

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2018.11.002

· 专家论坛 ·

基于“骨免疫微环境调控”的骨替代材料研发理念

陈泽涛, 王小双, 张琳璐

中山大学附属口腔医院口腔种植科·光华口腔医学院·广东省口腔医学重点实验室, 广东 广州(510055)



【通信作者简介】 陈泽涛, 研究员, 博士生导师。担任中华口腔医学会口腔生物医学专委会委员, 广东省口腔医学会口腔种植专委会委员, 广东省青年联合会委员。2012年毕业于中山大学光华口腔医学院, 获口腔临床医学硕士学位(口腔种植学方向)。2015年毕业于澳大利亚昆士兰科技大学, 取得博士学位, 2016年获中山大学百人计划引进回国。近年作者课题组提出“骨免疫调控性能”的概念, 指导新一代免疫智能骨替代材料的研发, 成果发表于 *ACS Nano*、*Mater Today*、*Biomaterials* 等。共发表SCI学术论文27篇, 累计影响因子达167.118, 受邀发表综述1篇(IF: 21.695), 参编专著1部, 参与专利1项, 申请专利3项。主持国家自然科学基金青年基金、国家千人计划青年项目、广东省杰出青年项目等基金项目7项。

【摘要】 由于成骨细胞与骨形成的直接联系, 传统骨替代材料的研发主要致力于调控成骨细胞系的直接成骨向分化从而达成生物材料介导成骨的目的。然而, 骨生物学的研究进展揭示局部微环境, 尤其是免疫微环境对成骨过程具有重要调控作用。骨免疫学理论揭示免疫系统和骨骼系统联系密切, 共用许多细胞因子与调控因子; 免疫细胞在骨相关的生理病理过程中发挥了重要作用。既往的研究理念过于强调成骨细胞的直接调控, 而忽略对成骨分化微环境的管理。基于这一研究背景, 笔者课题组提出基于“骨免疫微环境调控”的骨替代材料研发理念: 研发材料通过调控免疫细胞反应诱导产生良好的骨免疫微环境, 从而协调成骨与破骨过程, 达到最佳骨再生效果。本文综述结合骨免疫学和生物材料免疫调节性能的研究进展, 阐述基于“骨免疫微环境调控”的研发理念, 旨在提高生物材料的临床转化率, 更好的为临床骨缺损, 尤其是口腔颌骨缺损修复服务, 解决颌骨缺损再生修复的科学难题。

【关键词】 骨再生; 成骨分化; 骨替代材料; 免疫微环境; 骨免疫微环境调控; 巨噬细胞

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2018)11-0688-11

【引用著录格式】 陈泽涛, 王小双, 张琳璐. 基于“骨免疫微环境调控”的骨替代材料研发理念[J]. 口腔疾病防治, 2018, 26(11): 688-698.

The concept of “osteimmunomodulation” and its application in the development of “osteimmune-smart” bone substitute materials CHEN Zetao, WANG Xiaoshuang, ZHANG Linjun. Department of Oral Implantology, Guanghua School of Stomatology, Sun Yat-sen University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Stomatology, Guangzhou 510055, China

Corresponding author: CHEN Zetao, Email: chenzt3@mail.sysu.edu.cn, Tel: 0086-20-87330592

【Abstract】 The traditional biological principle for developing bone biomaterials is to directly stimulate the osteogenic

【收稿日期】 2018-06-12; **【修回日期】** 2018-06-21

【基金项目】 第14批国家千人计划青年项目; 国家自然科学基金项目(81701024); ITI Research Grant(12672017); 广东省杰出青年科学基金项目(2018B030306030)

【通信作者】 陈泽涛, 研究员, 博士, Email: chenzt3@mail.sysu.edu.cn, Tel: 0086-20-87330592

differentiation of osteoblastic lineage cells, the direct effector cells for osteogenesis. This strategy has been successful for the development of bone biomaterials. However, recent progress in bone biology has revealed the vital role of the local bone microenvironment, especially the immune environment, in controlling osteogenesis. Interdisciplinary osteoimmunology has found that the osteoimmune and skeletal systems are closely related, sharing numerous cytokines and regulators. In addition, immune cells play an important role in the physiological and pathological processes of the skeletal system, suggesting that neglecting the importance of the immune response is a major shortcoming of the traditional strategy. Based on this principle, we propose a novel "osteimmunomodulation"-based strategy to meet the strict requirements of new-generation bone biomaterials: instead of directly regulating the osteogenic differentiation of osteoblastic lineage cells, we should focus more on manipulating the responses of immune cells and developing biomaterials to induce an immune environment that provides conditions that balance osteogenesis and osteoclastogenesis for optimal osseointegration. This article reviews the recent progress on osteoimmunology and immunomodulatory biomaterials for the generation of the "osteimmunomodulation" concept. Additionally, the outcomes of "osteimmunomodulation"-related studies have been summarized to guide the development of advanced "osteimmune-smart" bone substitute materials.

【Key words】 Bone regeneration; Osteogenic differentiation; Bone substitute materials; Immune microenvironment; Osteoimmunomodulation; Macrophage

骨肿瘤、外伤、先天发育缺陷、广泛存在的牙周病、缺失牙后所导致的牙槽骨吸收等引起的骨缺损是骨科及口腔临床上最为常见的临床症状之一,具有极高的发病率,严重影响患者正常口腔及骨骼功能的发挥^[1,2]。由于环境与食物污染的不断加剧,肿瘤及先天发育缺陷的发病率呈大幅度上升的趋势。随着人口老龄化进程的加速,患牙周病和受缺失牙后所引起的牙槽骨吸收困扰的患者也急剧增加。全身系统性疾病如糖尿病和骨质疏松等,增加了骨折的发生率,降低了骨骼质量,提高了骨再生修复的治疗难度。因此,如何实现骨再生修复成为一个棘手而又急需解决的临床问题。应用骨替代材料进行骨缺损修复是临床上常用的治疗手段,研发具有高效成骨效能的骨替代材料具有重要的临床意义。本文首先综述骨替代材料的发展沿革并解析不同阶段骨替代材料研发理念及其不足之处,进一步结合本课题组新近在骨替代材料与骨免疫系统交互作用的研究成果,提出基于“骨免疫微环境调控”的骨替代材料研发理念,指导新一代“骨免疫调控智能”骨替代材料的研发,从而提高骨缺损再生修复的效果。

1 骨替代材料的发展沿革及其研发理念和不足

自体骨是进行颅颌面骨缺损修复的“金标准”,已被应用于临床近百年^[3]。但自体骨移植移植骨量有限,存在着供区损伤、移植后骨吸收、短期不稳定性等一系列问题,限制了其临床应

用^[4-5]。其“延伸”出的异体骨移植虽解决了部分自体骨来源限制问题,但其生物性能及机械性能不佳,且有传播疾病的风险,临床失败率较高^[6]。传统天然骨替代材料的不足,促成了各种人工骨替代材料的研发与运用。19世纪后期,金属材料(钴、银、钛等)开始运用于骨缺损修复;20世纪后,钙磷灰石、陶瓷、生物玻璃、高分子化合物等人工合成材料开始出现,并作为骨替代材料运用于临床,取得了一定骨缺损修复效果^[7-9]。

