

巨噬细胞的骨免疫学效应

田雨一, 刘立宏

https://doi.org/10.12307/2023.663

投稿日期: 2022-08-29

采用日期: 2022-09-28

修回日期: 2022-10-21

在线日期: 2022-10-29

中图分类号:

R459.9; R394.2; R542.2

文章编号:

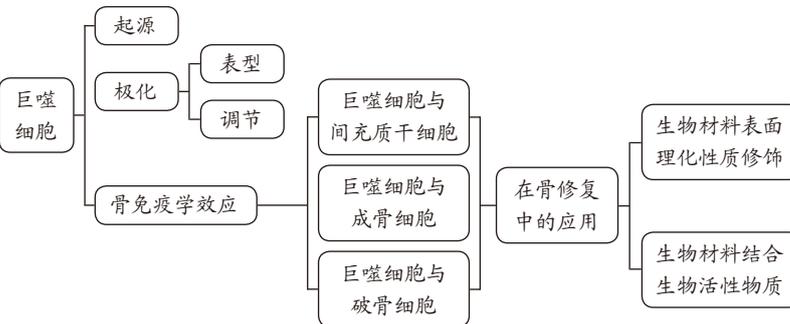
2095-4344(2023)29-04712-11

文献标识码: A

文章快速阅读: 巨噬细胞骨免疫学效应及在骨修复中的应用

文章特点—

△综述了巨噬细胞的骨免疫学效应及其在骨修复中应用的研究进展,证实巨噬细胞在骨组织工程中具有卓越的研究价值和前景。



文题释义:

巨噬细胞极化: 巨噬细胞具有高度的可塑性, 其在不同微环境刺激下改变其表型, 这一动态且迅速的过程称为巨噬细胞极化。巨噬细胞通常极化为M1或M2两种表型, 分别释放促炎或抗炎因子, 发挥不同的功能。

骨免疫学: 是一个连接免疫学和骨生物学的新兴跨学科领域。该概念于2000年由Arron和Choi首次提出, 它强调免疫系统和骨骼系统的相互作用, 其中包括不同的细胞以及参与细胞间通讯的介质和信号通路。

摘要

背景: 巨噬细胞以其显著的骨免疫学效应得到学者们的广泛关注, 其功能和应用已成为研究热点。目前研究主要涉及巨噬细胞的起源、极化、骨免疫学效应及其在骨修复中的应用。

目的: 综述巨噬细胞的骨免疫学效应及其在骨修复中应用的研究进展, 证实巨噬细胞在骨组织工程中具有卓越的研究价值和前景。

方法: 利用PubMed、Web of Science和CNKI数据库检索2010–2022年发表的相关文献, 检索词为“巨噬细胞极化、骨、成骨、骨免疫学、生物材料、组织工程”“macrophage polarization, bone, osteogenesis, osteoimmunology, biomaterials, tissue engineering”, 并纳入少量年份久远的经典文献。通过阅读标题和摘要进行初筛, 排除与文章主题不相关的文献, 最终纳入120篇文献进行综述分析。

结果与结论: ①巨噬细胞包括单核细胞来源的炎性巨噬细胞和组织驻留巨噬细胞, 其中不同组织的驻留巨噬细胞具有不同的发育起源组合, 绝大多数组织驻留巨噬细胞起源于胚胎时期的卵黄囊; ②巨噬细胞具有高度可塑性, 在不同刺激下极化为M1/M2表型, 分别释放促炎/抗炎因子, 且巨噬细胞极化受到AMPK-mTOR、Notch、MAPK、STAT、NF-κB、Akt等多条信号通路的调节; ③巨噬细胞的骨免疫学效应涉及巨噬细胞与骨骼细胞之间的串扰, 通过对生物材料刚度、粗糙度、孔径、亲水性等理化性质的修饰或结合药物、细胞因子、金属离子、microRNA等单一或多种生物活性物质, 实现巨噬细胞的骨免疫学效应在骨修复中的有效利用。

关键词: 巨噬细胞极化; 骨; 成骨; 骨免疫学; 生物材料; 组织工程

Osteoimmunological effects of macrophages

Tian Yuyi, Liu Lihong

The Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China

Tian Yuyi, Master candidate, The Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China

Corresponding author: Liu Lihong, MD, Chief physician, The Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China

Abstract

BACKGROUND: Macrophages have received extensive attention from scholars for their remarkable osteoimmunological effects, and their functions and applications have become a research hot spot. The current research mainly involves the origin, polarization and osteoimmunological effects of macrophages and their applications in bone repair.

OBJECTIVE: To confirm the outstanding research value and application prospects of macrophages in bone tissue engineering through reviewing research advances in osteoimmunological effects of macrophages and their applications in bone repair.

METHODS: PubMed, Web of Science and CNKI databases were used to search the related articles published from 2010 to 2022. The search terms were “macrophage polarization, bone, osteogenesis, osteoimmunology, biomaterials, tissue engineering”. The searches to English and Chinese language publications were limited. A small number of old classic literature was also included. An initial screening was performed by reading the titles and abstracts to exclude literature that was not relevant to the topic of the article, and 120 papers were finally included for the analysis of the results.

中南大学湘雅二医院, 湖南省长沙市 410011

第一作者: 田雨一, 女, 2001年生, 湖北省黄冈市人, 汉族, 中南大学在读硕士, 主要从事骨修复材料、骨免疫调节促骨生成方面的研究。

通讯作者: 刘立宏, 博士, 主任医师, 中南大学湘雅二医院, 湖南省长沙市 410011

https://orcid.org/0000-0002-2923-3014 (刘立宏)

基金资助: 国家自然科学基金资助项目(82171581), 项目负责人: 刘立宏

引用本文: 田雨一, 刘立宏. 巨噬细胞的骨免疫学效应 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(29):4712-4722.



RESULTS AND CONCLUSION: (1) Macrophages include monocyte-derived inflammatory macrophages and tissue-resident macrophages, of which different tissue-resident macrophages have different combinations of developmental origins; most tissue-resident macrophages originate from the yolk sac during the embryonic period. (2) Macrophages, highly plastic cells, undergo M1 or M2 macrophage polarization and release pro- or anti-inflammatory factors in response to different stimuli. Alternatively, macrophage polarization is regulated by multiple signaling pathways, including the AMPK-mTOR, Notch, MAPK, STAT, NF- κ B, and Akt signaling pathways. (3) The osteoimmunological effects of macrophages involve the crosstalk between macrophages and skeletal cells. The effective application of osteoimmunological effects of macrophages in bone repair can be realized by modifying the physicochemical properties of biomaterials such as stiffness, roughness, pore size, and hydrophilicity or by combining single or multiple biologically active substances such as drugs, cytokines, metal ions, and microRNAs.

Key words: macrophage polarization; bone; osteogenesis; osteoimmunology; biomaterial; tissue engineering

Funding: The National Natural Science Foundation of China, No. 82171581 (to LLH)

How to cite this article: TIAN Y, LIU LH. Osteoimmunological effects of macrophages. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2023;27(29):4712-4722.

0 引言 Introduction

作为先天免疫的核心组成部分，巨噬细胞以其强大的吞噬和免疫功能而闻名，但近些年的研究提示巨噬细胞的功能远比传统认知复杂，它可以维持组织稳态，参与组织修复和重塑，并调控神经活性和网络组成^[1]。由于巨噬细胞几乎遍布人体各个组织器官，所以巨噬细胞的功能失调与许多疾病的发生和发展都密切相关，例如心肌梗死、肺纤维化、类风湿性关节炎和肿瘤等等。而随着人们对巨噬细胞认识的加深，越来越多的巨噬细胞靶向策略开始被应用于各种疾病的治疗。

如何促进骨生成和修复也一直是学者们研究的重要课题。骨免疫学的发展使得学者们认识到免疫系统对于骨生成和修复的重要性，尤其是巨噬细胞，于是不少科研人员通过调控巨噬细胞行为来实现最佳的骨再生。尽管在巨噬细胞的起源、极化、疾病诊断与治疗方面已有诸多研究，但尚未有学者对巨噬细胞的骨免疫学效应的研究进展作全面综述。因此，该文首先介绍了巨噬细胞的起源、极化及其相关信号通路，之后重点讨论巨噬细胞的骨免疫学效应，包括巨噬细胞与骨骼细胞的相互作用以及巨噬细胞在骨修复材料中应用的研究进展。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者于2022年6月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 2010年1月至2022年8月。

1.1.3 检索数据库 PubMed、Web of Science 和 CNKI 数据库。

1.1.4 检索词 英文检索词为“macrophage polarization, bone, osteogenesis, osteoimmunology, biomaterials, tissue engineering”；中文检索词为“巨噬细胞极化、骨、成骨、骨免疫学、生物材料、组织工程”。

1.1.5 检索文献类型 研究原著和综述。

1.1.6 手工检索情况 手工检索纳入文献中少数年代久远的经典参考文献。

1.1.7 检索策略 以 PubMed 数据库为例，见图 1。

```
#1 macrophage[Title/Abstract]
#2 macrophage polarization[Title/Abstract]
#3 #1 OR #2
#4 bone[Title/Abstract]
#5 osteogenesis[Title/Abstract]
#6 #4 OR #5
#7 #3 AND #6
#8 osteoimmunology[Title/Abstract]
#9 #3 AND #8
#10 biomaterials[Title/Abstract]
#11 tissue engineering[Title/Abstract]
#12 #10 OR #11
#13 #7 AND #12
```

