

· 综述 ·

巨噬细胞在髋假体周围感染与骨整合的作用

李子阳^{1,2}, 满振涛¹, 柴启浩¹, 李伟^{1,2*}

(1. 山东大学, 山东济南 250000; 2. 山东省立医院 山东济南 250000)

摘要: 假体周围感染以及由感染导致的骨溶解是目前人工髋关节置换术后的最严峻挑战。巨噬细胞作为机体抵御感染的第一道防线, 不仅能够通过吞噬、极化等多种途径发挥抗感染作用, 还可以分泌多种活性因子, 促进骨髓间充质干细胞成骨分化, 实现骨整合。因此, 人工髋关节置换术后为同步实现预防感染和促进骨整合, 假体-骨界面的巨噬细胞免疫调控机制受到广泛关注。文章综述了巨噬细胞在关节假体置入过程中所涉及的表型转换及其抗感染和成骨作用, 可为研发涉及巨噬细胞免疫调控的多功能假体提供理论依据。

关键词: 髋关节置换术, 假体周围感染, 巨噬细胞骨整合, 免疫调节

中图分类号: R681.57 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2022) 23-2155-04

Role of macrophages in periprosthetic infection and osseointegration of the hip joint // LI Zi-yang^{1,2}, MAN Zhen-tao¹, CHAI Qi-hao¹, LI Wei^{1,2}. 1. Shandong University, Jinan 25000, China; 2. Shandong Provincial Hospital, Jinan 250000, China

Abstract: Periprosthetic infection and osteolysis caused by infection are the most severe clinical challenges after total hip arthroplasty. As the first line of defense against infection, macrophages can not only play an anti-infection role through phagocytosis, polarization and other ways, but also secrete a variety of active factors to promote the osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells and realize bone integration. Therefore, in order to simultaneously prevent infection and promote osseointegration after hip arthroplasty, the immune regulation mechanism of macrophages at the prosthesis-bone interface has received extensive attention. This paper reviews the phenotypic transformation, anti-infection and osteogenesis of macrophages in the process of biomaterial implantation, which can provide a theoretical basis for the development of multifunctional prosthesis involving macrophage immune regulation.

Key words: total hip arthroplasty, periprosthetic infection, macrophage osseointegration, immune regulation

人工髋关节置换术 (total hip arthroplasty, THA) 是治疗终末期髋关节疾患的有效手段^[1-2]。随着 THA 数量的激增, 其术后并发症日益引起人们的关注^[3]。其中, 假体周围感染 (periprosthetic infection, PJI), 以及由 PJI 导致的骨溶解是目前 THA 术后非常严重的并发症^[4]。鉴于 PJI 以及由 PJI 导致的骨溶解主要位于假体-骨界面, 假体-骨界面微环境中 PJI 的发生以及其诱发骨溶解的机制正在被广泛研究^[5]。

巨噬细胞作为初始免疫反应的主要效应细胞, 在髋关节假体置入后的假体-骨界面中大量存在^[6]。主要包括经典激活巨噬细胞 (classically activated macrophage, M1) 和交替激活巨噬细胞 (alternatively activated macrophage, M2) 两种表型^[7]。其中, M1 可通过吞噬细菌和分泌促炎因子起到抗菌作用^[8]; M2 则通过分泌细胞因子在假体骨整合中发挥关键作用^[9]。

因此, 了解巨噬细胞的表型变化及其抗感染和骨整合的作用, 可能会为预防 PJI 和促进骨整合提供新的研究方向。

1 巨噬细胞的抗感染和骨整合作用

1.1 巨噬细胞的抗感染作用

在 PJI 的微环境中, 组织驻留巨噬细胞通过模式识别受体对微生物及其相关产物进行识别, 随后释放包括粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、单核细胞趋化蛋白-1 在内的多种趋化因子, 募集骨髓来源的单核细胞, 并促进其进一步分化为巨噬细胞^[10]。当巨噬细胞表面的模式识别受体与微生物表面的病原体相关分子模式相互识别后, 巨噬细胞的促炎相关转录因子、蛋白水解酶以及吞噬效应因子将被激活, 促进巨