1.1 第一代骨替代材料

回顾骨替代材料的发展沿革,第一代骨替代材料的研发主要关注了基于机械物理化学原理的骨缺损区直接充填,即在外形上基本恢复缺损,提供良好的机械支持,化学组成上与天然骨组织相近。然而,这种研发策略把骨替代材料做为没有“生命力”的机械恢复手段,而忽略了骨缺损的修复是一个动态的生理过程,多种细胞及细胞因子参与其中,材料植入体内后与机体相互作用的生理反应过程对骨组织再生有着关键影响^[10-11]。第一代骨替代材料的研发忽略了骨组织修复过程中的生理性,骨缺损修复效果难以达到临床需求。

1.2 第二代骨替代材料

第二代骨替代材料的研发思路从与骨形成直接相关的成骨细胞入手,通过将骨替代材料直接作用于成骨干细胞后,促进成骨分化,实现骨再生修复。然而,体内成骨分化是在由骨骼系统、免疫系统、循环系统等多个系统细胞协同营造的局部

骨微环境中完成的。骨替代材料的植入,不可避免地改变整个骨微环境。真正调控成骨分化的是骨替代材料与多系统细胞相互作用后所形成的新的骨微环境,而非材料单独作用完成。忽略其他系统细胞及其形成微环境的重要性,研发的骨替代材料将可能对微环境产生不当的调控,导致不利骨再生微环境的产生及失败的体内成骨。

1.3 第三代骨替代材料研发设想

因此,本课题组提出第三代骨替代材料的研发设想(图1):提高骨替代材料的成骨效能,除了关注材料对“干细胞”成骨分化的直接作用,更应关注材料对“干细胞分化微环境”的调控,才能避免骨替代材料潜在的“骨微环境调控缺陷”,突破当前的研发瓶颈。

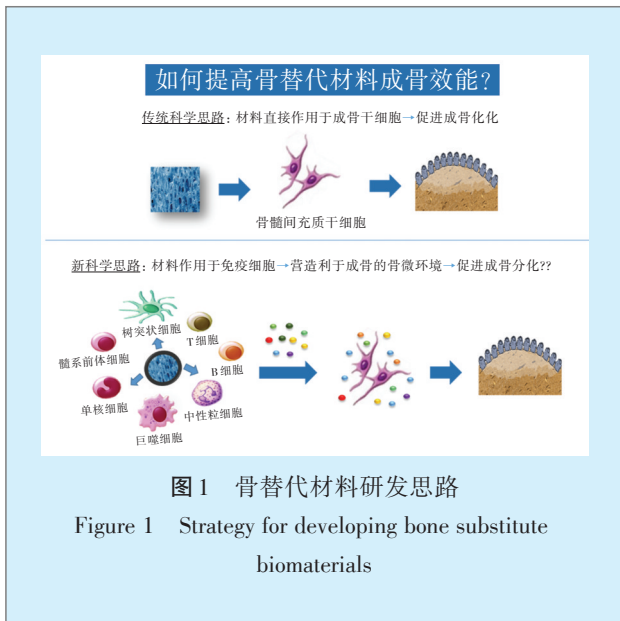


图1 骨替代材料研发思路
Figure 1 Strategy for developing bone substitute biomaterials

2 免疫系统在骨再生中的作用

随着骨免疫概念的提出及其在骨再生领域的发展,研究者逐渐发现在局部骨微环境的形成中,免疫细胞扮演着中心调控者的角色:通过调节生长因子、趋化因子、炎症因子等多种因子的表达,调控骨再生中成骨分化、破骨分化、纤维化、血管化等多个与骨再生密切相关的过程^[10,12](图2)。免疫系统和骨骼系统密切相关,在细胞因子、受体、信号方面有着许多共性^[13-14]。免疫细胞释放调控因子能影响骨组织的成骨和破骨过程。炎症细胞因子白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1),肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)以及白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)能增强破骨细胞的

分化和破骨活动^[15]。



图2 免疫细胞在骨再生中的调控作用
Figure 2 Effect of immune cells on bone dynamics

2.1 B细胞和T细胞

研究显示,近三分之二骨髓来源的骨保护素(osteoprotegerin, OPG)由B细胞产生^[16],说明在正常的生理过程中,B细胞为破骨活动的主要抑制者。活化T细胞的表面可表达核因子 $\kappa\beta$ 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor- $\kappa\beta$ ligand, RANKL)分子,促进破骨细胞的形成,增强骨吸收^[17]。RANKL与前破骨细胞表面的核因子 $\kappa\beta$ 受体活化因子(receptor activator of nuclear factor- $\kappa\beta$, RANK)结合后可激活RANKL/RANK信号通路,通过RANKL/RANK-OPG反应轴直接促进破骨细胞的形成与分化^[18-19]。但同时T细胞亦可释放干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)抑制破骨细胞的生成^[20]。IFN- γ 能通过促进RANKL/RANK通路的关键中间体肿瘤坏死因子受体相关分子6(tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6)降解,阻断RANKL/RANK信号通路的激活,从而抑制破骨细胞形成,防止生理炎症反应过程中的过度骨破坏^[21]。

2.2 巨噬细胞

巨噬细胞可分为M1型和M2型,对骨组织的生理和病理过程均具有重要影响。M1型巨噬细胞主要调控破骨过程,但Guihard等^[22]研究发现M1巨噬细胞还可通过抑瘤素M(oncostatin M, OSM)通

路诱导骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)的成骨分化。OSM是IL-6家族中的一种细胞因子,与IL-6有相同的受体亚基gp130^[23-24],可通过与MSC表面的II型受体结合激活转录因子STAT3相关信号通路,诱导成骨细胞分化,促进骨再生^[25-26]。M2型巨噬细胞主要参与骨组织再生过程的中后期组织修复,能通过分泌骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein 2, BMP-2)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等多种细胞因子诱导骨形成^[16]。

以上充分体现了免疫反应与骨再生过程的密切联系。免疫细胞是骨再生微环境的中心调控者,其创造的免疫微环境对成骨与破骨活动具有显著的影响,在骨再生过程中发挥了关键作用。前期研究通过调控免疫微环境已实现对炎症性骨病变,如类风湿性关节炎、强直性脊柱炎等的成功治疗^[27-32],进一步提示管理骨免疫微环境的必要性。要解决骨替代材料潜在的“骨微环境调控缺陷”,必须关注材料对骨免疫微环境的调控作用。通过优化材料的性能,引导出利于干细胞成骨分化的免疫微环境,实现高效成骨效果。