图 1 | PubMed 数据库检索策略

1.1.8 文献检索量 初步检索共获得中文文献 126 篇，英文文献 734 篇。

1.2 纳入和排除标准

1.2.1 纳入标准 ①论点、论据可靠且发表在权威、专业的杂志文献；②有关巨噬细胞的骨免疫学效应的文献。

1.2.2 排除标准 重复或与研究内容无关的文献。

1.3 数据提取 共检索到 860 篇相关文献，排除 740 篇，实际纳入 120 篇，文献检索过程见图 2。

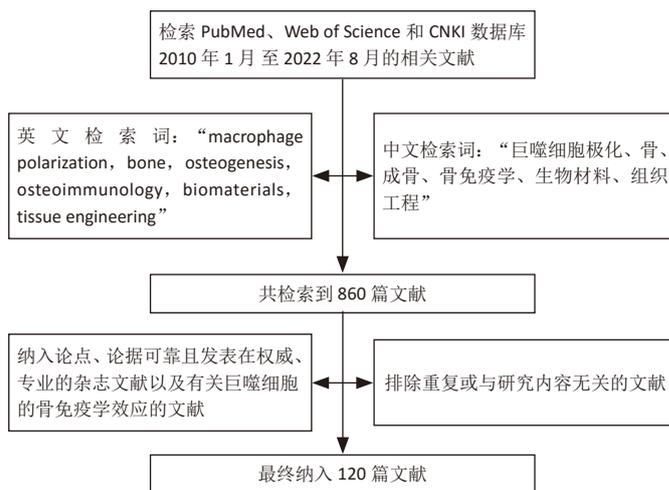


图 2 | 文献筛选流程图

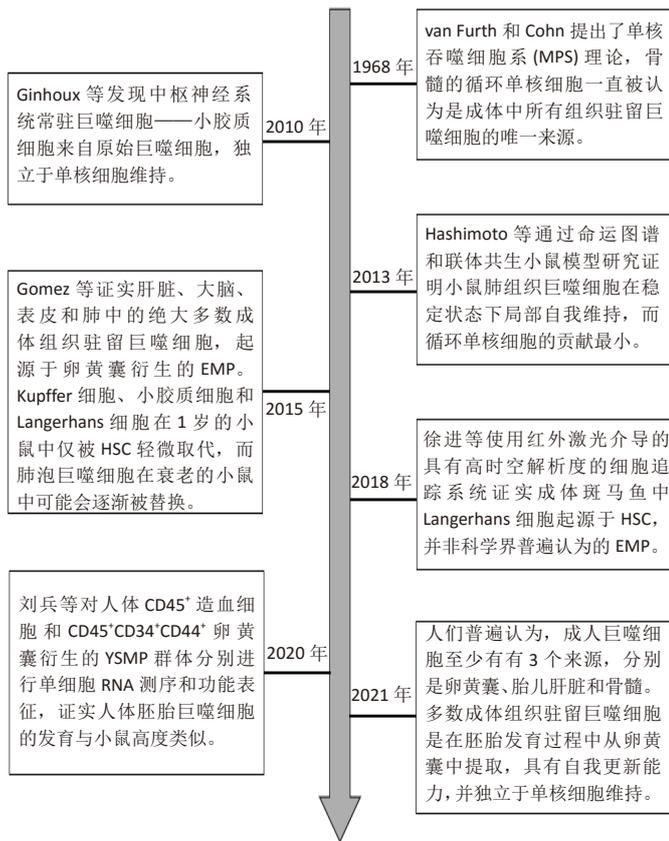
2 结果 Results

2.1 巨噬细胞的起源 巨噬细胞包括两类：一类是单核细胞来源的炎性巨噬细胞，通过血流输送到炎症部位；另一类是组织驻留巨噬细胞。组织驻留巨噬细胞根据解剖位置和功能表型的不同又分为大脑中的小胶质细胞、肝脏中的 Kupffer 细胞、皮肤中的 Langerhans 细胞、肺泡中的噬尘细胞、结缔组织中的组织巨噬细胞以及肠道、脾脏、胰腺、腹膜中的巨噬细胞等^[2]。

自从 1968 年 van Furth 和 Cohn 提出了单核吞噬细胞系统 (mononuclear phagocyte system, MPS) 理论，骨髓的循环单核细胞一直被认为是成体中所有组织驻留巨噬细胞的唯一来源^[3]。然而，越来越多的研究与组织驻留巨噬细胞假定的单核细胞起源相冲突。例如，早在 21 世纪 10 年代就发现中枢神经系统常驻巨噬细胞——小胶质细胞来自原始巨噬细胞，独立于单核细胞维持^[4]。2013 年 HASHIMOTO 等^[5]通过命运图谱和联合体共生小鼠模型研究证明小鼠肺组织巨噬细胞在稳定状态下局部自我维持，而循环单核细胞的贡献最小。2015 年 GOMEZ PERDIGUERO 等^[6]利用小鼠模型证实肝脏、大脑、表皮和肺中的绝大多数成体组织驻留巨噬细胞，起源于卵黄囊衍生的红细胞髓系祖细胞 (erythro-myeloid progenitors, EMP)。Kupffer 细胞、小胶质细胞和 Langerhans 细胞在 1 岁的小鼠中仅被造血干细胞轻微取代，而肺泡巨噬细胞在衰老的小鼠中可能会逐渐被替换。不过，该

研究对于成体组织巨噬细胞的起源以及造血干细胞和非造血干细胞衍生的祖细胞的定性和定量贡献仍然不清楚。不过在2018年国内学者质疑了皮肤中的Langerhans细胞的EMP起源理论,其使用红外激光介导的具有高时空解析度的细胞追踪系统证实成体斑马鱼中Langerhans细胞起源于造血干细胞,并非科学界普遍认为的EMP^[7]。以上研究主要以小鼠或斑马鱼为实验对象,虽然人们普遍认为巨噬细胞发育具有物种保守性,但人与小鼠或斑马鱼胚胎巨噬细胞发育是否相似缺乏明确证据。因此在2020年国内学者通过对人体CD45⁺造血细胞和CD45⁺CD34⁺CD44⁺卵黄囊衍生的髓样偏向祖细胞(yolk sac-derived myeloid-biased progenitors, YSMP)群体分别进行单细胞核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)测序和功能表征,证实人体胚胎巨噬细胞的发育与小鼠高度类似,均存在原始造血巨噬细胞和CD45⁺CD34⁺CD44⁺人体YSMP两种非造血干细胞起源,其中YSMP可能是小鼠EMP在人体的对应细胞^[8]。该研究为将来使用小鼠模型研究人体组织驻留巨噬细胞的发育和功能提供了依据。

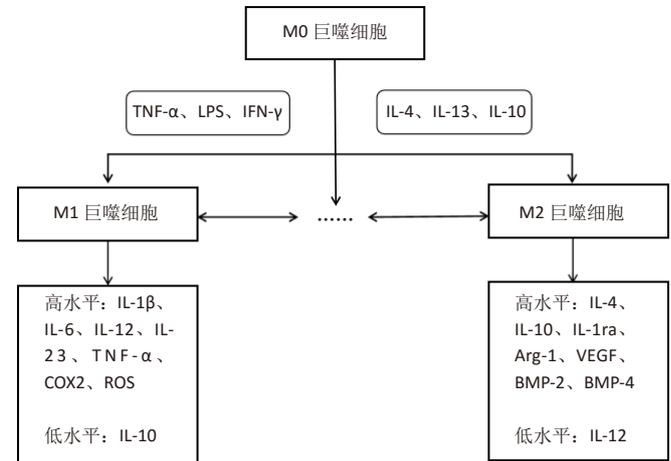
尽管巨噬细胞的起源仍存在一些争议,但人们普遍认为,成人巨噬细胞至少有3个来源,分别是卵黄囊、胎儿肝脏和骨髓^[9]。多数成体组织驻留巨噬细胞是在胚胎发育过程中从卵黄囊中提取,独立于单核细胞维持^[10]。有关巨噬细胞起源研究的时间脉络图,见图3。虽然已经发现各个组织中驻留巨噬细胞具有不同的发育起源,但发育起源对于巨噬细胞的功能异质性的影响程度尚不清楚。因此,需要进一步研究组织巨噬细胞的生成、迁移、组织定植、成熟、凋亡和替换的具体过程,此外,组织局部环境多样性和个体遗传特异性对组织巨噬细胞的表型和功能的影响也需深入研究。



图注: EMP 为红细胞髓系祖细胞; HSC 为造血干细胞; YSMP 为卵黄囊来源的髓样偏向祖细胞

图3 | 巨噬细胞起源研究的时间脉络图

2.2 巨噬细胞极化 见图4。



图注: TNF-α 为肿瘤坏死因子 α; LPS 为脂多糖; IFN-γ 为干扰素 γ; IL 为白细胞介素; COX-2 为环氧化酶 2; ROS 为活性氧; IL-1ra 为白细胞介素 1 受体拮抗剂; Arg-1 为精氨酸酶 1; VEGF 为血管内皮生长因子; BMP 为骨形态发生蛋白

图4 | 巨噬细胞的极化示意图

巨噬细胞是高度可塑的细胞,它们在各种微环境刺激下活化为促炎性 M1 和抗炎性 M2 两种表型,类似于辅助性 T 细胞的 Th1/Th2 命名法^[11]。不过 M1/2 这种极端式二分法并不能反映体内巨噬细胞活化的复杂性和动态性,因此这个概念正在慢慢被巨噬细胞表型连续体所取代,但要注意的是 M1/2 术语仍在各类研究中广泛使用^[12]。另外,在许多文章中 M1 和经典活化、M2 和替代活化可以互换使用。对此有学者提出异议,其研究证实体内 M1(=LPS+) 和体外经典活化(LPS+ 干扰素-γ) 以及体内 M2(=LPS-) 和体外替代活化(白细胞介素 4) 巨噬细胞的基因之间存在一些重叠,但更多的基因以相反或不相关的方式受到调节。因此, M1(=LPS+) 巨噬细胞不等同于经典活化, M2(=LPS-) 巨噬细胞也不等同于替代活化的巨噬细胞^[13],这也因此解释了巨噬细胞体外实验中鉴定的大多数表面标志物与体内实验并不相符的现象。

进一步研究显示 M2 型还可细分为 M2a(白细胞介素 4/ 白细胞介素 13 诱导)、M2b(免疫复合物或 Toll 样受体激动剂诱导)、M2c(白细胞介素 10 诱导)^[3]。除了上述 3 类 M2 亚群,还有一种在 Toll 样受体激动剂和腺苷的体外刺激下由 M1 巨噬细胞发展而来的血管生成 M2 样巨噬细胞亚型,被称为 M2d^[14]。另外肿瘤浸润巨噬细胞也表现出类似 M2 的表型,尽管它们的极化受到肿瘤环境和巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF) 的刺激,但也被称为 M2d^[15]。还有一类 M2 巨噬细胞的特点是在凋亡细胞吞噬后分泌抗炎因子,它们被称为 M2f(M2eff) 巨噬细胞^[16]。

巨噬细胞极化是一种动态过程,取决于局部微环境的变化,并由各种细胞内信号分子和通路调节。反之,当巨噬细胞表型发生变化时,它们表达的基因和分泌的细胞因子也会相应地发生变化,从而影响局部微环境^[17]。M1 巨噬细胞通常在肿瘤坏死因子 α、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS) 或干扰素-γ 的刺激下极化,产生高水平白细胞介素 1β、白细胞介素 6、白细胞介素 12、白细胞介素 23、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) α、环氧化酶(cyclooxygenase, COX)-2、活性氧以及低水平的白细胞介素 10。相反, M2 巨噬细胞通常在白细胞介素 4、白细胞介素 13 或白细胞介素 10 的诱导下极化,产生高水平白细胞介素 4、白细胞介素 10、白细胞介素 1 受体拮抗剂、精氨酸酶 1、血管内皮

生长因子、骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP)-2、骨形态发生蛋白 4 以及低水平的白细胞介素 12^[18-20]。有学者认为这两种巨噬细胞亚型在分泌介质的种类上没有明显差异,但在分泌物含量上会引起功能差异,例如, M2 巨噬细胞仍然可以表达 M1 分泌物,但其水平低于 M1 巨噬细胞,反之亦然^[21-22]。

即使上述巨噬细胞极化型和细胞因子分泌存在争议,但人们仍普遍认为, M1 巨噬细胞启动免疫反应并清除病原体和肿瘤细胞,参与急性炎症期,而 M2 巨噬细胞在后期组织愈合阶段起核心作用^[23]。持续的高 M1 反应、M1 的延长和缩短、M2 的缺乏将导致慢性炎症、免疫反应延长、组织愈合延迟和生物材料整合失败等等。因此,如何利用巨噬细胞的可塑性并且精准调控巨噬细胞极化具有重要的治疗意义。

由于细胞微环境的信号网络复杂,巨噬细胞极化的确切分子机制尚未完全阐明。目前已知的巨噬细胞极化的调节涉及腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR)、Notch、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK)、Janus 激酶 (janus tyrosine kinase, JAK)-信号传导及转录激活蛋白 (signal transducer and activator of transcription, STAT)、TNF、缺氧诱导因子 1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)、核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)、环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP)、血管内皮生长因子、磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt) 等多条信号通路。其中 AMPK-mTOR、Notch 和 MAPK 这 3 条信号通路在近几年受到较多关注,所以接下来将重点从 AMPK-mTOR、Notch、MAPK 3 条信号通路阐述巨噬细胞极化的调节机制。