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2022.23.09

作者简介: 李子阳, 在读硕士, 研究方向: 骨关节科, (电话)19588939983, (电子信箱)lzy970702@163.com

* 通信作者: 李伟, (电话)13969108964, (电子信箱)greatli2000@163.com

噬细胞向 M1 表型极化^[11]。M1 在清道夫受体和补体受体的作用下,通过细胞膜上的肌动蛋白细胞骨架驱动细胞膜,实现对感染灶周围微生物的包围和吞噬^[12]。随后, M1 进一步释放活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、活性氮 (reactive nitrogen species, RNS) 以及通过吞噬溶酶体的酸化、营养限制和自噬等一系列机制杀死吞噬的病原体,实现 PJI 的清除^[10]。在组织炎症恢复期,巨噬细胞趋向于转换为抗炎性 M2 表型, M2 通过分泌抗炎因子,保护宿主免受过度炎症刺激的损伤,并促进局部组织的修复^[13]。部分组织驻留巨噬细胞还具有针对复发性微生物感染的长期免疫记忆,以更高效的方式应对病原体的再次入侵^[14]。

1.2 巨噬细胞的骨整合作用

骨是一种高度血管化和矿化的组织,具有独特的损伤后完全自我修复的能力,而巨噬细胞参与骨修复过程的所有阶段,是协调这一动态复杂过程的核心^[15-17]。最近,越来越多的研究聚焦于巨噬细胞在组织再生,特别是骨发育和修复中的重要作用^[18]。为了清晰而全面地描述巨噬细胞在骨整合中的作用,研究者将其归纳为“清扫者、调节者和指导者”^[6]。作为“清扫者”:巨噬细胞不仅能够吞噬和清除损伤部位的碎屑和外来病原体为随后的骨整合提供有利的免疫微环境,还可以通过向破骨细胞分化促进骨吸收以调节骨再生与骨吸收之间的动态平衡^[19, 20];作为“调节者”:巨噬细胞通过介导骨基质的矿化和重塑以及促进损伤处的血管形成等方式塑造局部的骨再生微环境^[21, 22];而作为“指导者”:巨噬细胞分泌的一系列细胞因子能够以不同的作用途径介导成骨细胞成熟和骨髓间充质干细胞 (bone marrow derived mesenchymal stem cells, BMSCs) 分化以促进骨整合。例如:白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等促炎介质在骨愈合早期大量产生,参与 BMSCs 的募集和分化以促进骨愈合^[23];而成骨因子抑瘤素 M (oncostatin, OSM) 则通过与 OSM 受体结合,诱导 BMSCs 的成骨分化和成骨细胞的骨基质矿化,促进高效骨整合^[24]。

2 细菌在巨噬细胞内的逃逸

金黄色葡萄球菌 (staphylococcus aureus, S. aureus) 是导致 PJI 的主要革兰氏阳性病原体^[25]。作为细胞内病原体的代表, S. aureus 已经进化出抵御巨噬细胞内杀菌的多种机制^[26]。首先, S. aureus 可以通过

分泌过氧化物酶抑制物,占据巨噬细胞的髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 的活性位点,使 MPO 无法催化过氧化氢底物来产生 ROS。其次, S. aureus 可以通过产生超氧化物歧化酶 A 和超氧化物歧化酶 M,降解巨噬细胞内所产生的 ROS 和 RNS,使巨噬细胞内的 ROS 和 RNS 进一步减少^[27]。再者, S. aureus 可以抑制吞噬溶酶体的酸化,实现在吞噬溶酶体内的存活。在抑制巨噬细胞杀菌物质形成的同时, S. aureus 还能够通过诱导白细胞介素 10 (interleukin 10, IL-10) 和转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 等细胞因子的表达来操纵巨噬细胞的极化,最终实现在巨噬细胞内的长期存活^[28]。此外,细胞内存活的 S. aureus 后期可通过分泌溶细胞毒素 (如: α -毒素) 来裂解巨噬细胞。裂解释放的 S. aureus 能够在置入物表面粘附、增殖,并通过分泌乳酸等代谢产物形成置入物周围的免疫抑制微环境,促进置入物表面生物膜的形成^[29]。生物膜将进一步阻碍巨噬细胞的杀菌作用,导致感染环境的恶化;同时,生物膜还会阻碍置入物表面的骨整合过程,最终导致假体的失效^[30]。