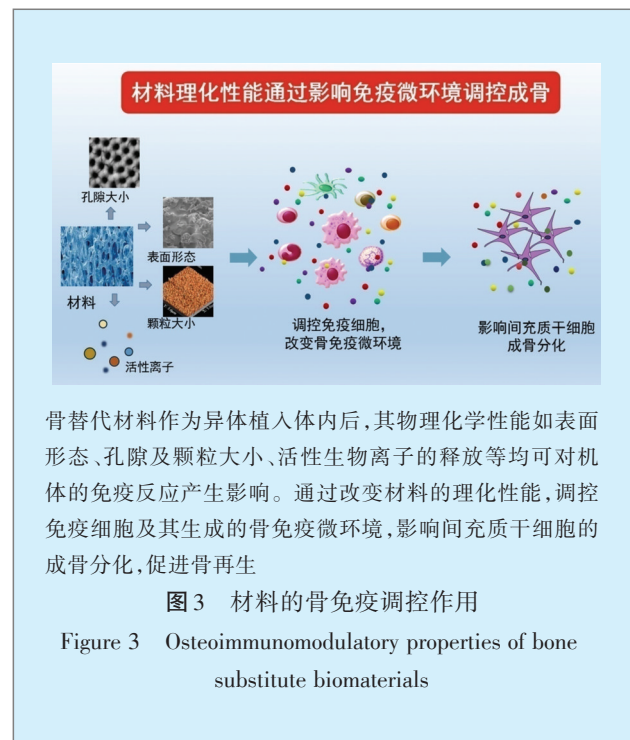
3 材料的不同理化性能与免疫调节作用

生物材料植入体内后,机体的免疫细胞将做出最为快速的反应,识别“异物”生物材料,引起“异物信号级联免疫反应”,启动宿主防御机制^[33]。过度的炎症反应,将引起“异物反应”,形成慢性炎症以及纤维包裹,将“异物”与机体隔绝或者排出体外。为避免这一不良反应,传统生物材料的研发策略倾向制备“生物惰性”(无免疫排斥)材料从而提高材料的生物相容性^[34-35]。

然而,大量的研究发现免疫细胞除了引起“有害”的异物反应外,在材料与宿主体周围组织的有效整合及功能恢复上,也发挥着不可或缺的“积极”作用。免疫细胞的缺失,会严重阻碍材料介导骨组织再生修复。Alexander等^[36]的研究发现,在小鼠胫骨缺损模型中,清除小鼠体内的巨噬细胞将明显抑制编织骨沉积与新生骨矿化。研究显示通过基因敲除造成小鼠体内T细胞、B细胞缺失,有一定促进骨缺损处早期成骨矿化的作用,但却造成细胞周围基质形成与骨矿化沉积过程失衡,最终成骨的质量并不理想^[37-39]。此外,免疫细胞参与了前成骨细胞的募集过程,对成骨分化也具有重要的调控作用^[40-41]。免疫细胞是整个再生微环

境的中心调控者,决定生物材料再生治疗的转归^[35]。基于这一科学原理,新一代生物材料的研发策略从研发“惰性(无免疫排斥)”材料转向研发具有“免疫调节性”的材料,强调积极主动调控免疫细胞,从而营造利于组织再生免疫微环境的重要性^[34-35,42]。

生物材料的不同理化性能如表面特性、颗粒与孔隙大小、生物活性离子的释放等,对其诱导的局部免疫反应情况均有显著的影响^[19,43-46](图3)。



3.1 材料表面性能与免疫调节作用

材料表面直接与周围免疫环境接触、反应,其润湿度、表面形态、电荷情况等均影响周围环境中免疫细胞的生物学行为。一般而言,相比于亲水表面,疏水表面可提高单核细胞的附着水平而引起更强的局部免疫反应^[47-48]。有趣的是,有研究发现亲水/中性共聚物(2-甲基丙烯酰氧乙基磷酸胆碱/羟基丙烯酸丁酯)表面相比单纯的亲水(丁基丙烯酸丁酯)或疏水(聚氨酯)表面能更显著抑制单核细胞与巨噬细胞黏附,同时与对照组(组织培养聚苯乙烯板)表面相比,能明显地抑制炎症因子IL-6、IL-1 β 和TNF- α 的表达^[49]。材料的表面粗糙度也能影响免疫细胞的吸附与伸展,随着粗糙度的增加,巨噬细胞在材料表面的延展性增强^[50]。对钛表面进行喷砂和酸蚀处理,改变其粗糙度,可调节

巨噬细胞炎症因子与趋化因子的释放,具有骨免疫调节潜能^[51]。对于表面电荷情况,一般认为阳离子粒子比阴离子粒子和中性材料更能促进炎症反应^[46,52]。

3.2 材料的颗粒大小与免疫调节作用

除了表面性能,材料的颗粒大小同样对于免疫反应具有重要影响。生物材料作为异物植入体内,免疫系统根据颗粒大小对材料进行降解处理^[46]。巨噬细胞作为免疫防御细胞,可以吞噬最大直径5 μm的颗粒,对于更大的颗粒,巨噬细胞将融合形成异物巨细胞^[53]。对于同等质量的材料,颗粒越小,表面积与化学活性越大,从而能对细胞的生物活性产生更大的影响,具有骨免疫调节潜能^[54],小直径的羟基磷灰石微粒(1~30 μm)能刺激免疫细胞产生最多的促炎细胞因子(TNF-α、IL-1α、IL-6)^[55]。但这并不表明颗粒越小其刺激产生的免疫反应越强烈。有体内研究表明,不规则羟基磷灰石颗粒减小体积后可相对抑制炎症反应^[56]。

3.3 支架的孔隙率、孔径与免疫调节作用

孔隙率和孔隙大小是骨组织工程支架制备的两个关键参数,决定了长入支架的组织类型(炎性肉芽组织、血管组织或骨组织)。过小的孔隙可能会严重影响营养与氧气的扩散,导致局部缺氧微环境的形成及局部炎症反应,最终形成肉芽肿堵塞孔隙阻止了骨细胞长入及骨形成^[57-58]。但同时缺氧环境也能通过稳定低氧诱导因子(hypoxia-inducible factors, HIFs),促进血管化而促进骨生成^[59-60]。有研究表明,材料较大的孔隙率与孔径更有利于骨组织的长入同时减轻炎症反应^[61-62]。通过调整孔隙大小与孔隙率从而诱导适当的缺氧环境,可以避免过度炎症反应而促进血管化与骨再生。

3.4 生物活性离子的添加与免疫调节作用

添加生物活性成分到骨替代材料已经成为增强材料的骨修复能力的有效手段。加入了生物活性成分的骨生物材料植入体内后,通过物理化学溶解、水解、酶腐蚀等作用释放出活性生物离子,这些离子对于局部生物微环境具有显著影响。已有大量研究表明钙离子、镁离子、锌离子、钴离子、锶离子等均可作为生物活性离子调节免疫微环境。

3.4.1 Ca²⁺ Ca是磷酸钙骨生物活性材料的重要组成部分,参与非经典Wnt信号通路Wnt5A/Ca²⁺,促进炎症反应^[63]。除此之外,高浓度(5 mmol/L)的

细胞外Ca离子还可通过激活钙感受体(CaSR)级联反应减少TNF-α的表达,从而减弱炎症反应^[64]。提示Ca在调节免疫反应中的高度可塑性。

3.4.2 Mg²⁺ Mg具有与天然骨相近的生物降解性及生物相容性,作为可降解的金属骨科材料应用于临床。Mg离子可通过抑制toll样受体(toll-like receptor, TLR)通路,抑制炎症细胞因子的生成^[65]。体内研究显示Mg在局部骨再生环境的缓慢释放有促进骨愈合的作用^[66]。