2.2.1 AMPK-mTOR 信号通路 mTOR 是一种丝氨酸 / 苏氨酸激酶,存在于 mTORC1(mTOR complex 1)和 mTORC2(mTOR complex 2)两个不同的复合体中。关于 mTOR 在调节巨噬细胞活化中的作用, BYLES 等^[24]证明结节性硬化症蛋白复合体 1(tuberous sclerosis complex 1, TSC1)缺失导致 mTORC1 激活,从而抑制白细胞介素 4 诱导的巨噬细胞 M2 极化。HAN 等^[25]证明依维莫司 (mTOR 抑制剂)通过抑制 mTOR 途径并提高 mTOR 上游蛋白 Akt 活性,从而导致 M2 巨噬细胞极化。与上述 mTOR 途径的激活会抑制巨噬细胞 M2 极化的结论不同, LI 等^[26]证实结肠癌分泌的分泌蛋白组织蛋白酶 K 通过与 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)结合激活 mTOR 途径,刺激肿瘤相关巨噬细胞的 M2 极化。此外, AMPK 作为 mTOR 的上游调控因子,其激活被证实促进巨噬细胞 M2 极化^[27-28]。更有研究证实 AMPK-mTOR 通路参与巨噬细胞 M2 极化。其中, XU 等^[29]研究表明膜联蛋白 A1 通过甲酰肽受体 (formyl peptide receptor type 2, FPR2)/ 脂氧素 A4 受体 (lipoxin A4 receptor, ALX) 依赖性 AMPK-mTOR 通路,激活 AMPK 并抑制下游分子 mTOR,抑制 M1 极化、促进 M2 极化,防止脑缺血再灌注损伤。YANG 等^[30]发现活性氧-AMPK-mTORC1-自噬途径参与非致死性声动力疗法介导的体外巨噬细胞的 M1-M2 极化。

2.2.2 Notch 信号通路 进化保守的 Notch 信号通路由 Notch 受体、Notch 配体、CSL(c-promoter binding protein-1, Suppressor of hairless, Lag1 的合称)DNA 结合蛋白、其他的效应物和 Notch 的调节分子等组成,可在发育过程中调控细胞增殖、凋亡和细胞命运决定并维持成人组织的稳态^[31]。一般来说, Notch 通路的激活与 M1 极化相关。据文献报道, Notch 信号传导的下游介质 miR-125a, 分别通过调节抑制 HIF-1 α 和干扰素调节因子 4(interferon regulatory factor 4, IRF4)来主动增强 M1 并抑制 M2

极化^[32]。国内学者研究发现冬凌草甲素通过抑制 Notch 途径诱导巨噬细胞极化转向抗炎表型,表现出有效的抗炎活性^[33]。FENG 等^[34]在糖尿病足溃疡患者的发病机制和关键调节因子的研究中发现 Notch1 信号通路参与糖尿病患者中血管生成抑制剂 KLIPREIN 结合蛋白介导的巨噬细胞的募集和 M1 极化过程。还有研究表明非诺贝特通过抑制 HIF-1 α /Notch1 途径来减少 M1 巨噬细胞募集,从而预防糖尿病肾病^[35]。

2.2.3 MAPK 信号通路 MAPK 是一组进化保守的丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶,可分为 4 个亚族:细胞外信号调节激酶 (extracellular signal regulated kinase, ERK)、丝裂原活化蛋白激酶 38(mitogen activated protein kinase 38, p38)、C6N 末端激酶 (c-jun n-terminal kinase, JNK) 和大丝裂原活化蛋白激酶 1 (big map kinase 1, BMK1)(也称 ERK5),调节细胞的生长、分化和凋亡等多种生理过程。近些年不少研究报道 MAPK 通路依赖性参与巨噬细胞 M1 极化过程。ZHENG 等^[36]在研究西他列汀对肝脏炎症的影响时发现西他列汀通过抑制 JNK/活化蛋白-1 (activator protein-1, AP-1) 信号通路和 NF- κ B 转录活性抑制炎症并下调巨噬细胞 M1 极化。YANG 等^[37]研究表明姜黄素负载的壳聚糖-牛血清白蛋白新型纳米颗粒抑制 TLR4-MAPK/NF- κ B 信号通路并进一步下调 M1 巨噬细胞极化。JIANG 等^[38]也发现咪喹啉 2, 3-双加氧酶通过激活 MAPK/ERK 信号通路,促进烟曲霉性角膜炎的巨噬细胞极化为 M1 表型。还有研究表明 MAPK 通路的阻断与生长因子 Progranulin 抑制脂多糖诱导的巨噬细胞 M1 极化过程有关^[39]。

2.2.4 其他信号通路 还有一些信号通路被证实参与巨噬细胞极化的调控。NF- κ B 的激活被证实促进 M1 极化。其中, LI 等^[40]证实索拉非尼对 NF- κ B 和 AP-1 活化的负调节是减轻脂多糖诱导的炎症反应的主要机制之一。HE 等^[41]证实 PI3K γ /NF- κ B 信号通路的激活参与黄芩素介导的癌症中巨噬细胞 M1 极化过程。同时有许多文献报道抑制 NF- κ B 信号通路能够促进 M2 巨噬细胞极化。PENG 等^[42]证实 miR-146a 通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路促进 M2 巨噬细胞极化并加速糖尿病患者的伤口愈合。NING 等^[43]证实纤连蛋白 III 型结构域蛋白 5 (fibronectin type-III domain-containing protein 5, FNDC5)-骨髓间充质干细胞衍生的外泌体通过抑制 NF- κ B 信号通路发挥抗炎作用并促进 M2 巨噬细胞极化。除 NF- κ B 之外, Akt1 激活被证实促进巨噬细胞 M2 极化^[44]。IRF/STAT 信号传导则被认为是调节巨噬细胞极化的中心途径,其中,干扰素激活 IRF/STAT1 信号通路使巨噬细胞极化为 M1 表型,而白细胞介素 4、白细胞介素 13 激活 IRF/STAT6 信号通路使巨噬细胞极化为 M2 表型^[45], STAT3 则被证实参与 m6A 甲基转移酶介导的 M2 巨噬细胞极化的过程^[46]。

综上所述, AMPK、Akt1、STAT3/6 的激活能促进巨噬细胞 M2 极化; mTOR、Notch、MAPK、NF- κ B 或 STAT1 的激活则促进 M1 极化。然而为了适应周围组织的微环境,巨噬细胞极化是短暂且可塑的。因此,进一步探索巨噬细胞极化的动态过程以及调控这一过程的详细分子机制,不仅利于理解巨噬细胞极化表型分类,而且对阐明巨噬细胞相关疾病的发生及发展机制和设计巨噬细胞极化的调控策略具有深远意义。

2.3 巨噬细胞的骨免疫学效应

2.3.1 骨免疫学概述 早在 20 世纪 70 年代初就有研究表明破骨细胞激活因子由人外周血白细胞分泌,从而提示骨骼系统和免疫系统之间具有密切联系^[47]。而在 2000 年 Arron 和 Choi 首次提出“骨免疫学”一词,自此“骨免疫学”概念获得广泛关注——它强调免疫系统和骨骼系统的相互作用,其中包括不同的细胞以及参与细胞间通讯的介质和信号通路^[48-49]。

作为一个复杂且高度动态的器官,骨由骨髓、骨质、骨膜、

软骨、血管和神经组成，具有保护、支持、运动、造血及代谢功能^[50]。骨稳态通过成骨细胞和破骨细胞活性之间的动态平衡来维持，是实现骨骼发育和修复的保障。其中成骨细胞主要负责骨形成，起源于骨髓中的间充质干细胞和骨髓干细胞，最终分化为骨细胞；破骨细胞主要功能是骨吸收，起源于造血干细胞，通过 M-CSF 和核因子 κ B 受体活化因子配体 (receptor activator for nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 的相互作用分化为成熟的破骨细胞^[51-52]。除上述骨骼细胞外，骨周围微环境中的炎症细胞、内皮细胞和施万细胞也参与骨骼发育和修复^[53-55]。其中巨噬细胞在生理条件下的骨完整性和病理条件下的骨再生中起着关键作用，因此也引起了最多的讨论。骨的常驻巨噬细胞包括破骨细胞以及早在 20 世纪 80 年代就被观察到排列在骨表面的一组独立于破骨细胞的骨巨噬细胞 (F4/80⁺)^[56]。它们除了位于骨表面与成骨细胞相邻，直接调节成骨细胞功能并维持骨稳态，还存在于骨髓中，有利于维持骨内造血干细胞的局部微环境稳态^[57-58]。此外，感觉神经和交感神经对于骨修复中成骨分化、血管重建至关重要^[59-60]。神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 是一种神经营养因子，参与感觉神经和交感神经的发育、维持和再生^[61]。研究显示，局部注射 β -NGF 后促进软骨向骨的转化来加速软骨内骨折的修复^[62]，并且 NGF 介导的骨修复涉及相互作用的 p75 和酪氨酸激酶受体 A (tyrosine kinase receptor A, TrkA) 信号通路^[63-67]。

近些年，越来越多的文献表明骨免疫效应涉及巨噬细胞和骨骼细胞的串扰。接下来将分别从巨噬细胞与间充质干细胞、成骨细胞、破骨细胞的串扰 3 个方面综述巨噬细胞的骨免疫学效应研究进展。

2.3.2 巨噬细胞与间充质干细胞 一方面，巨噬细胞影响间充质干细胞的增殖、分化、迁移和凋亡，有助于间充质干细胞介导的骨再生，但各种巨噬细胞表型对骨再生的影响仍在争论中，详见表 1^[68-72]。

表 1 | 巨噬细胞对间充质干细胞的作用

| 作者 | 发表年份 | 巨噬细胞对间充质干细胞的作用 |
|--------------------------------|------|--|
| ZHANG 等 ^[71] | 2017 | 所有巨噬细胞亚型都促进了间充质干细胞的成骨分化，但 M2 巨噬细胞增强了间充质干细胞矿化，且这种效应与巨噬细胞和间充质干细胞的比例成正比，而 M1 和 M0 巨噬细胞仅促进间充质干细胞早中期的成骨分化 |
| VALLÉS 等 ^[68] | 2020 | M1 巨噬细胞产生的高水平肿瘤坏死因子 α 对间充质干细胞成骨没有影响，M2 巨噬细胞释放的高水平白细胞介素 10 却能增加碱性磷酸酶活性和矿化而增强间充质干细胞成骨 |
| MAHON 等 ^[69] | 2020 | M2 巨噬细胞以白细胞介素 10 依赖性方式增强体外间充质干细胞成骨 |
| ROMERO-LÓPEZ 等 ^[72] | 2020 | 虽然与单独使用间充质干细胞相比，无论极化状态如何，巨噬细胞的添加都增强了间充质干细胞成骨分化，但促炎性 M1 巨噬细胞最有效地增强了新骨的形成 |
| ZHANG 等 ^[70] | 2022 | M2 巨噬细胞诱导间充质干细胞成骨分化，并促进体内骨组织再生 |

