamoto 等^[22]研究发现,软硬度(11 kPa)和中硬度(88 kPa)聚丙烯酰胺水凝胶表面使巨噬细胞趋向

于抗炎、高度吞噬的表型。高硬度(323 kPa)聚丙烯酰胺水凝胶表面引发巨噬细胞向促炎表型。而 Qin 等^[23]则在更小的基底硬度区间(0.5~50 kPa),比较不同材质及同一材质不同硬度对巨噬细胞极化的影响,并观察到随着基底硬度增加,硬质聚二甲基硅氧烷(PDMS)[(41.8 \pm 1.4)kPa]上巨噬细胞所分泌的促炎症因子——IL-6 与 TNF- α 高于软质 PDMS[(14.1 \pm 3.1)kPa],软质 2-甲基丙烯酸酯基磷酸胆碱凝胶具有更高的抑炎症因子分泌,即具有更高的 M2 细胞表型。

1.2.2 表面粗糙度 Wang 等^[24]对比细胞培养板(tritoyl phosphate, TCP)、抛光钛表面(polished titanium, PT)、喷砂酸蚀表面(sand-blasted large grit acid-etched, SLA)3 种不同粗糙度表面发现,粗糙 SLA 具有更高促巨噬细胞转化为促炎症 M1 型巨噬细胞的趋势,而前两者在促炎症和抑炎症相关细胞因子检测上表达一致。同时,粗糙度带来的地形效应还具有时间依赖性,在早期 6 h 内并无明显变化,而在 24~48 h 具有显著的趋化因子及细胞因子分泌现象产生^[25]。而地形影响巨噬细胞极化态是通过改变细胞骨架来完成对表型的调控, M1 细胞常呈现圆形薄饼的形状, M2 细胞显示出细长的形状^[26]。Li 等^[27]研究表明,以不同粗糙度的矿化胶原蛋白复合物作为 ECM 局部微环境,随着粗糙度增加,存在于较高粗糙度表面[(8.31 \pm 0.21)、(12 \pm 0.36) μ m]的巨噬细胞分泌的 TNF- α 和 IL-6 明显增加;低粗糙度表面[(0.92 \pm 0.05)、(6.41 \pm 0.15) μ m]巨噬细胞分泌的 IL-4、IL-10 则在 6 d 后增加,后两者在细胞形态上表现出梭形或纺锤形,前者则出现截然相反的表现:圆形,同时表面伸出许多突起。而 Zhang 等^[19]进一步实验论证表面粗糙度促进巨噬细胞朝 M2 型转化,通过 M1 和 M2 巨噬细胞对照的 DNA 含量、特异性细胞因子分泌、基因表达谱以及免疫染色,评估巨噬细胞的黏附和极化,发现存在狭窄数值区间,能够诱导巨噬细胞极化成特定的表面缔合状态。低粗糙度表面[$Ra = (0.51 \sim 1.36) \mu\text{m}$; $Sa = (0.66 \sim 2.91) \mu\text{m}$]倾向于通过下调促炎性和上调抗炎性细胞因子的分泌,基因表达和表面标志物的表达使黏附的巨噬细胞向 M2 表型极化。而这一发现与成骨细胞的骨整合最适粗糙度相吻合,即 Albrektsson 等^[28]所界定的粗糙

度范围:光滑粗糙表面($Ra:0\sim 0.4\ \mu\text{m}$),最适粗糙表面($Ra:0.5\sim 1.0\ \mu\text{m}$),中等粗糙表面($Ra:1.0\sim 2.0\ \mu\text{m}$)和较高粗糙表面($Ra:>2\ \mu\text{m}$)。

1.2.3 表面纳米化 Mahon 等^[29]所构建的纳米颗粒能够通过促进人巨噬细胞朝向 M2 极化,并激活转录因子 cMaf 及增强抗炎细胞因子 IL-10 的产生,促进骨髓干细胞(bone marrow stem cells, BMSC)成骨细胞分化及促血管生成。He 等^[30]明确孔径为 100 nm 钛纳米管诱导巨噬细胞朝向 M1 型极化发展,同时发现,同 IFN- γ /LPS 自然诱导不同,前者通过 FAK-MAPKs 信号(JNK 和 Erk1/2)参与 NT-100 诱导的巨噬细胞 M1 极化。Luu 等^[31]通过蚀刻技术,构建微米级及纳米级宽度的凹槽(0.15~50 μm),发现沟槽通过影响巨噬细胞的形态,进而影响极化状态,同时观察到在 400~500 nm 宽度的凹槽中,巨噬细胞的伸长达到顶峰,且抗炎细胞因子 IL-10 分泌量最高。现有研究较为一致地发现,可以通过表面结构化修饰的功能表面,对巨噬细胞极化进行调控^[32]。