3 假体对骨整合的影响

髋关节假体置入机体后,免疫系统会立即将其识别为“异物”,通过表面蛋白吸附、补体激活和纤维蛋白基质的积聚来触发机体的排异反应^[31]。随后,粒细胞和单核/巨噬细胞向假体周围募集,启动对“异物”的吞噬作用。对于太大而无法完成吞噬的“异物”,巨噬细胞作为介导异物反应的主要细胞群通过进一步融合成异物巨细胞来完成对其的包裹,并通过分泌炎症细胞因子来协助这一过程^[32, 33]。最终,在假体置入机体后的几周到几个月的时间里,机体通过以巨噬细胞为主体的排异过程在假体周围形成纤维包裹,完成对假体的排异反应。虽然通过排异反应,机体骨组织在假体周围形成了严密的纤维包裹,实现了对假体的体内“屏蔽”,但是这种纤维化的组织结构也会导致假体周围的骨整合不良,因为其内部主要由成纤维细胞和单核/巨噬细胞等大量炎症细胞组成且血管形成和神经支配十分匮乏^[34]。因此,机体对于以假体周围巨噬细胞为主导的排异反应是假体周围实现良好骨整合的一个难题。

4 通过巨噬细胞发挥作用的免疫调节假体的作用机制

鉴于巨噬细胞在PJI和骨整合中的重要作用,通过调节假体-骨界面的巨噬细胞活性,以诱导最佳骨微环境引起了研究者的广泛关注^[35-37]。目前涉及巨噬细胞的置入物免疫调节方式可以归纳为:增强假体周围巨噬细胞的募集、促进假体周围巨噬细胞的M2表型极化和顺序引导假体周围巨噬细胞的M1-M2表型极化。例如:Wang等^[38]通过贻贝粘附介导的离子配位和分子点击方法,设计了含有免疫调节作用的金属离子(Zn^{2+})和骨诱导生长因子(BMP-2肽)的双效涂层,促进巨噬细胞向假体周围募集并调节巨噬细胞向M2表型极化,显著增强了置入物周围的骨整合。Spiller等^[39]设计了用于骨再生的生物支架,通过干扰素- γ 的短暂释放和白细胞介素4(Interleukin-4, IL-4)的持续释放来模拟正常骨组织修复过程中假体周围巨噬细胞从M1到M2的顺序极化过程,实现假体周围良好的骨再生。鉴于生长因子的递送可能发生突释,会导致超生理剂量释放或不良的免疫反应。因此,含细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分的组织修复支架近年来受到广泛关注,可为巨噬细胞的免疫调节和促进骨再生营造良好的免疫微环境。Bai等^[40]通过在置入物表面建立微/纳米级的二氧化钛纤维状网络,形成了宿主骨的天然ECM高度仿生结构,其不仅能够促进假体周围巨噬细胞的M2表型极化,还能促进BMSCs的成骨分化和内皮细胞的血管形成,从而实现假体周围的高效骨整合。

综上所述,PJI以及感染引起的骨溶解是THA后最严重的并发症。巨噬细胞在假体置入后能够快速到达假体-骨界面,通过其免疫调节功能和M1/M2表型的顺序极化,在抗感染和假体周围骨整合中发挥极为重要的作用。虽然,目前通过假体表面免疫调节涂层调节置入物周围巨噬细胞的M1/M2表型极化已有较多的研究,但鉴于以S. aureus为代表的病原体具有胞内逃逸功能,使得仅通过调节巨噬细胞M1极化的方式来清除PJI存在困难。因此,未来应通过设计多功能免疫调节假体,使巨噬细胞通过合成强效的胞内抗菌物质来增强其胞内杀菌的能力,实现对胞内细菌的清除;同时,精确引导巨噬细胞的M1、M2表型转换来建立最佳的骨整合免疫微环境,从而开辟出一条利用宿主自身免疫能力来清除感染并增强假体周围骨整合的研究路线。