3.4.3 Zn²⁺ Zn可以增加抗炎细胞因子IL-10的释放,减少TNF-α和IL-1β的表达^[67]。

3.4.4 Sr²⁺ Sr作为一种微量元素,具有促进成骨和抑制破骨细胞生成的作用^[68]。有研究将Sr引入钙磷材料,结果显示在高离子浓度(500 mmol/L)与低离子浓度(10 mmol/L)环境中,其均有抑制单核细胞释放促炎细胞因子TNF-α的作用^[69]。许多生物活性离子均可对免疫反应产生一系列影响。通过不同生物活性元素的组合及浓度控释来调控骨免疫微环境从而促进成骨可能成为新型骨生物活性材料的重要研发策略。

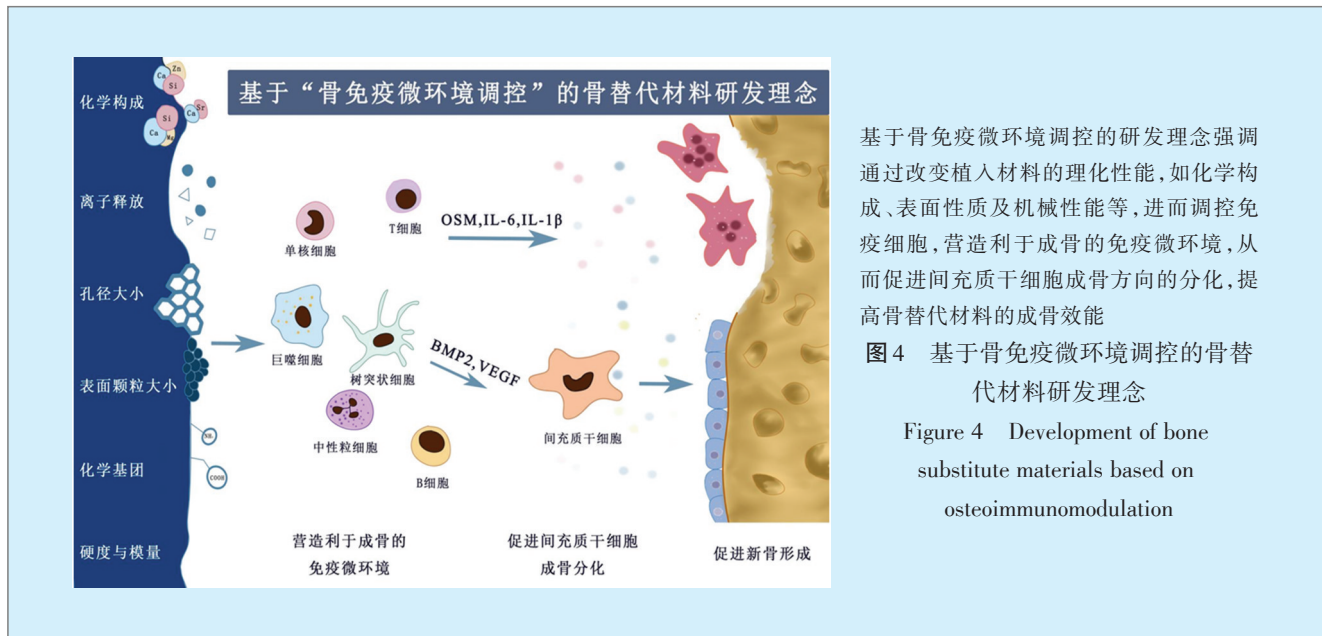
4 基于“骨免疫微环境调控”理念的骨替代材料的应用研发

4.1 “骨免疫微环境调控”理念

鉴于免疫细胞与骨稳态的这一特殊关系,本课题组研究提出,骨生物材料的“免疫调节性能”应优化为“骨免疫调控性能”,强调生物材料调节免疫细胞后营造的骨免疫微环境对成骨及破骨过程的关键调控作用^[10,70-71](图4)。

要实现“骨免疫调控智能”骨替代材料的研发,首先应阐明免疫细胞在骨替代材料成骨过程中的关键作用及机理,验证调控免疫微环境的必要性并揭示关键免疫细胞,提供靶向调控的目标细胞。为回答这一科学问题,本课题组通过解析骨替代材料体内成骨成功及失败的案例,发现巨噬细胞的骨免疫反应是骨替代材料能否成功诱导成骨的关键。磷酸三钙促使巨噬细胞往M2的亚型转变,同时上调BMP-2的表达,营造的免疫微环境明显的促进MSCs的成骨分化,证实巨噬细胞及其产生的BMP-2在磷酸三钙成功诱导成骨中的关键作用^[70]。

而在失败的案例中,钴离子植入磷酸三钙促使巨噬细胞往M1的亚型转变,导致过度的炎症反应及纤维包裹的形成,营造的免疫微环境抑制



基于骨免疫微环境调控的研发理念强调通过改变植入材料的理化性能,如化学构成、表面性质及机械性能等,进而调控免疫细胞,营造利于成骨的免疫微环境,从而促进间充质干细胞成骨方向的分化,提高骨替代材料的成骨效能

图4 基于骨免疫微环境调控的骨替代材料研发理念

Figure 4 Development of bone substitute materials based on osteoimmunomodulation

MSCs的成骨分化,证实异常功能反应的巨噬细胞会导致骨替代材料诱导成骨的失败^[72]。从而证实巨噬细胞在材料与骨再生系统的相互作用中扮演着关键角色,调控骨免疫微环境必须关注巨噬细胞的骨免疫反应。

4.1.1 骨替代材料理化性能改变对巨噬细胞骨免疫反应的调控 为进一步探索调改骨替代材料的理化性能参数对巨噬细胞骨免疫反应的调控作用,及其对成骨分化的影响,本课题组从材料化学成分维度入手,采用固态反应法,将SrO, MgO和SiO₂整合形成Sr₂MgSi₂O₇,通过释放Mg²⁺,抑制巨噬细胞中TLR通路的活化,成功降低了促炎因子的表达,促进巨噬细胞往M2亚型转变^[73]。然而,该元素组骨免疫微环境却不能很好地促进成骨分化。有趣的是,当把Mg元素置换为Zn元素时,新型微量元素复合材料(Sr₂ZnSi₂O₇)作用于巨噬细胞后产生的骨免疫微环境则可促进MSCs的成骨分化^[74]。其机制与BMP-2的释放及下游通路的活化相关。提示了化学元素构成对骨免疫微环境的重要调控作用。进一步的研究提示,通过改变种植体表面沉积的微量元素的组成及比例,如Ca与Sr,可以促进巨噬细胞向M2方向极化,从而促进骨组织再生及成血管过程,这一作用可能与BMP-2、VEGF及IL-10的分泌增多有关,其中当Ca: Sr = 2:1时,诱导的免疫微环境成骨效能最佳^[75]。在研发具有优秀骨免疫调节性能的骨替代材料时,设计材料的化学元素构成是一种可行的策略^[75-76]。