1.3 表面能和润湿性

当细胞接近生物材料表面时,首先发生细胞附着,继而发生细胞黏附。这两个过程主要是由表面能量和润湿性驱动的。前者只是植入物物理和化学特性的函数,而后者则受植入物及其生物环境的支配。材料表面的多余能量提供了黏附到周围组织的驱动力,即活性植入物表面提供了开始与细胞环境进行相互作用的所需条件^[33]。

有研究在论证表面润湿性对巨噬细胞极化的影响时发现,亲水性粗钛诱导的巨噬细胞活化类似于抗炎 M2 样状态,增加了白介素 IL-4、IL-10 水平。而疏水性的粗糙钛表面及平滑的钛表面诱导了炎性巨噬细胞(M1 样)激活,出现白介素 IL-1 β 、IL-6 和 TNF α 水平升高。其中,表面润湿性对巨噬细胞极化状态的调控具有更大的影响。亲水表面也可能抑制促炎性细胞因子和趋化因子(如 TNF- α 、IL-1 α 、IL-1 β 和 CCL-2)的表达^[34-36]。而这一观点也在动物实验层面得到验证。同时,巨噬细胞具有生理调节能力,TGF- β 1 的分泌量能够影响骨形态发生蛋白 2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)的合成,在这种条件培养基观察到碱性磷酸酶表达增加,与骨诱导骨愈合的关键作用一致,巨噬细胞的

炎症因子分泌与随后的骨整合过程相关^[37]。Lock 等^[38]在构建润湿性及电荷不同的表面进行巨噬细胞极化情况验证,黏附于亲水和阴离子表面单核巨噬细胞中抗炎因子—白细胞介素 10(IL-10)表达显著增加,但在阳离子表面黏附的单核细胞/巨噬细胞中显著降低。相反,黏附于亲水和阴离子表面的细胞中,白细胞介素 8(IL-8)的表达明显降低。

1.4 化学组成

生物材料表面化学是影响细胞反应的因素之一,它通过影响蛋白质在表面上吸附的数量,特性和构象及蛋白质结合位点,进而调节免疫细胞的行为^[39]。蛋白质在材料表面的吸附会受到来自多个方面因素的影响,包括表面性质(表面润湿性、电荷、形态等)、蛋白质性质(蛋白质大小、刚度和带电残基的分布等)以及外部条件(温度、溶液 pH 值、离子强度等)。这些因素将以协同方式影响蛋白质吸附^[40]。

有研究在比较双相磷酸钙(biphasic calcium phosphate, BCP)、 β 磷酸三钙(tricalcium phosphate, β -TCP)、羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)3 种化学组成表面时观察到:双相磷酸钙不仅具有优异的骨诱导性,而且增加了体内 ARG⁺、CD206⁺M2 群体比例; β 磷酸三钙(β -TCP)表现出与前者截然相反的特性,没有明显的骨诱导性,且增加 CCR7⁺、诱导型一氧化氮合酶(iNOS⁺M1)群体比例^[41-42]。而巨噬细胞表型响应于 β -TCP 提取物而转变为 M2 型,这与钙感受受体(calcium-sensing receptor, CaSR)通路的激活有关。 β -TCP 刺激还显著上调了 BMP-2,表明巨噬细胞可能参与了 β -TCP 刺激的成骨过程^[43]。高度硫酸化的透明质酸(hyaluronic acid, HA)的存在可以显著干扰 IL-6、IFN- γ 和单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)介导的 M1 活化,甚至诱导 M2 相关细胞因子 IL-10 的分泌水平增高^[44]。具有可降解的极性疏水离子聚氨酯(D-PHI)表面,与组织培养用聚苯乙烯表面对照相比,巨噬细胞显示促炎细胞因子(TNF- α 、IL-1 β)分泌减少,而抗炎细胞因子(IL-10)分泌增加。这种调节作用归因于蛋白质吸附的精确控制,它通过物质相互作用调节了巨噬细胞的极化状态^[45]。