VALLÉS 等^[68]研究了 M1/2 巨噬细胞释放的细胞因子 (肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 10) 对间充质干细胞成骨能力的影响，实验结果显示肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 10 均可提高间充质干细胞的附着和迁移能力，但 M1 巨噬细胞的影响更为明显；不过，相较于 M1 巨噬细胞产生的高水平肿瘤坏死因子 α 对间充质干细胞成骨没有影响，M2 巨噬细胞释放的高水平白细胞介素 10 却能增加碱性磷酸酶活性和矿化而增强间充质干细胞成骨。MAHON 等^[69]也得出 M2 巨噬细胞以白细胞介素 10 依赖性方式增强体内外成骨的结论。还有研究表明与星形或交错多细胞模式相比，间充质干细胞与巨噬细胞比例为 2 : 1 的太极式空间分布模式的人工生物陶瓷支架可以为骨再生提供更有利的

骨免疫环境，刺激巨噬细胞 M2 极化，诱导间充质干细胞成骨分化，并促进体内骨组织再生^[70]。ZHANG 等^[71]系统地研究了不同巨噬细胞亚型对脂肪组织间充质干细胞增殖、分化和矿化的影响，认为所有巨噬细胞亚型都促进了间充质干细胞的成骨分化，但 M2 巨噬细胞增强了间充质干细胞矿化，且这种效应与巨噬细胞和间充质干细胞的比例成正比，而 M1 和 M0 巨噬细胞仅促进间充质干细胞早中期的成骨分化。与上述认为 M2 巨噬细胞更具有增强骨再生的优势的结论不同的是，ROMERO-LÓPEZ 等^[72]认为虽然与单独使用间充质干细胞相比，无论极化状态如何，巨噬细胞的添加都增强了间充质干细胞成骨分化，但促炎性 M1 巨噬细胞最有效地增强了新骨的形成。

M1 和 M2 表型在促进骨形成方面的相对重要性一直难以确定，结果可能取决于实验细节的设置，比如巨噬细胞与间充质干细胞共培养的数量比例或空间分布。总而言之，各种巨噬细胞亚型在间充质干细胞成骨中均具有积极作用，但不同巨噬细胞亚型增强成骨分化和骨再生效应的阶段和程度可能存在一定差异。

目前普遍认为 M1 巨噬细胞在炎症早期不可或缺，M2 巨噬细胞则在骨再生后期具有较大优势，而对于骨再生最关键的是巨噬细胞表型的顺序激活和及时转换。LOI 等^[73]将巨噬细胞亚群以 1 : 1 的比例直接与小鼠胚胎成骨细胞前体细胞 (mouse embryo osteoblast precursor cells, MC3T3) 共培养，结果所有巨噬细胞亚群均可增强 MC3T3 的成骨能力，并且在共培养 72 h 时对 M1-MC3T3 进行白细胞介素 4 处理可增强成骨能力。SCHLUNDT 等^[74]则证实了在初始愈合阶段存在促炎性 M1 巨噬细胞，并且在预计软骨内骨化阶段被 M2 巨噬细胞取代；另外 M2 巨噬细胞似乎从周围肌肉侵入截骨间隙，提示 M2 巨噬细胞不是由骨髓驻留巨噬细胞提供。QIAO 等^[75]也证实了骨愈合过程中巨噬细胞表型的顺序激活模式对于生物材料诱导的骨再生非常重要。

另一方面，间充质干细胞也可以反过来影响巨噬细胞的功能，详见表 2^[76-80]。

表 2 | 间充质干细胞对巨噬细胞的作用

| 作者 | 发表年份 | 间充质干细胞对巨噬细胞的作用 |
|--------------------------------|------|--|
| CHEN 等 ^[79] | 2018 | MSC-CM 对不同亚型巨噬细胞的体外作用是不同的，例如 MSC-CM 对巨噬细胞增殖无显著影响，但抑制 M0 巨噬细胞凋亡，并轻微诱导 M1 巨噬细胞凋亡；MSC-CM 轻微抑制 M2 巨噬细胞的吞噬作用，但对 M1 巨噬细胞没有显著影响 |
| WEISS 等 ^[77] | 2019 | 间充质干细胞被证明可以促进单核巨噬细胞向 M2 表型的极化 |
| PAJARINEN 等 ^[80] | 2019 | 间充质干细胞通过分泌 CCL2 和 CCL4 等趋化因子调节巨噬细胞趋化性，以此增加巨噬细胞的募集 |
| LUQUE-CAMPOS 等 ^[76] | 2021 | 间充质干细胞可以调节巨噬细胞的代谢状态，从而改变其表型和功能 |
| RANA 等 ^[78] | 2022 | 双相磷酸钙生物材料和间充质干细胞共同植入大鼠颅骨缺损模型 4 周后循环经典单核巨噬细胞的数量增加，非经典单核巨噬细胞降低，认为骨再生归因于间充质干细胞介导的全面免疫调节 |

表注：MSC-CM 为间充质干细胞的培养基上清液；CCL 为趋化因子配体

LUQUE-CAMPOS 等^[76]认为间充质干细胞可以调节巨噬细胞的代谢状态，从而改变其表型和功能。另外间充质干细胞被证明可以促进单核巨噬细胞向 M2 表型的极化，而 M2 表型分泌的高水平白细胞介素 10 可导致促使单核巨噬细胞分化为抗炎表型的正反馈通路的形成^[77]。RANA 等^[78]观察到双相磷酸钙 (biphasic calcium phosphate, BCP) 生物材料和间充质干细胞共同植入大鼠颅骨缺损模型 4 周后经典单核巨噬细胞的数量增加，非经典单核巨噬细胞降低，认为骨再生归因于间充质干细胞介

导的全面免疫调节。CHEN 等^[79]利用间充质干细胞的培养基上清液测定间充质干细胞对不同巨噬细胞亚群增殖、凋亡、极化和吞噬作用的影响,结果发现间充质干细胞对不同亚型巨噬细胞的体外作用是不同的,例如:间充质干细胞对巨噬细胞增殖无显著影响,但抑制 M0 巨噬细胞凋亡,并轻微诱导 M1 巨噬细胞凋亡;间充质干细胞轻微抑制 M2 巨噬细胞的吞噬作用,但对 M1 巨噬细胞没有显著影响。间充质干细胞除了以上对巨噬细胞产生直接的免疫调节作用外,还通过分泌趋化因子配体(c-c motif chemokine ligand, CCL2)和 CCL4 等趋化因子调节巨噬细胞趋化性,以此增加巨噬细胞的募集^[80]。

2.3.3 巨噬细胞与成骨细胞 当前研究大多围绕组织巨噬细胞以及巨噬细胞分泌的细胞因子证实巨噬细胞对成骨细胞的作用。CHANG 等^[81]发现骨巨噬细胞通常在骨表面形成冠状结构,与成骨细胞紧密相连,并且骨巨噬细胞耗竭会损害体外成骨细胞分化和矿化,而当成骨细胞在细胞外钙存在下与巨噬细胞共育时,矿床沉积量显著增加 23 倍。BATOON 等^[82]报道在膜内(胫骨损伤)或软骨内(股骨骨折)这两种骨损伤模型中,独立于破骨细胞的 CD169 巨噬细胞的耗竭都损害了骨修复,证明 CD169 巨噬细胞对于成骨细胞的维持至关重要,并在骨修复过程中促进膜内和软骨内骨化。至于骨巨噬细胞促进成骨的机制,WANG 等^[83]在大鼠 Modic 变化的终板骨硬化模型中发现终板骨硬化伴随着骨瘤数量的增加,且骨瘤通过抑瘤素 M (oncostatin m, OSM)-STAT3 / Yes 相关蛋白 1(yes-associated protein 1, YAP1)信号轴有力地促进成骨细胞分化,而不是破骨细胞。活化的巨噬细胞通过分泌炎症细胞因子或生长因子双重调控成骨细胞的功能。肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 6 被证明负调节成骨细胞分化^[84-86]。肿瘤坏死因子 α 还参与金属磨损诱导的假体周围骨质流失中成骨细胞的凋亡^[87]。骨形态发生蛋白 2 则能刺激成骨细胞的分化和存活,有助于骨合成代谢过程^[88]。

2.3.4 巨噬细胞与破骨细胞 破骨细胞作为人体内唯一的骨吸收细胞,对于骨代谢十分重要,它们是骨常驻巨噬细胞的一个亚群,与巨噬细胞是骨髓祖细胞的两种竞争性分化的结果^[89]。不同于以往多数证实骨巨噬细胞支持成骨细胞功能的研究,最近的一项研究得出骨巨噬细胞支持破骨细胞介导的骨吸收功能的结论,提供了骨巨噬细胞参与骨质疏松症发病机制的初步证据^[90]。不过,有关骨巨噬细胞与破骨细胞之间的关系还需进一步探索。巨噬细胞极化产生的细胞因子也会影响破骨细胞的形成和分化。具体来讲, M1 型巨噬细胞分泌肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 6、白细胞介素 1 等促炎因子,通过增加破骨细胞前体增殖分化或增强成骨细胞和其他细胞中的 RANKL 分泌直接或间接地促进破骨细胞形成和分化^[91]。M2 巨噬细胞分泌白细胞介素 4、白细胞介素 10、转化生长因子 β 1 及骨形态发生蛋白 2 等抗炎因子和生长因子,对破骨细胞生成的影响并不一致。研究表明,白细胞介素 4、白细胞介素 10 和转化生长因子 β 1 抑制破骨细胞的形成和分化^[92-93]。白细胞介素 4 通过两种主要机制抑制破骨细胞的生成:下调 RANKL 和上调成骨细胞中的骨保护素表达;抑制与破骨细胞分化相关的两条信号通路 NF- κ B 和 MAPK^[94]。白细胞介素 10 和转化生长因子 β 1 都通过减少活化 T 细胞核因子 1(nuclear factor of activated T cells 1, NFATc1)表达来抑制 RANKL 诱导的破骨细胞生成^[95-96]。骨形态发生蛋白 2 是破骨细胞和成骨细胞中对骨形态发生蛋白研究最多的,除了显示出对成骨细胞的积极作用外,还能直接刺激破骨细胞的分化或通过增加成骨细胞 RANK 表达间接促进破骨细胞分化和骨吸收^[97]。此外,骨形态发生蛋白 2 也可以激活 NFATc1 转录因子, NFATc1 通过 RANKL 的转录激活促进破骨细胞分化,形成正反馈通路^[96]。

值得说明的是,目前的研究大多专注于巨噬细胞对破骨细胞或成骨细胞的影响,而忽略了骨免疫学强调的巨噬细胞和骨骼细胞的双向效应。因此为了更深入地理解及应用骨免疫学,未来有必要加强成骨细胞和破骨细胞对巨噬细胞影响的研究。

2.4 巨噬细胞的骨免疫学效应在骨修复中的应用 传统的骨缺损治疗方法存在诸多局限,例如自体骨移植的骨量有限且造成局部组织损伤;同种异体/异种移植体存在免疫排斥反应和医学伦理问题;金属植入物缺乏正常骨骼应有的生物学功能,且容易引起异物反应,不利于新骨生长等,由此开发具有免疫调节特性的生物材料甚至将其用于骨组织工程成为极具潜力的骨缺损治疗方案^[98]。随着对骨免疫学领域的不断深入,研究人员发现通过干预巨噬细胞,调节局部免疫微环境是减轻植入物触发的异物反应、促进骨修复的关键手段,而并非是制造能够最大限度减少异物反应的惰性生物材料^[99]。所以,用于调节巨噬细胞表型的各种生物材料修饰策略在近年来得到飞速发展。接下来将从多个方面回顾各种具有骨免疫调节特性的生物材料的设计策略。