除了化学构成外,材料纳米表面结构也可以产生显著的调控作用。采用阳极氧化法,笔者成功地在铝片表面形成高度有序的氧化物纳米孔或纳米管。通过改变电解液的浓度、电场电压、热处理条件等,本课题组成功地制备了具有不同纳米孔径大小(15、50、100、200 nm)的表面。进一步的探索发现,巨噬细胞在不同孔径大小的界面产生显著不同的骨免疫反应,而其机制是通过改变巨噬细胞的形态,将胞外的理化信号转入胞内,激活自噬反应。其中,50 nm和100 nm的孔径大小所产生的骨免疫微环境最有利于MSCs的成骨分化^[11]。另外,骨替代材料的孔隙率和孔径大小也会影响长入细胞的类型,包括有炎症肉芽组织、血管组织及骨组织,其中有研究表明,80%~88%的孔隙率和大于50 nm孔径的支架材料更适于骨组织的长入^[77],并且这两个因素对于巨噬细胞的极化也可产生影响,例如在胶原膜材料中,胶原纤维的孔隙率和孔径大小可作用于小鼠骨髓来源的巨噬细胞,随着孔隙率和孔径大小的增加,巨噬细胞M2相关标志物表达增加,而M1相关的标志物表达下降^[78]。同时,亦有研究发现可以通过改变植入材料的表面粗糙度来调控巨噬细胞,在亚微米级的钛表面粗糙度范围内(100~400 nm),随着钛表面粗糙度的增加,成骨细胞的分化加强,巨噬细胞的细胞骨架随钛表面粗糙度的变化而变化,TNF-α、IL-6、IL-4及IL-10等细胞因子的分泌也可通过钛表面粗糙度来调节^[47]。

除了孔径大小的影响,本课题组还进一步探索了纳米表面化学构成及颗粒大小的影响。等离子体聚合纳米工程技术利用放电使挥发性的有机类气态单体等离子气体化在材料表面形成聚合体薄膜,形成具有不同官能团表面的纳米厚度涂层。由于具有超薄纳米厚度,可保留基底纳米颗粒等超微结构。联合应用等离子体聚合法及静电自组装纳米工程技术,本课题组精准制备出具有不同纳米颗粒大小(16、38、68 nm)和不同表面化学成分的纳米表面结构(富含胺基的丙烯酸及富含羧基的丙烯酸)。进一步发现,两种化学界面均能抑制巨噬细胞的炎症反应,而富含胺基的丙烯酸的抑制作用更为有效。纳米颗粒的加入,加强了化学界面的抑炎作用,其机制与调控巨噬细胞的形态及胞内自噬反应相关。其中,68 nm复合丙烯酸这一纳米表面所产生的骨免疫微环境最有利于MSCs的成骨分化^[79]。

此外,材料化学界面的润湿性也可对巨噬细胞及相关细胞因子产生影响,有实验表明在高表面润湿性的材料表面上培养的巨噬细胞可产生抗炎微环境^[43]。

4.1.2 骨替代材料机械性能改变对巨噬细胞骨免疫反应的调控 另一方面,植入材料的机械性能也能调节巨噬细胞的活化状态。有研究表明,通过改变在大鼠体内皮下组织植入的多聚氨基甲酸乙酯支架的模量可以调节巨噬细胞表型,该实验制备了基质模量在5~266 MPa范围内的多聚氨基甲酸乙酯的支架,结果表明当支架的模量与胶原纤维最接近时,即模量为24 MPa时,促进机体再生反应的效应最强,此时成纤维细胞中Wnt/ β -连环蛋白信号传导通路下调,同时促进了巨噬细胞向M2型极化^[80]。此外,有研究显示,材料的硬度对巨噬细胞的附着没有明显影响,但可以影响巨噬细胞的形态。当小鼠巨噬细胞受到脂多糖的刺激时,硬度更大的水凝胶能促进巨噬细胞促炎相关基因的表达,如TNF- α 、IL-1 β 及IL-6,从而引发更强的异物反应,提示低硬度的水凝胶引发的异物反应更轻,因此可能更适合应用在组织工程之中^[81]。

4.2 “骨免疫调控智能”新型骨替代材料的应用研发

从实践探索的研究成果看出,通过精密调改材料表面理化性能(化学组分构成、纳米表面孔径、颗粒大小、机械性能等),制作具有特定某一个理化参数的材料,可以对靶向细胞巨噬细胞的骨

免疫反应产生相应特定的调控,进而营造特定于该理化参数的特有骨免疫微环境。基于这一研究成果,本课题组进一步将“骨免疫微环境调控”的研发理念应用于镁金属、种植体、屏障膜等分支领域,成功研发出具有骨免疫调控“智能”的新型骨生物材料,营造出利于成骨的免疫微环境,有效促进新骨的形成,证实靶向调控巨噬细胞介导的骨免疫微环境,可以提高骨替代材料介导的成骨修复效果。

4.2.1 新型镁金属材料 镁金属材料具有极佳的生物机械性能,其力学表现与松质骨相似,另外作为可降解材料,其最终可为新生骨组织替代,因而成为骨组织工程领域的“明星”金属材料^[62,82]。然而,不当的降解速率与过激的炎症反应所产生的不良免疫微环境却制约了这类材料的广泛应用。通过磷酸三钙改性镁金属支架材料,成功的降低巨噬细胞介导的材料降解速率,下调巨噬细胞的炎症反应及成纤维因子的表达,抑制破骨分化,上调成血管及成骨因子的表达,营造出的骨免疫微环境可显著促进成骨分化,成功研发出兼有适当的降解性能和优秀骨免疫调控性能的镁金属支架材料^[83]。

4.2.2 新型种植体涂层材料 提高种植体的骨整合是口腔种植学研究的难题。种植体涂层曾被视为提高种植体骨整合的有效策略,然而,涂层引入后带来植体与涂层的脱层、涂层与骨组织的不良整合效果等关键问题制约了涂层的应用。通过整合微量营养元素(MgSiO₃),研发具有“骨免疫调控智能”的种植体涂层,结合等离子喷涂的涂层制备方法,极大提高了涂层与种植体的结合强度,同时形成了具有优秀骨免疫调控性能的涂层材料,有效提高种植体的骨整合效果,成功解决了涂层“脱层”与“不良骨整合”两大科学问题^[84]。

4.2.3 新型屏障胶原膜 引导骨组织再生技术是口腔临床颌骨再生的一个重要技术,通过首先将骨修复材料填充于骨缺损部位,然后覆盖屏障膜以防止周围软组织长入,分隔软硬组织的再生环境,保障骨组织再生的顺利完成。屏障膜材料在引导骨组织再生中发挥着重要作用,分隔软硬组织再生环境,直接影响最终的治疗效果。传统屏障膜的研发策略集中关注其物理屏障功能、降解性能及如何规避免疫原性提高生物相容性。然而,屏障膜的植入,除了产生基本的物理屏障作用,还对局部微环境产生影响,直接影响组织再生

效果,这一调控作用却一直被忽略。忽略屏障膜对局部微环境的调控作用,将可能产生不利于骨组织再生的微环境,从而对再生进程产生不良的影响。本课题组发现临床常用的BioGide胶原膜植入体内后,产生明显的免疫应答,光滑面和粗糙面呈现不同的应答效果,粗糙面形成一个明显的单核细胞浸润带,组织化学分析法证实这一细胞带以巨噬细胞为主^[79]。体外实验进一步证实,胶原膜能促进巨噬细胞分泌促炎因子TNF α 、IL-1 β 、IL-6和IL-18等,通过释放BMP-2、OSM等促成骨因子,有效促进了MSCs的成骨分化,证实了胶原膜的有效骨免疫调控作用^[85]。近期材料学研究进展提示,研发具有免疫应答性的胶原膜,赋予调控巨噬细胞的极化和调节促炎和抗炎免疫微环境的平衡的良好性能,可能是提升引导骨组织再生技术治疗效果的一个新型策略^[86]。