参考文献

- [1] 刘明,李佩佳.全髋关节置换术[J].中国矫形外科杂志,2004,12(15):1178-1181.
- [2] 侯开宇,王宇飞,陆晓涛,等.巨噬细胞炎症蛋白2及其受体在假体无菌性松动周围组织及外周血中的表达及临床意义[J].中国矫形外科杂志,2015,23(13):1222-1226.
- [3] 郎明磊,刘儒森.人工全髋关节置换术后并发症[J].中国矫形外科杂志,2004,12(11):861-862.
- [4] 刘树民,贾古友,王晗,等.关节置换术后假体周围感染分子生物学诊断研究进展[J].中国矫形外科杂志,2018,26(23):2167-2171.
- [5] Josse J, Valour F, Maali Y, et al. Interaction between Staphylococcal biofilm and bone: how does the presence of biofilm promote prosthesis loosening[J]. Front Microbiol, 2019, 10: 1602.
- [6] Niu Y, Wang Z, Shi Y, et al. Modulating macrophage activities to promote endogenous bone regeneration: biological mechanisms and engineering approaches[J]. Bioact Mater, 2021, 6(1): 244-261.
- [7] 李莺,李长义.钛种植体表面改性对巨噬细胞极化和诱导成骨的影响[J].中国组织工程研究,2018,22(10):1573.
- [8] Viola A, Munari F, Sánchez-Rodríguez R, et al. The metabolic signature of macrophage responses[J]. Front Immunol, 2019, 10: 1462.
- [9] Fan L, Guan P, Xiao C, et al. Exosome-functionalized poly-etheretherketone-based implant with immunomodulatory property for enhancing osseointegration[J]. Bioact Mater, 2021, 6(9): 2754-2766.
- [10] Pidwill GR, Gibson JF, Cole J, et al. The role of macrophages in Staphylococcus aureus infection[J]. Front Immunol, 2021, 12: 3506.
- [11] Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease[J]. Nature, 2013, 496(7446): 445-455.
- [12] Swanson JA. Shaping cups into phagosomes and macropinosomes[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008, 9(8): 639-649.
- [13] Liu YC, Zou XB, Chai YF, et al. Macrophage polarization in inflammatory diseases[J]. Int J Biol Sci, 2014, 10(5): 520.
- [14] Chan LC, Rossetti M, Miller LS, et al. Protective immunity in recurrent Staphylococcus aureus infection reflects localized immune signatures and macrophage-conferred memory[J]. Proc Natl Acad Sci, 2018, 115(47): E111111-E111119.
- [15] 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 Mine Res, 2011, 26(7): 1517-1532.
- [16] Schlundt C, El Khassawna T, Serra A, et al. Macrophages in bone fracture healing: their essential role in endochondral ossification[J]. Bone, 2018, 106: 78-89.
- [17] Stefanowski J, Lang A, Rauch A, et al. Spatial distribution of macrophages during callus formation and maturation reveals close crosstalk between macrophages and newly forming vessels[J]. Front Immunol, 2019, 10: 2588.
- [18] Schlundt C, Fischer H, Bucher CH, et al. The multifaceted roles of macrophages in bone regeneration: a story of polarization, activation and time[J]. Acta Biomater, 2021, 133: 46-57.