2.4.1 生物材料表面理化性质修饰策略 最近的研究表明,生物材料的表面理化性质的修饰,包括刚度、粗糙度、孔径和亲水性等,都可以调节巨噬细胞的表型,详见表 3^[69-70, 100-108]。

表 3 | 生物材料表面理化性质修饰策略

| 作者(发表年份) | 生物材料 | 理化性质 | 实验结果 |
|--|---|--------|---|
| ATCHA 等 ^[100] (2021) | 聚乙二醇二丙烯酸酯-400 水凝胶 | 刚度 | 机械激活的阳离子通道 Piezo1 是巨噬细胞中刚度的机械传感器,其活性调节极化反应 |
| HE 等 ^[101] (2018) | 谷氨酰胺酶交联明胶 | 刚度 | 单细胞类型培养时,低刚度(1.58 kPa)明胶促进骨髓间充质干细胞增殖,而高刚度(60.54 kPa)明胶支持细胞成骨分化。然而,高刚度明胶中的巨噬细胞更容易极化为促炎 M1 表型。而当巨噬细胞与骨髓间充质干细胞共培养时,低刚度和高刚度明胶都诱导了相似水平的细胞成骨 |
| SRIDHARAN 等 ^[102] (2019) | 胶原蛋白/聚丙烯酰胺凝胶 | 刚度 | 硬质(323 kPa)的聚丙烯酰胺凝胶促使巨噬细胞转换为巨噬细胞中吞噬作用受损的促炎表型,而软质(11 kPa)和中等(88 kPa)硬度促使巨噬细胞转换成高吞噬性的抗炎表型 |
| HOTCHKISS 等 ^[103] (2016) | 钛 | 粗糙度 | 光滑的钛诱导巨噬细胞 M1 活化,导致促炎的白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 水平升高;相反,粗糙的钛诱导巨噬细胞 M2 活化,增加了白细胞介素 4 和白细胞介素 10 的水平 |
| ZHU 等 ^[104] (2017) | 双相磷酸钙陶瓷 | 粗糙度 | 与传统的光滑表面磷酸钙对照组相比,植入具有微晶须和纳米颗粒混合结构表面的双相磷酸钙陶瓷的比格犬体内长骨缺陷模型形成的新骨更多,骨折负荷更高 |
| MAHON 等 ^[69] (2020) | 羟基磷灰石 | 粗糙度 | 纳米级羟基磷灰石支架促进人巨噬细胞 M2 极化和抗炎因子白细胞介素 10 分泌,增加组织血管化和骨量,而微米级羟基磷灰石支架则会引发促炎反应,促进巨噬细胞 M1 极化 |
| TYLEK 等 ^[105] (2020) | 聚己内酯 | 孔径 | 纤维间孔隙为 100 μ m 至仅 40 μ m 的支架促进了人巨噬细胞伸长和 M2 极化,这些效应在孔径为 40 μ m 时最明显 |
| YIN 等 ^[106] (2019) | 胶原蛋白/壳聚糖 | 孔径 | 相对于 160 μ m,具有 360 μ m 孔径的胶原蛋白/壳聚糖支架促进巨噬细胞经历更高层次的 M1 到 M2 过渡 |
| LI 等 ^[107] (2022) | 聚己内酯/聚乙二醇/羟基磷灰石 | 孔径 | 与 P200(209.9 \pm 77.1) μ m 和 P400(385.5 \pm 28.6) μ m 相比, P600(582.1 \pm 27.2) μ m 的支架显著降低了异物反应,并诱导了更多的 M2 巨噬细胞浸润,血管向内生长和新骨形成 |
| ZHANG 等 ^[70] (2022) | NAGEL (Ca ₃ Si ₂ P ₂ O ₁₆)/45S5 生物活性玻璃 | 细胞空间分布 | 与星形或交错多细胞模式相比,间充质干细胞与巨噬细胞比例为 2 : 1 的太极式空间分布模式的人工生物陶瓷支架可以为骨再生提供更有利的骨免疫环境,刺激巨噬细胞 M2 极化,诱导间充质干细胞成骨分化,并促进体内骨组织再生 |
| HAMLET 等 ^[108] (2019) | 钛 | 亲水性 | 亲水性微粗糙的钛表面的 M1 巨噬细胞极化为 M2 型,抗炎因子和成骨基因表达显著上调,相比之下,微粗糙钛表面的 M2 巨噬细胞极化为 M1 型,促炎因子表达上调,未观察到成骨基因表达 |

较硬的材料通常倾向于促进巨噬细胞M1极化。ATCHA等^[100]发现巨噬细胞功能的刚度依赖性变化取决于机械敏感离子通道Piezo1。HE等^[101]采用刚度可调型谷氨酰胺酶交联明胶研究支架材料刚度对巨噬细胞极化的影响，发现高硬度谷氨酰胺酶交联明胶中包封的巨噬细胞可以被调节成促炎表型，并间接支持骨髓间充质干细胞成骨分化。SRIDHARAN等^[102]发现硬质的聚丙烯酰胺凝胶(323 kPa)促使巨噬细胞转换为巨噬细胞中吞噬作用受损的促炎表型，而软质(11 kPa)和中等(88 kPa)硬度促使巨噬细胞转换成高吞噬性的抗炎表型。然而，受到材料特性、刚度范围和实验模型差异等因素的影响，刚度对巨噬细胞极化的影响依旧非常复杂，需要通过进一步的体内外研究来定量分析。

表面粗糙度也是影响巨噬细胞极化的重要因素。HOTCHKISS等^[103]报道，光滑的钛诱导巨噬细胞M1活化，导致促炎的白细胞介素1β、白细胞介素6和肿瘤坏死因子α水平升高，相反，粗糙的钛表面诱导巨噬细胞M2活化，增加了白细胞介素4和白细胞介素10的水平。由于天然骨组织的表面粗糙度约为32 nm，因此纳米级生物材料近年来也得到了广泛的研究。ZHU等^[104]实验发现与传统的光滑表面双相磷酸钙对照组相比，植入具有微晶须和纳米颗粒混合结构表面的双相磷酸钙的比格犬体内长骨缺陷模型形成的新骨更多，骨折负荷更高。此外，在具有微晶须和纳米颗粒混合结构表面的双相磷酸钙与间充质干细胞共培养的体外实验中观察到促炎因子肿瘤坏死因子α和白细胞介素6水平显著下调。此外，还有研究比较了微米级与纳米级羟基磷灰石颗粒免疫调节潜力的差异，证实微米级羟基磷灰石颗粒促进巨噬细胞M2极化和抗炎因子白细胞介素10分泌，增加组织血管化和骨量，而微米级羟基磷灰石功能化支架则会引发促炎反应，促进巨噬细胞M1极化^[69]。

孔径也被证明是一种调节成骨的生物材料修饰策略。相对于容易形成局部氧气和营养物质缺乏环境的较小孔径，适宜的孔径能够诱导适度的缺氧环境，阻碍炎症反应，促进血管生成。TYLEK等^[105]发现，纤维间孔隙为100 μm至仅40 μm的纤维支架促进了人巨噬细胞伸长和M2极化，这些效应在孔径为40 μm时最为明显。YIN等^[106]发现相对于160 μm，具有360 μm孔径的胶原蛋白/壳聚糖支架促进巨噬细胞经历更高层次的M1到M2过渡。LI等^[107]通过3D打印聚己内酯/聚乙二醇/羟基磷灰石生物活性支架的孔径对免疫反应和骨-生物材料整合影响的体内实验，发现与P200(209.9±77.1) μm和P400(385.5±28.6) μm相比，P600(582.1±27.2) μm的支架显著降低了异物反应，并诱导了更多的M2巨噬细胞浸润，血管向内生长和新骨形成。一般来说，巨噬细胞可以在大小从几十微米到几百微米的孔径中极化为M2表型，不过在实际应用时须注意在权衡生物材料孔径与机械强度的同时，针对不同材料特性的支架选择不同的最佳孔径。除此之外，有报道称人造骨生物陶瓷支架中巨噬细胞的空间分布也会影响巨噬细胞的功能，从而影响成骨^[70]。

生物材料表面的亲水性等化学特性也会影响巨噬细胞的极化。一般来说，骨整合随着亲水性的增加而增强。HAMLET等^[108]为了探究钛表面修饰对巨噬细胞表型和功能的影响，分别将M1和M2巨噬细胞在微粗糙和亲水性微粗糙钛表面上培养，结果发现亲水性微粗糙表面的M1巨噬细胞极化为M2型，抗炎因子和成骨基因表达显著上调，相比之下，微粗糙表面的M2巨噬细胞极化为M1型，促炎因子表达上调，未观察到成骨基因表达。

2.4.2 生物材料结合生物活性物质 除了支架表面理化性质修饰外，药物、细胞因子、金属离子、microRNA等单一或多种生物活性物质载入生物材料已被广泛用作调节巨噬细胞极化的有效策略，详见表4^[109-120]。

表4 | 生物材料结合生物活性物质

| 作者(发表年份) | 生物材料 | 生物活性物质 | 实验结果 |
|---|---------------|----------------|--|
| SHEN等 ^[109] (2021) | 磷酸钙 | BMP-2 | 含BMP-2的磷酸钙诱导比磷酸钙更多的M2巨噬细胞极化和更高的抗炎细胞因子和生长因子的表达 |
| LIU等 ^[110] (2021) | 生物玻璃 | 地塞米松、重组人BMP-2 | 包裹地塞米松和重组人BMP-2的生物玻璃支架通过调节巨噬细胞的募集和极化来促进软骨内骨化，从而实现显著程度的异位骨形成 |
| LI等 ^[111] (2022) | 肝素锂水凝胶 | TGF-β1、锂离子 | 这种新开发的骨免疫调节生物材料平台能够促进M2巨噬细胞极化，并增强骨再生 |
| LI等 ^[112] (2022) | 聚氨酯/纳米级羟基磷灰石 | 天麻素 | 含天麻素的生物降解聚氨酯/纳米级羟基磷灰石复合生物材料能够触发M2巨噬细胞极化，并增强成骨和血管生成 |
| QI等 ^[113] (2022) | β-磷酸三钙 | 镁离子 | 含镁磷酸三钙促进了巨噬细胞向M2表型的极化，而氧化镁含量3%的磷酸三钙支架则显示出最佳的成骨和血管生成潜力 |
| WU等 ^[114] (2022) | 磷酸钙 | 镁离子 | 体外研究表明，含镁磷酸钙对人骨髓间充质干细胞和巨噬细胞没有细胞毒性作用，可以增强碱性磷酸酶活性和成骨分化，以及抑制炎症反应；体内研究表明含镁磷酸钙促进了体内新骨的形成和骨成熟 |
| HE等 ^[115] (2022) | 钛 | 镁离子 | 体外实验显示具有纳米氢氧化镁薄膜的钛表面更有利于骨髓源性巨噬细胞的M2极化、小鼠骨髓干细胞的成骨以及人脐静脉内皮细胞的血管生成，体内实验显示纳米氢氧化镁改良的钛增强骨整合 |
| LIANG等 ^[116] (2022) | 钛 | 镁离子 | 体外实验显示钛-0.625镁(质量分数)合金中镁离子的降解有利于巨噬细胞从M1至M2表型的序贯活化；体内实验显示钛-0.625镁合金的抗炎反应、再生电位和纤维组织层更弱、更小、更薄 |
| BAI等 ^[117] (2021) | 微晶生物活性玻璃 | 锌离子 | 掺入氧化锌的微晶生物活性玻璃能够调节巨噬细胞M1至M2的序贯活化，诱导人骨髓间充质干细胞体外成骨分化和体内成骨 |
| XIN等 ^[118] (2020) | 胶原蛋白 | microRNA | 含有外泌体的胶原支架促进M2巨噬细胞极化，减轻炎症，并增加了抗炎反应，而外泌体中丰富的microRNA则是诱导巨噬细胞极化的主要介质 |
| CASTAÑO等 ^[119] (2020) | 胶原蛋白/纳米级羟基磷灰石 | antagomiR-133a | 与无antagomiR的支架相比，植入含antagomiR的支架1周后骨体积增加了约2倍，4周后比对照组增加了10倍，且伴随宿主CD206(M2)巨噬细胞数量的增加 |
| MENCÍA CASTAÑO等 ^[120] (2019) | 胶原蛋白/纳米级羟基磷灰石 | antagomiR-16 | 递送antagomiR-16的支架使间充质干细胞的矿物质沉积显著增加，证明antagomiR-16进一步增强了具有已知骨修复应用潜力的支架的治疗潜力 |