为了实现对胶原膜骨免疫调控性能的优化,本课题组通过采用脉冲激光沉积技术,成功的将Ca₂ZnSi₂O₇均匀的涂布于胶原膜表面,在胶原纤维上形成大小均匀的纳米颗粒,赋予胶原膜优秀的骨免疫调控性能,有效促进成骨分化^[85]。相关研究还表明,负载有免疫相关因子的胶原膜,如IL-4,可以通过IL-4的释放,促进抗炎相关因子的表达,从而促进炎症的消除。此外,改变胶原膜的孔隙率与孔径、负载相关生长因子、表面颗粒大小等,也可能影响巨噬细胞的活化状态与极化方向,也是优化胶原膜的骨免疫调控性能的可行方向^[86]。

4.2.4 新型纳米骨替代材料 介孔二氧化硅纳米颗粒是一种常用的药物或生长因子载体,具有比表面积大、颗粒尺寸可控等优点。在骨再生中的应用,常作为成骨及成血管因子如BMP-2、VEGF的载体,通过缓释促成骨及成血管因子促进血管化新骨的形成^[87]。然而,这一方法存在生长因子昂贵、释放不稳定等缺点。笔者通过简单的“in situ one-pot”合成法,将铜元素载入介孔二氧化硅纳米颗粒中,实现铜元素的缓释。进一步作用于巨噬细胞,发现其可促使巨噬细胞分泌促成骨因子OSM及促成血管因子VEGF,从而促进成骨分化及血管再生,实现具有免疫调控、促成血管、促成骨的多功能纳米材料的研发^[88]。这一新型材料的研发是基于对巨噬细胞骨免疫反应的调控,营造利于成骨及成血管的免疫微环境,避免了昂贵生长因子的使用,而通过简易的制备方法将廉价的铜元素载入介孔硅中,从而避免高值医用材料的

使用。

5 小结

骨缺损是临床的重大问题,具有发病率高、危害大的特点。研发具有优秀成骨效能的骨替代材料,实现骨缺损再生修复,具有重要的科学及转化医学意义。骨替代材料的研发,除了关注干细胞成骨分化的直接调控,还应关注对干细胞分化的微环境尤其是免疫微环境的管理,调控出利于成骨分化的局部微环境,诱导新骨的形成。基于这一科学原理,本文提出“调控免疫细胞,营造利于成骨微环境,从而提高成骨效能”这一新研发思路,并凝练出“骨免疫调控性能”的理念,深入阐明了骨免疫微环境的多向调节作用、评估内容、评估方法以及调控策略,为构建“生物材料骨免疫调节”的新分支交叉学科提供科学基础,指导新一代具有靶向调控免疫微环境的先进多功能骨替代材料的研发,从而提高骨替代材料成骨效能,满足骨缺损再生修复需求。

参考文献

- [1] Tang D, Tare RS, Yang LY, et al. Biofabrication of bone tissue: approaches, challenges and translation for bone regeneration[J]. *Biomaterials*, 2016, 83(1): 363-382.
- [2] Gong T, Xie J, Liao J, et al. Nanomaterials and bone regeneration[J]. *Bone Res*, 2015, 3(3): 123-129.
- [3] Oryan A, Alidadi S, Moshiri A, et al. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions[J]. *J Orthop Surg Res*, 2014, 9(1): 18.
- [4] Kenley RA, Yim K, Abrams J, et al. Biotechnology and bone graft substitutes[J]. *Pharm Res*, 1993, 10(10): 1393-1401.
- [5] García-Gareta E, Coathup MJ, Blunn GW. Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration[J]. *Bone*, 2015, 81(1): 112-121.
- [6] Polo-Corrales L, Latorre-Esteves MJ. Scaffold design for bone regeneration[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2014, 14(1): 15-56.
- [7] Fillingham YJ. Bone grafts and their substitutes[J]. *Bone Joint J*, 2016, 98-B(Suppl 1A): 6-9.
- [8] Kaur G, Pandey OP, Singh K, et al. A review of bioactive glasses: their structure, properties, fabrication, and apatite formation[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2014, 102(1): 254-274.
- [9] Campana V, Milano G, Pagano E, et al. Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2014, 25(10): 2445-2461.
- [10] Chen Z, Klein T, Murray RZ, et al. Osteoimmunomodulation for the development of advanced bone biomaterials[J]. *Mater Today*, 2016, 19(6): 304-321.
- [11] Chen Z, Ni S, Han S, et al. Nanoporous microstructures mediate