1.5 共价接枝

Pérez-Calixto 等^[46]通过对聚丙烯 (polypropylene, PP) 和聚四氟乙烯 (polytetrafluoroethylene, PTFE) 表面施加伽马射线共价接枝不同浓度氨基的氨基官能化膜,具有比纤维蛋白原 (fibrinogen, FB) 高的弹性模量和更高的血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 吸附能力。通过细胞因子分泌的 M1 和 M2 标记 (IL-6、IL-10、IL-12、IL-1 β 、INF- γ 、TNF- α 和金属基质蛋白酶 8 (matrix metalloproteinase-8, MMP-8) 监测巨噬细胞极化。其中抗炎标记物 (IL-10) 的产生没有差异,但与氨基功能化膜相关的与急性炎症期有关的细胞因子水平,尤其是 TNF- α 水平较低。Fuchs 等^[47]通过使用羧基和氨基官能化聚苯乙烯纳米颗粒发现:共价接枝后的聚苯乙烯纳米颗粒具有功能选择性,聚苯乙烯纳米颗粒的阳离子和阴离子表面官能化都强烈抑制 M2 极化,表现为细胞表面标志物 CD200R 和 CD163 的减少,同时 IL-10 分泌也被抑制;而其中阳离子 PS-NH₂ 纳米颗粒被发现可减少 M1 和 M2 巨噬细胞的吞噬作用,阴离子 PS-COOH 纳米颗粒刺激蛋白质合成,略微增加两个巨噬细胞亚组中的 ATP 含量,减少吞噬作用,并增加 M1 型巨噬细胞分泌的 TGF- β 1。Tan 等^[48]通过 BMP-7 肽 N 端与半胱氨酸氨基酸结合共价接枝在基质上,观察到巨噬细胞早期出现 8 h 后 (Toll 样受体 4) TLR-4、TNF- α 细胞因子和 MCP-1 趋化因子的表达降低;且具有剂量依赖效应,在 10 μ g/mL BMP-7 肽浓度下的 8 h 内,与对照组经 LPS 处理的 RAW 264.7 相比,TNF- α 、MCP-1、TLR-4 分别降低了 2 倍。

2 总结与展望

随着科技的发展,生物材料不再单纯作为“惰性”的机械支持,而是有了更多的活性功能,并且表面功能化的类型可能会因其预期用途和植入的解剖部位而做出相应调整。众多学者采取不同的处理方式(碱热酸蚀、阳离子氧化、磁控溅射、激光等)对表面性能(表面形貌、润湿性、化学组成、生物蛋白)进行组合优化,期望获得理想的功能化表面。本文讨论了骨组织相关巨噬细胞极化抗炎性能的相关内容,这对于维持人体的结构和功能完整性至关重要。这项艰巨的挑战需要探索新的机制,了解

细胞如何不断从周围的细胞和非细胞环境中收集特定的响应信息,如何整合这些信息,并对其做出具体反应。因此,不断进行学科间的整合,从表面性能入手,优化上述影响因素,构建特定或多性能组合的细胞外基质环境,并从生物学和工程学角度去观察探索巨噬细胞对信号环境做出适当的强有力的响应,依旧是一项极为艰巨的任务。

参考文献:

- [1] TANG X, WANG S, ZHAN S, et al. The prevalence of symptomatic knee osteoarthritis in China: Results from the China health and retirement longitudinal study [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(3): 648-653.
- [2] 中华医学会骨科学分会关节外科学组. 骨关节炎诊疗指南(2018年版)[J]. *中华骨科杂志*, 2018, 12(38): 705-715.
- [3] HU Z, WU D, ZHAO Y, et al. Inflammatory cytokine profiles in the crevicular fluid around clinically healthy dental implants compared to the healthy contralateral side during the early stages of implant function [J]. *Arch Oral Biol*, 2019, 108: 104509-104516.
- [4] TAHERI M, AKBARI S, SHAMSHIRI AR, et al. Marginal bone loss around bone-level and tissue-level implants: A systematic review and meta-analysis [J]. *Ann Ana*, 2020, 231: 151525-151536.
- [5] JURCZAK P, WITKOWSKA J, RODZIEWICZ-MOTOWIDŁO S, et al. Proteins, peptides and peptidomimetics as active agents in implant surface functionalization [J]. *Adv Colloid Interfac*, 2020, 276: 102083-102103.
- [6] TALHA M, MA Y, KUMAR P, et al. Role of protein adsorption in the bio corrosion of metallic implants: A review [J]. *Colloid Surface B*, 2019, 176: 494-506.
- [7] ARAÚJO-GOMES N, ROMERO-GAVILÁN F, ZHANG Y, et al. Complement proteins regulating macrophage polarization on biomaterials [J]. *Colloid Surface B*, 2019, 181: 125-133.
- [8] KASTELLORIZIOS M, TIPNIS N, BURGESS DJ. Foreign body reaction to subcutaneous implants [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2015, 865: 93-108.
- [9] UNDERWOOD RA, USUI ML, ZHAO G, et al. Quantifying the effect of pore size and surface treatment on epidermal incorporation into percutaneously implanted sphere-templated porous biomaterials in mice [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2011, 98A(4): 499-508.
- [10] HYEONG-CHEOL, YANG, CHUL H, et al. Immunomodulation of biomaterials by controlling macrophage polarization [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1064: 197-206.
- [11] TANG D, TARE RS, YANG LY, et al. Biofabrication of