表注：BMP-2为骨形态发生蛋白2；TGF-β1为转化生长因子β1蛋白；microRNA为微RNA；antagomiR-133a为miR-133拮抗剂；antagomiR-16为miR-16拮抗剂

载入细胞因子(和)或药物已经成为生物材料调节炎症反应和成骨/血管生成能力的一种常用方法。例如，SHEN等^[109]将BMP-2载入磷酸钙骨水泥中，证实BMP2-磷酸钙骨水泥诱导比磷酸钙骨水泥更多的M2表型极化和更高的抗炎细胞因子和生长因子的表达。LIU等^[110]通过将抗炎药地塞米松载入含重组人BMP-2的多级多孔生物玻璃支架中并调节其释放动力学，通过软骨内骨化实现显著的异位骨形成。还有学者使用TGF-β1制造了一种促进M2巨噬细胞极化和成骨来引导骨再生的骨免疫性生物材料平台。该平台将含有TGF-β1的明胶-肝素微球(microsphere, MS)载入可注射的肝素锂水凝胶中，其中水凝胶不仅充当MS/TGF-β1的递送载体，而且还作为促进成骨的锂离子释放基质，而TGF-β1的释放则引导巨噬细胞进行M2极化^[111]。此外，中药天麻素也被应用于生物材料的修饰。LI等^[112]开发了一种天麻素-可生物降解聚氨酯/纳米级羟基磷灰石复合生物材料，这种生物材料能够触发M2巨噬细胞极化，并增强成骨和血管生成。

镁(Mg)是骨组织中的必需元素，在骨代谢中起着重要作用，也被应用于各种骨修复材料从而发挥免疫调节作用。QI

等^[113]在 β -磷酸三钙支架中掺入不同含量的氧化镁,发现Mg- β -磷酸三钙促进了RAW264.7细胞向M2表型的极化,而氧化镁含量3%的 β -磷酸三钙支架则显示出最佳的成骨和血管生成潜力。WU等^[114]为了解决磷酸钙骨水泥中Mg降解过快的问题,开发了一种新型含Mg磷酸钙陶瓷,通过持续释放Mg离子,具有长期的机械稳定性和成骨作用。在另一项研究中,HE等^[115]在钛(Ti)表面构建了能够持续释放Mg离子的纳米结构的薄膜,体外实验显示纳米Mg(OH)₂薄膜更有利于骨髓源性巨噬细胞的M2极化、小鼠骨髓干细胞的成骨以及人脐静脉内皮细胞的血管生成,体内实验显示纳米Mg(OH)₂改良的Ti骨整合增强。LIANG等^[116]也将Mg离子掺入Ti金属中,并证实Ti-0.625Mg(质量分数)合金中Mg离子的降解有利于巨噬细胞从M1至M2表型的序贯活化。除了以上提到的Mg离子和Li离子,锌离子也被掺入微晶生物活性玻璃以调节巨噬细胞表型的序贯活化,诱导人骨髓间充质干细胞体外成骨分化和体内成骨^[117]。

最后,microRNA(miRNA)是参与基因调控的非编码小RNA分子,将其掺入生物材料中成为调控巨噬细胞极化的一种新兴策略。例如,XIN等^[118]证实胶原支架/外泌体促进M2巨噬细胞极化,减轻炎症,并增加了抗炎反应,外泌体中丰富的miRNA则是诱导巨噬细胞极化的主要介质。CASTAÑO等^[119]利用antagomiR-133a开发了一种无需在植入前添加外源细胞的胶原-纳米羟基磷灰石-miRNA支架系统,结果显示与无antagomiR的支架相比,植入支架1周后实验组骨体积增加了约2倍,4周后比对照组增加了10倍,且伴随宿主CD206(M2)巨噬细胞数量的增加。与miR-133a相同的是,antagomiR-16也被载入胶原纳米羟基磷灰石支架,用于骨修复^[120]。

3 总结与展望 Summary and prospects

3.1 既往他人在该领域研究的贡献和存在问题 就目前而言,骨组织工程是进行骨修复的高效方法,而如何恰当地充分地利用巨噬细胞成为骨修复过程中的关键步骤。既往学者针对巨噬细胞的起源、极化、骨免疫学效应以及调控巨噬细胞极化的生物材料修饰策略都有不少研究,极大地丰富了人们对该领域的认识。但由于巨噬细胞本身相对复杂,难以对巨噬细胞的骨免疫学效应的相关研究进行全面综述。此外,参与巨噬细胞极化的信号通路缺乏系统归纳。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 该文从巨噬细胞的起源、极化及其调节机制、与骨骼细胞的相互作用到各种具有免疫调节特性的生物材料的修饰策略研究进展,从巨噬细胞的基础理论到实际应用,全面总结了巨噬细胞骨免疫学效应相关的文献。

3.3 综述的局限性 文章也存在一定局限:第一,各种参与巨噬细胞极化的信号通路之间的联系尚未深入阐述;第二,由于成骨细胞/破骨细胞对巨噬细胞的作用的相关文献数量较少,所以未能完成巨噬细胞与成骨细胞/破骨细胞双向作用的讨论;第三,涉及生物材料修饰策略的文献量较大,所以文章可能无法囊括所有修饰策略。

3.4 综述的重要意义 该文通过对巨噬细胞的骨免疫学效应研究进展作一综述,证实巨噬细胞在骨组织工程中具有巨大潜力,为临床应用巨噬细胞实现骨修复提供理论支持,也为探索其他炎症相关疾病的发病机制和治疗手段提供思路。具体来说,未来可以探寻更多的巨噬细胞调控策略用于实现更佳的骨组织再生和修复,例如细胞因子、药物、miRNA以及生物材料理化性质修饰等手段的单一或联合应用,尤其是文末提到的基因调控这种新兴方法。此外,由于巨噬细胞广泛的组织分布特性和显

著的可塑性,在探讨人体其他组织炎症/自身免疫性疾病的发生、发展及治疗时,可以考虑巨噬细胞的作用。因此,针对上述巨噬细胞的研究方向,未来以下几个方面还需补充研究:第一,成骨细胞、破骨细胞甚至各种干细胞等对巨噬细胞的双向作用;第二,组织巨噬细胞的发育、迁移、组织定植、成熟、凋亡、被取代的具体过程;第三,影响巨噬细胞行为的关键因素及机制。最终,从长远角度看,如何把以上巨噬细胞相关的基础研究逐渐转换成人体内研究并提高研究成果在人体中的实用性是未来研究的一大重难点。

致谢: 感谢国家自然科学基金委予以本研究的科研经费支持。

作者贡献: 文章设计者为刘立宏;资料收集者为田雨一;数据分析者为刘立宏、田雨一;田雨一作者撰写论文;刘立宏审核。

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: 文章撰写遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA声明);出版前经过专业反剽窃文献检测系统进行3次文字和图表查重;经小同行外审专家双盲审稿,同行评议认为符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- LEE CZW, GINHOUX F. Biology of resident tissue macrophages. Development. 2022;149(8):dev200270.
- SCHLUNDT C, FISCHER H, BUCHER CH, et al. The multifaceted roles of macrophages in bone regeneration: A story of polarization, activation and time. Acta Biomater. 2021;133:46-57.
- VAN FURTH R, COHN ZA. The origin and kinetics of mononuclear phagocytes. J Exp Med. 1968;128(3):415-435.
- GINHOUX F, GRETER M, LEBOEUF M, et al. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. Science. 2010;330(6005):841-845.
- HASHIMOTO D, CHOW A, NOIZAT C, et al. Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes. Immunity. 2013;38(4):792-804.
- GOMEZ PERDIGUERO E, KLAPPROTH K, SCHULZ C, et al. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors. Nature. 2015;518(7540):547-551.
- HE S, CHEN J, JIANG Y, et al. Adult zebrafish Langerhans cells arise from hematopoietic stem/progenitor cells. Elife. 2018;7:e36131.
- BIAN Z, GONG Y, HUANG T, et al. Deciphering human macrophage development at single-cell resolution. Nature. 2020;582(7813):571-576.
- WU Y, HIRSCHI KK. Tissue-Resident Macrophage Development and Function. Front Cell Dev Biol. 2021;8:617879.
- VAROL C, MILDNER A, JUNG S. Macrophages: development and tissue specialization. Annu Rev Immunol. 2015;33:643-675.
- PÉREZ S, RIUS-PÉREZ S. Macrophage Polarization and Reprogramming in Acute Inflammation: A Redox Perspective. Antioxidants (Basel). 2022;11(7):1394.
- NEGRESCU AM, CIMPEAN A. The State of the Art and Prospects for Osteoimmunomodulatory Biomaterials. Materials (Basel). 2021;14(6):1357.