- osteogenesis by modulating the osteo-immune response of macrophages[J]. *Nanoscale*, 2017, 9(2): 706-718.
- [12] Schmidt-Bleek K, Schell H, Lienau J, et al. Initial immune reaction and angiogenesis in bone healing[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2014, 8(2): 120-130.
- [13] Terashima AH. Overview of osteoimmunology[J]. *Calcif Tissue Int*, 2018, 102(5): 503-511.
- [14] Limmer A, Wirtz DC. Osteoimmunology: influence of the immune system on bone regeneration and consumption[J]. *Z Orthop Unfall*, 2017, 155(3): 273-280.
- [15] Charles JM. Bone and the innate immune system[J]. *Curr Osteoporosis Rep*, 2014, 12(1): 1-8.
- [16] Freytes DO, Kang JW, Marcos-Campos I, et al. Macrophages modulate the viability and growth of human mesenchymal stem cells [J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(1): 220-229.
- [17] Sigl VJ. Chapter 8-RANK and RANKL of bones, T cells, and the mammary glands[J]. *Osteoimmunol*, 2016: 121-142.
- [18] Walsh MC, Choi Y. Biology of the RANKL-RANK-OPG system in immunity, bone, and beyond[J]. *Front Immunol*, 2014, 5(1): 511.
- [19] Walsh MC, Takegahara N, Kim H, et al. Updating osteoimmunology: regulation of bone cells by innate and adaptive immunity[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2018, 14(3): 146-156.
- [20] Pacifici R. The immune system and bone[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2010, 503(1): 41-53.
- [21] Ota Y, Niino H, Ota S, et al. Generation mechanism of RANKL(+) effector memory B cells: relevance to the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18(1): 67.
- [22] Guihard P, Danger Y, Brounais B, et al. Induction of osteogenesis in mesenchymal stem cells by activated monocytes/macrophages depends on oncostatin M signaling[J]. *Stem Cells*, 2012, 30(4): 762-772.
- [23] O'Brien CA, Lin SC, Bellido T, et al. Expression levels of gp130 in bone marrow stromal cells determine the magnitude of osteoclastogenic signals generated by IL-6-type cytokines[J]. *J Cell Biochem*, 2000, 79(4): 532-541.
- [24] Sims NA, Quinn JM. Osteoimmunology: oncostatin M as a pleiotropic regulator of bone formation and resorption in health and disease[J]. *Bonekey Rep*, 2014, 3(1): 527.
- [25] Sato F, Miyaoka Y, Miyajima A, et al. Oncostatin M maintains the hematopoietic microenvironment in the bone marrow by modulating adipogenesis and osteogenesis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e116209.
- [26] Xie Z, Tang S, Ye G, et al. Interleukin-6/interleukin-6 receptor complex promotes osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 13.
- [27] Fouque-Aubert A, Chapurlat R. Influence of RANKL inhibition on immune system in the treatment of bone diseases[J]. *Joint Bone Spine*, 2008, 75(1): 5-10.
- [28] Schlundt C, Schell H, Goodman SB, et al. Immune modulation as a therapeutic strategy in bone regeneration[J]. *J Exp Orthop*, 2015, 2(1): 1-10.
- [29] Kim TJ, Lee SJ, Cho YN, et al. Immune cells and bone formation in ankylosing spondylitis[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2012, 30(4): 469-475.
- [30] Geusens PW. Osteoimmunology and osteoporosis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(5): 242-242.
- [31] Tseng HW, Pitt ME, Glant TT, et al. Inflammation-driven bone formation in a mouse model of ankylosing spondylitis: sequential not parallel processes[J]. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18(1): 35.
- [32] Schett G. Osteoimmunology in rheumatic diseases[J]. *Arthritis Res Ther*, 2009, 11(1): 210-210.
- [33] Anderson JM, Rodriguez AD. Foreign body reaction to biomaterials Semin[J]. *Immunol*, 2008, 20(2): 86-100.
- [34] Williams DF. On the Nature of biomaterials[J]. *Biomaterials*, 2009, 30(30): 5897-5909.
- [35] Franz S, Rammelt S, Scharnweber D, et al. Immune responses to implants - a review of the implications for the design of immunomodulatory biomaterials[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(28): 6692-6709.
- [36] Alexander KA, Chang MK, Maylin ER, et al. Osteal macrophages promote *in vivo* intramembranous bone healing in a mouse tibial injury model[J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(7): 1517-1532.
- [37] Toben D, Schroeder I, El Khassawna T, et al. Fracture healing is accelerated in the absence of the adaptive immune system[J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(1): 113-124.
- [38] El Khassawna T, Serra A, Bucher CH, et al. T lymphocytes influence the mineralization process of bone[J]. *Front Immunol*, 2017, 8(1): 562.
- [39] Könnecke I, Serra A, El Khassawna T, et al. T and B cells participate in bone repair by infiltrating the fracture callus in a two-wave fashion[J]. *Bone*, 2014, 64(Suppl 1): 155-165.
- [40] Weitzmann MI. Physiological and pathophysiological bone turnover-role of the immune system[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2016, 12(9): 518-532.
- [41] Gibon E, Lu LS. Aging inflammation, stem cells, and bone healing [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7(1): 1-7.
- [42] Mokarram NR. A perspective on immunomodulation and tissue repair[J]. *Ann Biomed Eng*, 2014, 42(2): 338-351.
- [43] Hotchkiss KM, Reddy GB, Hyzy SL, et al. Titanium surface characteristics, including topography and wettability, alter macrophage activation[J]. *Acta Biomater*, 2016, 31(1): 425-434.
- [44] Li B, Jiang S, Xie J, et al. Mitigation of inflammatory immune responses with hydrophilic nanoparticles[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2018, 57(17): 4527-4531.
- [45] Hulshof FFB, Papenburg B, Vasilevich A, et al. Mining for osteogenic surface topographies: in silico design to *in vivo* osseo-integration[J]. *Biomaterials*, 2017, 137(1): 49-60.
- [46] Dobrovolskaia MS. Immunological properties of engineered nanomaterials[J]. *Nat Nanotechnol*, 2007, 2(8): 469-478.
- [47] Lebre F, Hearnden CE. Modulation of immune responses by particulate materials[J]. *Adv Mater*, 2016, 28(27): 5525-5541.
- [48] Boehler RM, Graham JG, Shea LD. Tissue engineering tools for modulation of the immune response[J]. *Biotechniques*, 2011, 51

- (4): 239-240, 242, 244.
- [49] Defife KM, Yun JK, Azeez A, et al. Adhesion and cytokine production by monocytes on poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine-co-alkyl methacrylate)-coated polymers[J]. *J Biomed Mater Res A*, 1995, 29(4): 431-439.
- [50] Takebe J, Champagne CM, Offenbacher S, et al. Titanium surface topography alters cell shape and modulates bone morphogenetic protein 2 expression in the J774A.1 macrophage cell line[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2003, 64(2): 207-216.
- [51] Larissa M, FS S, TN N, et al. Titanium with nanotopography induces osteoblast differentiation by regulating endogenous bone morphogenetic protein expression and signaling pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2016, 117(7): 1718-1726.
- [52] Tan Y, Li S, Pitt BR, et al. The inhibitory role of CpG immunostimulatory motifs in cationic lipid vector-mediated transgene expression *in vivo*[J]. *Hum Gene Ther*, 1999, 10(13): 2153-2161.
- [53] Zaveri TD, Lewis JS, Dolgova NV, et al. Integrin-directed modulation of macrophage responses to biomaterials[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(11): 3504-3515.
- [54] Sudhakar K, Rao KM, Subha M, et al. Temperature-responsive poly(-vinylcaprolactam-co-hydroxyethyl methacrylate)nanogels for controlled release studies of curcumin[J]. *Des Monomers Polym*, 2015, 18(8): 705-713.
- [55] Laquerriere P, Grandjean-Laquerriere A, Jallot E, et al. Importance of hydroxyapatite particles characteristics on cytokines production by human monocytes *in vitro*[J]. *Biomaterials*, 2003, 24(16): 2739-2747.
- [56] Malard O, Bouler JM, Guicheux J, et al. Influence of biphasic Calcium phosphate granulometry on bone ingrowth, ceramic resorption, and inflammatory reactions: preliminary *in vitro* and *in vivo* study[J]. *J Biomed Mater Res*, 1999, 46(1): 103-111.
- [57] Rouwkema J, Khademhosseini A. Vascularization and angiogenesis in tissue engineering: beyond creating static networks[J]. *Trends Biotechnol*, 2016, 34(9): 733-745.
- [58] Greiner AM, Jäckel M, Scheiwe AC, et al. Multifunctional polymer scaffolds with adjustable pore size and chemoattractant gradients for studying cell matrix invasion[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(2): 611-619.
- [59] Palsson-Medermott EM, Curtis AM, Goel G, et al. Pyruvate kinase M2 regulates HIF-1 α activity and IL-1 β induction and is a critical determinant of the warburg effect in LPS-activated macrophages [J]. *Cell Metab*, 2015, 21(1): 65-80.
- [60] Drager J, Harvey EJ. Hypoxia signalling manipulation for bone regeneration[J]. *Expert Rev Mol Med*, 2015, 17(1): e6.
- [61] Taniguchi N, Fujibayashi S, Takemoto M, et al. Effect of pore size on bone ingrowth into porous titanium implants fabricated by additive manufacturing: an *in vivo* experiment[J]. *Mater Sci Eng C Mater Bio Appl*, 2016, 59(1): 690-701.
- [62] Wang X, Xu S, Zhou S, et al. Topological design and additive manufacturing of porous metals for bone scaffolds and orthopaedic implants: a review[J]. *Biomaterials*, 2016, 83: 127-141.
- [63] De A. Wnt/Ca²⁺ signaling pathway: a brief overview[J]. *Acta Bioch Et Bioph Sin*, 2011, 43(10): 745-757.
- [64] Macleod RJ, Hayes MI. Wnt5a secretion stimulated by the extracellular calcium-sensing receptor inhibits defective Wnt signaling in colon cancer cells[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 293(1): G403-G411.
- [65] Bernstein H, Sugimoto J, Suzuki-Kakisaka HA. Magnesium decreases inflammatory cytokine production: a novel innate immunomodulatory mechanism[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2012, 206(1, S): S361.
- [66] Chaya A, Yoshizawa S, Verdelis K, et al. *In vivo* study of Magnesium plate and screw degradation and bone fracture healing[J]. *Acta Biomater*, 2015, 18(1): 262-269.
- [67] Haase H, Rink L. Signal transduction in monocytes: the role of Zinc ions[J]. *Biometals*, 2007, 20(3/4): 579-585.
- [68] Shorr E, Carter AC. The usefulness of Strontium as an adjuvant to Calcium in the remineralization of the skeleton in man[J]. *Bull Hosp Joint Dis*, 1952, 13(1): 59-66.
- [69] Cardemil C, Elgali I, Xia W, et al. Strontium-Doped calcium phosphate and hydroxyapatite granules promote different inflammatory and bone remodelling responses in normal and ovariectomised rats [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e84932.
- [70] 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.
- [71] Wei F, Zhou Y, Wang J, et al. The immunomodulatory role of BMP-2 on macrophages to accelerate osteogenesis[J]. *Tissue Eng Part A*, 2018, 24(7/8): 584-594.
- [72] Chen Z, Yuen J, Crawford R, et al. The effect of osteoimmunomodulation on the osteogenic effects of cobalt incorporated β -tricalcium phosphate[J]. *Biomaterials*, 2015, 61: 126-138.
- [73] Wu C, Chen Z, Yi D, et al. Multidirectional effects of Sr-, Mg-, and Si-containing bioceramic coatings with high bonding strength on inflammation, osteoclastogenesis, and osteogenesis[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2014, 6(6): 4264-4276.
- [74] Chen Z, Yi D, Zheng X, et al. Nutrient element-based bioceramic coatings on titanium alloy stimulating osteogenesis by inducing beneficial osteoimmunomodulation[J]. *J Mater Chem B*, 2014, 2(36): 6030-6043.
- [75] Yuan Xiangwei, Cao Huiliang, Wang Jiaying, et al. Immunomodulatory effects of calcium and strontium co-doped titanium oxides on osteogenesis[J]. *Front Immunol*, 2017, 8(8): 1196.
- [76] Lu X, Li K, Xie Y, et al. Improved osteogenesis of boron incorporated calcium silicate coatings *via* immunomodulatory effects[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2018, doi: 10.1002/jbm.a.36456.
- [77] Karageorgiou VD. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis[J]. *Biomaterials*, 2005, 26(27): 5474-5491.
- [78] Garg K, Pullen NA, Oskertizian CA, et al. Macrophage functional polarization (M1/M2) in response to varying fiber and pore dimensions of electrospun scaffolds[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(18): 4439-4451.
- [79] Chen ZT, Bachhuka A, Han SW, et al. Tuning chemistry and to-