- bone tissue: Approaches, challenges and translation for bone regeneration [J]. *Biomaterials*, 2016, 83: 363-382.
- [12] YANG HC, PARK HC, QUAN H, *et al.* Inflammatory macrophages facilitate mechanical stress-induced osteogenesis [J]. *Aging*, 2020, 12(4): 3617-3625.
- [13] FUNES SC, RIOS M, ESCOBAR-VERA J, *et al.* Implications of macrophage polarization in autoimmunity [J]. *Immunology*, 2018, 154(2): 186-195.
- [14] SHAPOURI-MOGHADDAM A, MOHAMMADIAN S, VAZINI H, *et al.* Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(9): 6425-6440.
- [15] SHRIVASTAVA R, SHUKLA N. Attributes of alternatively activated (M2) macrophages [J]. *Life Sci*, 2019, 224: 222-231.
- [16] MEHLA K, SINGH PK. Metabolic regulation of macrophage polarization in cancer [J]. *Trends Cancer*, 2019, 5(12): 822-834.
- [17] HAGERT C, SAREILA O, KELKKA T, *et al.* The macrophage mannose receptor regulate mannan-induced psoriasis, psoriatic arthritis, and rheumatoid arthritis-like disease models [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 114-120.
- [18] ZHANG H, WU X, WANG G, *et al.* Macrophage polarization, inflammatory signaling, and NF- κ B activation in response to chemically modified titanium surfaces [J]. *Colloid Surface B*, 2018, 166: 269-276.
- [19] ZHANG Y, CHENG X, JANSEN JA, *et al.* Titanium surfaces characteristics modulate macrophage polarization [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019, 95: 143-151.
- [20] BLAKNEY AK, SWARTZLANDER MD, BRYANT SJ. The effects of substrate stiffness on the *in vitro* activation of macrophages and *in vivo* host response to poly(ethylene glycol)-based hydrogels [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2012, 100(6): 1375-1386.
- [21] SRIDHARAN R, CAVANAGH B, CAMERON AR, *et al.* Material stiffness influences the polarization state, function and migration mode of macrophages [J]. *Acta Biomater*, 2019, 89: 47-59.
- [22] OKAMOTO T, TAKAGI Y, KAWAMOTO E, *et al.* Reduced substrate stiffness promotes M2-like macrophage activation and enhances peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression [J]. *Exp Cell Res*, 2018, 367(2): 264-273.
- [23] QIN X, SENTURK B, VALENTIN J, *et al.* Cell-membrane-inspired silicone interfaces that mitigate proinflammatory macrophage activation and bacterial adhesion [J]. *Langmuir*, 2019, 35(5): 1882-1894.
- [24] WANG X, WANG Y, BOSSHARDT DD, *et al.* The role of macrophage polarization on fibroblast behavior: An *in vitro* investigation on titanium surfaces [J]. *Clin Oral Invest*, 2018, 22(2): 847-857.
- [25] MARIANI E, LISIGNOLI G, BORZI RM, *et al.* Biomaterials: Foreign bodies or tuners for the immune response? [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3): 636-677
- [26] ABARICIA JO, SHAH AH, CHAUBAL M, *et al.* Wnt signaling modulates macrophage polarization and is regulated by biomaterial surface properties [J]. *Biomaterials*, 2020, 243: 119920-119936.
- [27] LI J, ZHANG YJ, LV ZY, *et al.* The observed difference of macrophage phenotype on different surface roughness of mineralized collagen [J]. *Regen Biomater*, 2020, 7(2): 203-211.
- [28] ALBREKTSSON T, WENNERBERG A. Oral implant surfaces: Part 1-Review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and *in vivo* responses to them [J]. *Int J Prosthodont*, 2004, 17: 536-543.
- [29] MAHON OR, BROWE DC, GONZALEZ-FERNANDEZ T, *et al.* Nano-particle mediated M2 macrophage polarization enhances bone formation and MSC osteogenesis in an IL-10 dependent manner [J]. *Biomaterials*, 2020, 239: 119833.
- [30] HE Y, LUO J, ZHANG Y, *et al.* The unique regulation of implant surface nanostructure on macrophages M1 polarization [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, 106: 110221.
- [31] LUU TU, GOTT SC, WOO BWK, *et al.* Micro and nano-patterned topographical cues for regulating macrophage cell shape and phenotype [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 51(7): 28665-28672.
- [32] MELI V S, VEERASUBRAMANIAN PK, ATCHA H, *et al.* Biophysical regulation of macrophages in health and disease [J]. *J Leukocyte Biol*, 2019, 106(2): 283-299.
- [33] HOTCHKISS KM, CLARK NM, OLIVARES-NAVARRETE R. Macrophage response to hydrophilic biomaterials regulates MSC recruitment and T-helper cell populations [J]. *Biomaterials*, 2018, 182: 202-215.
- [34] ALFARSI MA, HAMLET SM, IVANOVSKI S. The effect of platelet proteins released in response to titanium implant surfaces on macrophage pro-inflammatory cytokine gene expression [J]. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2015, 17(6): 1036-1047.
- [35] HOTCHKISS KM, REDDY GB, HYZY SL, *et al.* Titanium surface characteristics, including topography and wettability, alter macrophage activation [J]. *Acta Biomater*, 2016, 31: 425-434.
- [36] HOTCHKISS KM, AYAD B, HYZY SL, *et al.* Dental implant surface chemistry and energy alter macrophage