- [13] ORECCHIONI M, GHOSHEH Y, PRAMOD AB, et al. Macrophage Polarization: Different Gene Signatures in M1(LPS+) vs. Classically and M2(LPS-) vs. Alternatively Activated Macrophages. *Front Immunol.* 2019;10:1084.
- [14] FERRANTE CJ, LEIBOVICH SJ. Regulation of Macrophage Polarization and Wound Healing. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2012;1(1):10-16.
- [15] CHANMEE T, ONTONG P, KONNO K, et al. Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment. *Cancers (Basel).* 2014;6(3):1670-1690.
- [16] GRANEY PL, BEN-SHAUL S, LANDAU S, et al. Macrophages of diverse phenotypes drive vascularization of engineered tissues. *Sci Adv.* 2020; 6(18):eaay6391.
- [17] XIE Y, HU C, FENG Y, et al. Osteoimmunomodulatory effects of biomaterial modification strategies on macrophage polarization and bone regeneration. *Regen Biomater.* 2020;7(3):233-245.
- [18] LOI F, CORDOVA LA, ZHANG R, et al. The effects of immunomodulation by macrophage subsets on osteogenesis in vitro. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7:15.
- [19] SHAPOURI-MOGHADDAM A, MOHAMMADIAN S, VAZINI H, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol.* 2018;233(9):6425-6440.
- [20] MARTIN KE, GARCÍA AJ. Macrophage phenotypes in tissue repair and the foreign body response: Implications for biomaterial-based regenerative medicine strategies. *Acta Biomater.* 2021;133:4-16.
- [21] MURRAY PJ. Macrophage Polarization. *Annu Rev Physiol.* 2017;79: 541-566.
- [22] BRÜNE B, WEIGERT A, DEHNE N. Macrophage Polarization In The Tumor Microenvironment. *Redox Biol.* 2015;5:419.
- [23] WANG Y, FAN Y, LIU H. Macrophage Polarization in Response to Biomaterials for Vascularization. *Ann Biomed Eng.* 2021;49(9): 1992-2005.
- [24] BYLES V, COVARRUBIAS AJ, BEN-SAHRA I, et al. The TSC-mTOR pathway regulates macrophage polarization. *Nat Commun.* 2013;4:2834.
- [25] HAN R, GAO J, ZHAI H, et al. RAD001 (everolimus) attenuates experimental autoimmune neuritis by inhibiting the mTOR pathway, elevating Akt activity and polarizing M2 macrophages. *Exp Neurol.* 2016;280:106-114.
- [26] LI R, ZHOU R, WANG H, et al. Gut microbiota-stimulated cathepsin K secretion mediates TLR4-dependent M2 macrophage polarization and promotes tumor metastasis in colorectal cancer. *Cell Death Differ.* 2019;26(11):2447-2463.
- [27] JING Y, WU F, LI D, et al. Metformin improves obesity-associated inflammation by altering macrophages polarization. *Mol Cell Endocrinol.* 2018;461:256-264.
- [28] WANG Z, LIU M, YE D, et al. Il12a Deletion Aggravates Sepsis-Induced Cardiac Dysfunction by Regulating Macrophage Polarization. *Front Pharmacol.* 2021;12:632912.
- [29] XU X, GAO W, LI L, et al. Annexin A1 protects against cerebral ischemia-reperfusion injury by modulating microglia/macrophage polarization via FPR2/ALX-dependent AMPK-mTOR pathway. *J Neuroinflammation.* 2021;18(1):119.
- [30] YANG Y, WANG J, GUO S, et al. Non-lethal sonodynamic therapy facilitates the M1-to-M2 transition in advanced atherosclerotic plaques via activating the ROS-AMPK-mTORC1-autophagy pathway. *Redox Biol.* 2020;32:101501.
- [31] KOPAN R, ILAGAN MX. The canonical Notch signaling pathway: unfolding the activation mechanism. *Cell.* 2009;137(2):216-233.
- [32] ZHAO JL, HUANG F, HE F, et al. Forced Activation of Notch in Macrophages Represses Tumor Growth by Upregulating miR-125a and Disabling Tumor-Associated Macrophages. *Cancer Res.* 2016;76(6):1403-1415.
- [33] XU L, LI L, ZHANG CY, et al. Natural Diterpenoid Oridonin Ameliorates Experimental Autoimmune Neuritis by Promoting Anti-inflammatory Macrophages Through Blocking Notch Pathway. *Front Neurosci.* 2019; 13:272.
- [34] FENG J, DONG C, LONG Y, et al. Elevated Kallikrein-binding protein in diabetes impairs wound healing through inducing macrophage M1 polarization. *Cell Commun Signal.* 2019;17(1):60.
- [35] FENG X, GAO X, WANG S, et al. PPAR- α Agonist Fenofibrate Prevented Diabetic Nephropathy by Inhibiting M1 Macrophages via Improving Endothelial Cell Function in db/db Mice. *Front Med (Lausanne).* 2021; 8:652558.
- [36] ZHENG W, ZHOU J, SONG S, et al. Dipeptidyl-Peptidase 4 Inhibitor Sitagliptin Ameliorates Hepatic Insulin Resistance by Modulating Inflammation and Autophagy in ob/ob Mice. *Int J Endocrinol.* 2018; 2018:8309723.
- [37] YANG R, ZHENG Y, WANG Q, et al. Curcumin-loaded chitosan-bovine serum albumin nanoparticles potentially enhanced A β 42 phagocytosis and modulated macrophage polarization in Alzheimer's disease. *Nanoscale Res Lett.* 2018;13(1):330.
- [38] JIANG N, ZHANG L, ZHAO G, et al. Indoleamine 2,3-Dioxygenase Regulates Macrophage Recruitment, Polarization and Phagocytosis in *Aspergillus Fumigatus* Keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2020;61(8):28.
- [39] LIU L, GUO H, SONG A, et al. Progranulin inhibits LPS-induced macrophage M1 polarization via NF- κ B and MAPK pathways. *BMC Immunol.* 2020;21(1):32.
- [40] LI X, XU M, SHEN J, et al. Sorafenib inhibits LPS-induced inflammation by regulating Lyn-MAPK-NF- κ B/AP-1 pathway and TLR4 expression. *Cell Death Discov.* 2022;8(1):281.
- [41] HE S, WANG S, LIU S, et al. Baicalein Potentiated M1 Macrophage Polarization in Cancer Through Targeting PI3K γ /NF- κ B Signaling. *Front Pharmacol.* 2021;12:743837.
- [42] PENG X, HE F, MAO Y, et al. miR-146a promotes M2 macrophage polarization and accelerates diabetic wound healing by inhibiting the TLR4/NF- κ B axis. *J Mol Endocrinol.* 2022;69(2):315-327.
- [43] NING H, CHEN H, DENG J, et al. Exosomes secreted by FNDC5-BMMSCs protect myocardial infarction by anti-inflammation and macrophage polarization via NF- κ B signaling pathway and Nrf2/HO-1 axis. *Stem Cell Res Ther.* 2021;12(1):519.
- [44] XIAO M, BIAN Q, LAO Y, et al. SENP3 loss promotes M2 macrophage polarization and breast cancer progression. *Mol Oncol.* 2022;16(4): 1026-1044.
- [45] SICA A, MANTOVANI A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest.* 2012;122(3):787-95.
- [46] YIN H, ZHANG X, YANG P, et al. RNA m6A methylation orchestrates cancer growth and metastasis via macrophage reprogramming. *Nat Commun.* 2021;12(1):1394.
- [47] HORTON JE, RAISZ LG, SIMMONS HA, et al. Bone resorbing activity in supernatant fluid from cultured human peripheral blood leukocytes. *Science.* 1972;177(4051):793-795.
- [48] ARRON JR, CHOI Y. Bone versus immune system. *Nature.* 2000;408 (6812):535-536.
- [49] OKAMOTO K, NAKASHIMA T, SHINOHARA M, et al. Osteoimmunology: The Conceptual Framework Unifying the Immune and Skeletal Systems. *Physiol Rev.* 2017;97(4):1295-1349.

- [50] SCHLUNDT C, FISCHER H, BUCHER CH, et al. The multifaceted roles of macrophages in bone regeneration: A story of polarization, activation and time. *Acta Biomater.* 2021;133:46-57.
- [51] SALHOTRA A, SHAH HN, LEVI B, et al. Mechanisms of bone development and repair. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020;21(11):696-711.
- [52] GUDER C, GRAVIUS S, BURGER C, et al. Osteoimmunology: A Current Update of the Interplay Between Bone and the Immune System. *Front Immunol.* 2020;11:58.
- [53] MARUYAMA M, RHEE C, UTSUNOMIYA T, et al. Modulation of the Inflammatory Response and Bone Healing. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020;11:386.
- [54] JONES RE, SALHOTRA A, ROBERTSON KS, et al. Skeletal Stem Cell-Schwann Cell Circuitry in Mandibular Repair. *Cell Rep.* 2019;28(11):2757-2766.e5.
- [55] KUSUMBE AP, RAMASAMY SK, ADAMS RH. Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone. *Nature.* 2014;507(7492):323-328.
- [56] HUME DA, LOUITT JF, GORDON S. The mononuclear phagocyte system of the mouse defined by immunohistochemical localization of antigen F4/80: macrophages of bone and associated connective tissue. *J Cell Sci.* 1984;66:189-194.
- [57] CHANG MK, RAGGATT LJ, ALEXANDER KA, et al. Osteal tissue macrophages are intercalated throughout human and mouse bone lining tissues and regulate osteoblast function in vitro and in vivo. *J Immunol.* 2008;181(2):1232-1244.
- [58] WINKLER IG, SIMS NA, PETTIT AR, et al. Bone marrow macrophages maintain hematopoietic stem cell (HSC) niches and their depletion mobilizes HSCs. *Blood.* 2010;116(23):4815-4828.
- [59] CAO J, ZHANG S, GUPTA A, et al. Sensory Nerves Affect Bone Regeneration in Rabbit Mandibular Distraction Osteogenesis. *Int J Med Sci.* 2019;16(6):831-837.
- [60] LIU Z, SUH JS, DENG P, et al. Epigenetic Regulation of NGF-Mediated Osteogenic Differentiation in Human Dental Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells.* 2022;40(9):818-830.
- [61] BRACCI-LAUDIERO L, DE STEFANO ME. NGF in Early Embryogenesis, Differentiation, and Pathology in the Nervous and Immune Systems. *Curr Top Behav Neurosci.* 2016;29:125-152.
- [62] RIVERA KO, RUSSO F, BOILEAU RM, et al. Local injections of β -NGF accelerates endochondral fracture repair by promoting cartilage to bone conversion. *Sci Rep.* 2020;10(1):22241.
- [63] LI Z, MEYERS CA, CHANG L, et al. Fracture repair requires TrkA signaling by skeletal sensory nerves. *J Clin Invest.* 2019;129(12):5137-5150.
- [64] LEE S, HWANG C, MARINI S, et al. NGF-TrkA signaling dictates neural ingrowth and aberrant endochondral differentiation after soft tissue trauma. *Nat Commun.* 2021;12(1):4939.
- [65] DELAY L, BARBIER J, AISSOUNI Y, et al. Tyrosine kinase type A-specific signalling pathways are critical for mechanical allodynia development and bone alterations in a mouse model of rheumatoid arthritis. *Pain.* 2022;163(7):e837-e849.
- [66] XU J, LI Z, TOWER RJ, et al. NGF-p75 signaling coordinates skeletal cell migration during bone repair. *Sci Adv.* 2022;8(11):eabl5716.
- [67] FRANCO ML, NADEZHIN KD, LIGHT TP, et al. Interaction between the transmembrane domains of neurotrophin receptors p75 and TrkA mediates their reciprocal activation. *J Biol Chem.* 2021;297(2):100926.
- [68] VALLÉS G, BENSAMAR F, MAESTRO-PARAMIO L, et al. Influence of inflammatory conditions provided by macrophages on osteogenic ability of mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):57.
- [69] 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. *Biomaterials.* 2020;239:119833.
- [70] ZHANG B, HAN F, WANG Y, et al. Cells-Micropatterning Biomaterials for Immune Activation and Bone Regeneration. *Adv Sci (Weinh).* 2022;9(18):e2200670.
- [71] ZHANG Y, BÖSE T, UNGER RE, et al. Macrophage type modulates osteogenic differentiation of adipose tissue MSCs. *Cell Tissue Res.* 2017;369(2):273-286.
- [72] ROMERO-LÓPEZ M, LI Z, RHEE C, et al. Macrophage Effects on Mesenchymal Stem Cell Osteogenesis in a Three-Dimensional In Vitro Bone Model. *Tissue Eng Part A.* 2020;26(19-20):1099-1111.
- [73] LOI F, CÓRDOVA LA, ZHANG R, et al. The effects of immunomodulation by macrophage subsets on osteogenesis in vitro. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7:15.
- [74] SCHLUNDT C, EL KHAASAWNA T, SERRA A, et al. Macrophages in bone fracture healing: Their essential role in endochondral ossification. *Bone.* 2018;106:78-89.
- [75] QIAO W, XIE H, FANG J, et al. Sequential activation of heterogeneous macrophage phenotypes is essential for biomaterials-induced bone regeneration. *Biomaterials.* 2021;276:121038.
- [76] LUQUE-CAMPOS N, BUSTAMANTE-BARRIENTOS FA, PRADENAS C, et al. The Macrophage Response Is Driven by Mesenchymal Stem Cell-Mediated Metabolic Reprogramming. *Front Immunol.* 2021;12:624746.
- [77] WEISS ARR, DAHLKE MH. Immunomodulation by Mesenchymal Stem Cells (MSCs): Mechanisms of Action of Living, Apoptotic, and Dead MSCs. *Front Immunol.* 2019;10:1191.
- [78] RANA N, SULIMAN S, MOHAMED-AHMED S, et al. Systemic and local innate immune responses to surgical co-transplantation of mesenchymal stromal cells and biphasic calcium phosphate for bone regeneration. *Acta Biomater.* 2022;141:440-453.
- [79] CHEN B, NI Y, LIU J, et al. Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Exert Diverse Effects on Different Macrophage Subsets. *Stem Cells Int.* 2018;2018:8348121.
- [80] PAJARINEN J, LIN T, GIBON E, et al. Mesenchymal stem cell-macrophage crosstalk and bone healing. *Biomaterials.* 2019;196:80-89.
- [81] CHANG MK, RAGGATT LJ, ALEXANDER KA, et al. Osteal tissue macrophages are intercalated throughout human and mouse bone lining tissues and regulate osteoblast function in vitro and in vivo. *J Immunol.* 2008;181(2):1232-1244.
- [82] BATOON L, MILLARD SM, WULLSCHLEGER ME, et al. CD169+ macrophages are critical for osteoblast maintenance and promote intramembranous and endochondral ossification during bone repair. *Biomaterials.* 2019;196:51-66.
- [83] WANG J, ZHENG Z, HUANG B, et al. Osteal Tissue Macrophages Are Involved in Endplate Osteosclerosis through the OSM-STAT3/YAP1 Signaling Axis in Modic Changes. *J Immunol.* 2020;205(4):968-980.
- [84] SUN W, MEEDNU N, ROSENBERG A, et al. B cells inhibit bone formation in rheumatoid arthritis by suppressing osteoblast differentiation. *Nat Commun.* 2018;9(1):5127.
- [85] KANESHIRO S, EBINA K, SHI K, et al. IL-6 negatively regulates osteoblast differentiation through the SHP2/MEK2 and SHP2/Akt2 pathways in vitro. *J Bone Miner Metab.* 2014;32(4):378-392.
- [86] HARMER D, FALANK C, REAGAN MR. Interleukin-6 Interweaves the Bone Marrow Microenvironment, Bone Loss, and Multiple Myeloma. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;9:788.