- pography of nanoengineered surfaces to manipulate immune response for bone regeneration applications[J]. ACS Nano, 2017, 11(5): 4494-4506.
- [80] Guo R, Merkel AR, Sterling JA, et al. Substrate modulus of 3D-printed scaffolds regulates the regenerative response in subcutaneous implants through the macrophage phenotype and Wnt signaling [J]. Biomaterials, 2015, 73: 85-95.
- [81] 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.
- [82] Jasmawati N, Fatihhi SJ, Putra A, et al. Mg-based porous metals as cancellous bone analogous material: a review[J]. J Mater Des Appl, 2017, 231(6): 544-556.
- [83] Chen Z, Mao X, Tan L, et al. Osteoimmunomodulatory properties of magnesium scaffolds coated with β -tricalcium phosphate[J]. Biomaterials, 2014, 35(30): 8553-8565.
- [84] Wu C, Chen Z, Wu Q, et al. Clinoenstatite coatings have high bonding strength, bioactive ion release, and osteoimmunomodulatory effects that enhance *in vivo* osseointegration[J]. Biomaterials, 2015, 71: 35-47.
- [85] Chen Z, Chen L, Liu R, et al. The osteoimmunomodulatory property of a barrier collagen membrane and its manipulation *via* coating nanometer-sized bioactive glass to improve guided bone regeneration[J]. Biomater Sci, 2018, 6(5): 1007-1019.
- [86] Chu CY, Deng J, Sun XC, et al. Collagen membrane and immune response in guided bone regeneration: recent progress and perspectives[J]. Tissue Eng Part B Rev, 2017, 23(5): 421-435.
- [87] Subhadratha N, Abudhahir M, Aathira A, et al. Polymer coated mesoporous ceramic for drug delivery in bone tissue engineering [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 110: 65-73.
- [88] Shi M, Chen Z, Farnaghi S, et al. Copper-doped mesoporous silica nanospheres, a promising immunomodulatory agent for inducing osteogenesis[J]. Acta Biomater, 2016, 30: 334-344.

(编辑 张琳, 曾曙光)

· 短讯 ·

《口腔疾病防治》杂志征稿及征订启事

《口腔疾病防治》是国内外公开发行的口腔医学学术类期刊,月刊,CN 44-1724/R,ISSN 2096-1456,CODEN KJFOA4,为中国科技核心期刊,广东省优秀期刊,被国内外多家重要数据库收录,由南方医科大学口腔医院(广东省口腔医院)、广东省牙病防治指导中心主办,中南大学、郑州大学、南昌大学、重庆医科大学、福建医科大学等五所大学口腔医学院协办;主要报道国内外口腔医学研究新进展和口腔疾病防治新成果、新技术、新经验,服务口腔疾病预防治疗领域学术交流和口腔疾病防控工作。

本刊图文并茂、全铜版纸彩色印刷,设有专家论坛、专家述评、专栏论著、基础研究、临床研究、防治实践、综述等栏目。本刊对录用论文实行免费快速发表,不收取作者任何费用并支付稿酬。

本刊官网及投稿网址为 <http://www.kqjbfz.com>,本刊官网文献实行开放获取(Open Access, OA),免费为读者提供全文服务。《口腔疾病防治》已开设微信公众号,每月推出专家论坛文章及当期全文,读者可通过扫描杂志封面的二维码或者搜索微信公众账号“口腔疾病防治杂志”、微信号“kqjbfz”关注本刊。

本刊没有授权或委托任何其他网站受理作者投稿,谨防诈骗。欢迎广大读者订阅。全国各地邮局均可订阅,邮发代号 46-225。每月 20 日出版,定价为每册 5.00 元,全年 60 元。如错过邮局订阅时间,可直接向编辑部订购。请将款项汇入开户银行:广州市建行昌岗路支行,账号:44001430402050202779,户名:南方医科大学口腔医院,并且将订阅者的邮政编码、详细地址、姓名、联系电话、订阅年度、份数及汇款回执扫描件发送至本刊邮箱(kqjbfz@126.com)。编辑部电话:020-84403311, Email:kqjbfz@126.com。

《口腔疾病防治》编辑部