- activation *in vitro* [J]. *Clin Oral Implants Res*, 2017, 28(4): 414-423.
- [37] GUDER C, GRAVIUS S, BURGER C, *et al.* Osteoimmunology: A current update of the interplay between bone and the immune system [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 58-76.
- [38] LOCK A, CORNISH J, MUSSON DS. The role of *in vitro* immune response assessment for biomaterials [J]. *J Funct Biomater*, 2019, 10(3): 31-45
- [39] OTHMAN Z, CILLERO PASTOR B, RIJT S, *et al.* Understanding interactions between biomaterials and biological systems using proteomics [J]. *Biomaterials*, 2018, 167: 191-204.
- [40] GUO S, PRANANTYO D, KANG ET, *et al.* Dominant albumin-surface interactions under independent control of surface charge and wettability [J]. *Langmuir*, 2018, 34(5): 1953-1966.
- [41] CHEN X, WANG M, CHEN F, *et al.* Correlations between macrophage polarization and osteoinduction of porous calcium phosphate ceramics [J]. *Acta Biomater*, 2020, 103: 318-332.
- [42] CHEN F, WANG M, WANG J, *et al.* Effects of hydroxyapatite surface nano/micro-structure on osteoclast formation and activity [J]. *J Mater Chem B*, 2019, 47(7): 7574-7587.
- [43] CHEN Z, WU C, GU W, *et al.* Osteogenic differentiation of bone marrow MSCs by β -tricalcium phosphate stimulating macrophages via BMP2 signalling pathway [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(5): 1507-1518.
- [44] GARCÍA-GARCÍA A, MARTIN I. Extracellular matrices to modulate the innate immune response and enhance bone healing [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2256-2263.
- [45] KLINDER A, MARKHOFF J, JONITZ-HEINCKE A, *et al.* Comparison of different cell culture plates for the enrichment of non-adherent human mononuclear cells [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(3): 2004-2012.
- [46] PÉREZ-CALIXTO M, DIAZ-RODRIGUEZ P, CONCHEIRO A, *et al.* Amino-functionalized polymers by gamma radiation and their influence on macrophage polarization [J]. *React Funct Polym*, 2020, 151: 104568-104575.
- [47] FUCHS AK, SYROVETS T, HAAS KA, *et al.* Carboxyl- and amino-functionalized polystyrene nanoparticles differentially affect the polarization profile of M1 and M2 macrophage subsets [J]. *Biomaterials*, 2016, 85: 78-87.
- [48] TAN HC, POH CK, CAI Y, *et al.* Covalently grafted BMP-7 peptide to reduce macrophage/monocyte activity: An *in vitro* study on cobalt chromium alloy [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2013, 110(3): 969-979.