- [87] HAMEISTER R, LOHMANN CH, DHEEN ST, et al. The effect of TNF- α on osteoblasts in metal wear-induced periprosthetic bone loss. *Bone Joint Res.* 2020;9(11):827-839.
- [88] WU S, XIAO Z, SONG J, et al. Evaluation of BMP-2 Enhances the Osteoblast Differentiation of Human Amnion Mesenchymal Stem Cells Seeded on Nano-Hydroxyapatite/Collagen/Poly(L-Lactide). *Int J Mol Sci.* 2018;19(8):2171.
- [89] YANG D, WAN Y. Molecular determinants for the polarization of macrophage and osteoclast. *Semin Immunopathol.* 2019;41(5):551-563.
- [90] BATOON L, MILLARD SM, RAGGATT LJ, et al. Osteal macrophages support osteoclast-mediated resorption and contribute to bone pathology in a postmenopausal osteoporosis mouse model. *J Bone Miner Res.* 2021;36(11):2214-2228.
- [91] JUNG YK, KANG YM, HAN S. Osteoclasts in the Inflammatory Arthritis: Implications for Pathologic Osteolysis. *Immune Netw.* 2019;19(1):e2.
- [92] XU H, ZHAO H, LU C, et al. Triptolide Inhibits Osteoclast Differentiation and Bone Resorption In Vitro via Enhancing the Production of IL-10 and TGF- β 1 by Regulatory T Cells. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:8048170.
- [93] TANAKA K, YAMAGATA K, KUBO S, et al. Glycolaldehyde-modified advanced glycation end-products inhibit differentiation of human monocytes into osteoclasts via upregulation of IL-10. *Bone.* 2019;128:115034.
- [94] MUÑOZ J, AKHAVAN NS, MULLINS AP, et al. Macrophage Polarization and Osteoporosis: A Review. *Nutrients.* 2020;12(10):2999.
- [95] TOKUNAGA T, MOKUDA S, KOHNO H, et al. TGF β 1 Regulates Human RANKL-Induced Osteoclastogenesis via Suppression of NFATc1 Expression. *Int J Mol Sci.* 2020;21(3):800.
- [96] SUN Y, LI J, XIE X, et al. Macrophage-Osteoclast Associations: Origin, Polarization, and Subgroups. *Front Immunol.* 2021;12:778078.
- [97] BORDUKALO-NIKŠIĆ T, KUFNER V, VUKIČEVIĆ S. The Role Of BMPs in the Regulation of Osteoclasts Resorption and Bone Remodeling: From Experimental Models to Clinical Applications. *Front Immunol.* 2022;13:869422.
- [98] NIU Y, WANG Z, SHI Y, et al. Modulating macrophage activities to promote endogenous bone regeneration: Biological mechanisms and engineering approaches. *Bioact Mater.* 2020;6(1):244-261.
- [99] XIE Y, HU C, FENG Y, et al. Osteoimmunomodulatory effects of biomaterial modification strategies on macrophage polarization and bone regeneration. *Regen Biomater.* 2020;7(3):233-245.
- [100] ATCHA H, JAIRAMAN A, HOLT JR, et al. Mechanically activated ion channel Piezo1 modulates macrophage polarization and stiffness sensing. *Nat Commun.* 2021;12(1):3256.
- [101] HE XT, WU RX, XU XY, et al. Macrophage involvement affects matrix stiffness-related influences on cell osteogenesis under three-dimensional culture conditions. *Acta Biomater.* 2018;71:132-147.
- [102] SRIDHARAN R, CAVANAGH B, CAMERON AR, et al. Material stiffness influences the polarization state, function and migration mode of macrophages. *Acta Biomater.* 2019;89:47-59.
- [103] HOTCHKISS KM, REDDY GB, HYZY SL, et al. Titanium surface characteristics, including topography and wettability, alter macrophage activation. *Acta Biomater.* 2016;31:425-434.
- [104] ZHU Y, ZHANG K, ZHAO R, et al. Bone regeneration with micro/nano hybrid-structured biphasic calcium phosphate bioceramics at segmental bone defect and the induced immunoregulation of MSCs. *Biomaterials.* 2017;147:133-144.
- [105] TYLEK T, BLUM C, HRYNEVICH A, et al. Precisely defined fiber scaffolds with 40 μ m porosity induce elongation driven M2-like polarization of human macrophages. *Biofabrication.* 2020;12(2):025007.
- [106] YIN Y, HE X T, WANG J, et al. Pore size-mediated macrophage M1-to-M2 transition influences new vessel formation within the compartment of a scaffold. *Applied Materials Today.* 2019;18:100466.
- [107] LI W, DAI F, ZHANG S, et al. Pore Size of 3D-Printed Polycaprolactone/Polyethylene Glycol/Hydroxyapatite Scaffolds Affects Bone Regeneration by Modulating Macrophage Polarization and the Foreign Body Response. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2022;14(18):20693-20707.
- [108] HAMLET SM, LEE RSB, MOON HJ, et al. Hydrophilic titanium surface-induced macrophage modulation promotes pro-osteogenic signalling. *Clin Oral Implants Res.* 2019;30(11):1085-1096.
- [109] SHEN H, SHI J, ZHI Y, et al. Improved BMP2-CPC-stimulated osteogenesis in vitro and in vivo via modulation of macrophage polarization. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2021;118:111471.
- [110] LIU Y, YANG Z, WANG L, et al. Spatiotemporal Immunomodulation Using Biomimetic Scaffold Promotes Endochondral Ossification-Mediated Bone Healing. *Adv Sci (Weinh).* 2021;8(11):e2100143.
- [111] LI D, YANG Z, ZHAO X, et al. Osteoimmunomodulatory injectable Lithium-Heparin hydrogel with Microspheres/TGF- β 1 delivery promotes M2 macrophage polarization and osteogenesis for guided bone regeneration. *Chem Eng J.* 2022;135:134991.
- [112] LI L, LI Q, GUI L, et al. Sequential gastrin release PU/n-HA composite scaffolds reprogram macrophages for improved osteogenesis and angiogenesis. *Bioact Mater.* 2022;19:24-37.
- [113] QI D, SU J, LI S, et al. 3D printed magnesium-doped β -TCP gyroid scaffold with osteogenesis, angiogenesis, immunomodulation properties and bone regeneration capability in vivo. *Biomater Adv.* 2022;136:212759.
- [114] WU J, LIU F, WANG Z, et al. The Development of a Magnesium-Releasing and Long-Term Mechanically Stable Calcium Phosphate Bone Cement Possessing Osteogenic and Immunomodulation Effects for Promoting Bone Fracture Regeneration. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;9:803723.
- [115] HE Y, YAO M, ZHOU J, et al. Mg(OH)₂ nanosheets on Ti with immunomodulatory function for orthopedic applications. *Regen Biomater.* 2022;9:rbac027.
- [116] LIANG L, SONG D, WU K, et al. Sequential activation of M1 and M2 phenotypes in macrophages by Mg degradation from Ti-Mg alloy for enhanced osteogenesis. *Biomater Res.* 2022;26(1):17.
- [117] BAI X, LIU W, XU L, et al. Sequential macrophage transition facilitates endogenous bone regeneration induced by Zn-doped porous microcrystalline bioactive glass. *J Mater Chem B.* 2021;9(12):2885-2898.
- [118] XIN L, LIN X, ZHOU F, et al. A scaffold laden with mesenchymal stem cell-derived exosomes for promoting endometrium regeneration and fertility restoration through macrophage immunomodulation. *Acta Biomater.* 2020;113:252-266.
- [119] CASTAÑO IM, RAFTERY RM, CHEN G, et al. Rapid bone repair with the recruitment of CD206+M2-like macrophages using non-viral scaffold-mediated miR-133a inhibition of host cells. *Acta Biomater.* 2020;109:267-279.
- [120] MENCÍA CASTAÑO I, CURTIN CM, DUFFY GP, et al. Harnessing an Inhibitory Role of miR-16 in Osteogenesis by Human Mesenchymal Stem Cells for Advanced Scaffold-Based Bone Tissue Engineering. *Tissue Eng Part A.* 2019;25(1-2):24-33.

(责任编辑: ZN, ZH)