- [19] Claes L, Recknagel S, Ignatius A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2012, 8 (3) : 133-143.
- [20] Pederson L, Ruan M, Westendorf JJ, et al. Regulation of bone formation by osteoclasts involves Wnt/BMP signaling and the chemokine sphingosine-1-phosphate [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2008, 105 (52) : 20764-20769.
- [21] Sen CK. Wound healing essentials: let there be oxygen [J]. *Wound Repair Regen*, 2009, 17 (1) : 1-18.
- [22] Cavalli L, Brandi ML. Periprosthetic bone loss: diagnostic and therapeutic approaches [J]. *F1000 Res*, 2013, 2 : 266.
- [23] Glass GE, Chan JK, Freidin A, et al. TNF- α promotes fracture repair by augmenting the recruitment and differentiation of muscle-derived stromal cells [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2011, 108 (4) : 1585-1590.
- [24] Jay PR, Centrella M, Lorenzo J, et al. Oncostatin-M: a new bone active cytokine that activates osteoblasts and inhibits bone resorption [J]. *Endocrinology*, 1996, 137 (4) : 1151-1158.
- [25] Bebko SP, Green DM, Awad SS. Effect of a preoperative decontamination protocol on surgical site infections in patients undergoing elective orthopedic surgery with hardware implantation [J]. *JAMA Surg*, 2015, 150 (5) : 390-395.
- [26] Foster TJ. Immune evasion by staphylococci [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3 (12) : 948-958.
- [27] Karavolos MH, Horsburgh MJ, Ingham E, et al. Role and regulation of the superoxide dismutases of *Staphylococcus aureus* [J]. *Microbiology*, 2003, 149 (10) : 2749-2758.
- [28] Thiriot JD, Martinez-Martinez YB, Endsley JJ, et al. Hacking the host: exploitation of macrophage polarization by intracellular bacterial pathogens [J]. *Pathogens Dis*, 2020, 78 (1) : ftaa009.
- [29] Zhang S, Chai Q, Man Z, et al. Bioinspired nano-painting on orthopedic implants orchestrates periprosthetic anti-infection and osseointegration in a rat model of arthroplasty [J]. *Chem Eng J*, 2022, 435 : 134848.
- [30] Tan L, Li J, Liu X, et al. Rapid biofilm eradication on bone implants using red phosphorus and near-infrared light [J]. *Adv Mater*, 2018, 30 (31) : 1801808.
- [31] Trindade R, Albrektsson T, Tengvall P, et al. Foreign body reaction to biomaterials: on mechanisms for buildup and breakdown of osseointegration [J]. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2016, 18 (1) : 192-203.
- [32] Navegantes KC, de Souza Gomes R, Pereira PAT, et al. Immune modulation of some autoimmune diseases: the critical role of macrophages and neutrophils in the innate and adaptive immunity [J]. *J Transl Med*, 2017, 15 (1) : 1-21.
- [33] Kelly B, O'Neill LA. Metabolic reprogramming in macrophages and dendritic cells in innate immunity [J]. *Cell Res*, 2015, 25 (7) : 771-784.
- [34] Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials [J]. *Semin Immunol*, 2008, 20 (2) : 86-100.
- [35] Li L, Li Q, Gui L, et al. Sequential gastrin release PU/n-HA composite scaffolds reprogram macrophages for improved osteogenesis and angiogenesis [J]. *Bioact Mater*, 2023, 19 : 24-37.
- [36] Jiang J, Liu W, Xiong Z, et al. Effects of biomimetic hydroxyapatite coatings on osteoimmunomodulation [J]. *Biomater Adv*, 2022, 134 : 112640.
- [37] Sun J, Huang Y, Zhao H, et al. Bio-clickable mussel-inspired peptides improve titanium-based material osseointegration synergistically with immunopolarization-regulation [J]. *Bioact Mater*, 2021, 9 : 1-14.
- [38] Wang T, Bai J, Lu M, et al. Engineering immunomodulatory and osteoinductive implant surfaces via mussel adhesion-mediated ion coordination and molecular clicking [J]. *Nat Commun*, 2022, 13 (1) : 1-17.
- [39] Spiller KL, Nassiri S, Witherell CE, et al. Sequential delivery of immunomodulatory cytokines to facilitate the M1-to-M2 transition of macrophages and enhance vascularization of bone scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2015, 37 : 194-207.
- [40] Bai L, Chen P, Zhao Y, et al. A micro/nano-biomimetic coating on titanium orchestrates osteo/angiogenesis and osteoimmunomodulation for advanced osseointegration [J]. *Biomaterials*, 2021, 278 : 121162.

(收稿:2022-05-19 修回:2022-10-25)
(同行评议专家:孙水 李宏宇)
(本文编辑:宁桦)