

# 中性粒细胞免疫调节在骨组织愈合中的研究进展

廖梦琳, 付钢\*

重庆医科大学附属口腔医院, 口腔疾病研究重庆市重点实验室, 重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室, 重庆

收稿日期: 2024年3月27日; 录用日期: 2024年4月21日; 发布日期: 2024年4月30日

## 摘要

骨组织受到损伤后, 会激发一系列免疫和炎症反应, 这些反应在骨微环境中的启动、调节以及最终的恢复过程对骨愈合结果起着至关重要的作用。精确、主动调控免疫细胞反应有利于实现炎症控制和良好骨再生。中性粒细胞作为先天性免疫系统的第一道防线, 在骨损伤因子的诱导下, 骨髓和系统中性粒细胞可迁移至骨损伤部位, 与局部中性粒细胞发挥重要功能, 包括吞噬、脱颗粒、释放活性氧(reactive oxygen species, ROS)和中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)。在骨愈合过程中, 中性粒细胞数量、活性、表型和效应功能变化都会改变骨愈合的最终结果。因此本文就中性粒细胞在骨愈合过程中的时序性、表型和功能可塑性调控进行综述。

## 关键词

中性粒细胞, 免疫可塑性, 骨愈合, 免疫调节

# Research Progress on Neutrophil Immune Regulation in Bone Tissue Healing

Menglin Liao, Gang Fu\*

Stomatological Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing Key Laboratory of Oral Diseases, Chongqing Municipal Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Higher Education, Chongqing

Received: Mar. 27<sup>th</sup>, 2024; accepted: Apr. 21<sup>st</sup>, 2024; published: Apr. 30<sup>th</sup>, 2024

## Abstract

Bone injury will trigger immune-inflammatory responses in varying degrees. And the occurrence,

\*通讯作者。

regulation and conclusion of inflammatory responses in the bone micro-environment have a significant impact on the outcomes of bone healing. Precise and active regulation of immune cell responses is conducive to inflammatory control and favorable bone regeneration. Serving as the initial defense of the innate immune system, neutrophils from the bone marrow and systemic circulation can mobilize to the location of bone injury, which is triggered by factors causing bone injury. They perform crucial roles in conjunction with the resident neutrophils at the site, including phagocytosis, degranulation, release of reactive oxygen species (ROS) and neutrophil extracellular traps (NETs). During the process of bone healing, changes in neutrophil numbers, activities, phenotypes and effector functions may alter the final outcome of bone healing. This article reviews the regulatory role of neutrophils during bone healing and their effects on osteogenesis.

## Keywords

Neutrophil, Immunoplasticity, Bone Healing, Immune Regulation

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

中性粒细胞是高度活跃和受到精细调节的先天免疫细胞,是宿主抵御外界微生物和刺激的第一道防线[1],可迅速聚集到损伤部位,产生强烈的抗菌反应。中性粒细胞具有很强的可塑性,能够调整自身的生命周期、数量、形态和功能等特性,以应对体内外环境变化,包括生理和病理状态下的可塑性改变[2]-[7]。在生理状态下,中性粒细胞在骨髓发育、外周血循环和组织清除的不同阶段表现出表型和功能层次,且这种层次受到各种条件的影响,如年轻和老年中性粒细胞比例受昼夜节律振荡的调节[2]、细胞衰老累积导致炎症活性增加[3] [4],以及在不同组织中特异性中性粒细胞亚群的存在[5]。中性粒细胞的异常可塑性是免疫病理生理学的重要特征,与组织损伤和疾病发展有关,如愈合早期的中性粒细胞数量的耗竭、愈合后期的中性粒细胞的持续沉积,或者肿瘤环境中免疫抑制性表型的转变都会损害愈合过程,并且造成组织损伤[6] [7]。总之,中性粒细胞的可塑性在调节组织稳态和修复损伤方面发挥着至关重要的作用。

骨髓微环境主要由免疫细胞和基质细胞组成。骨组织损伤后会暴露于各种危险和微生物相关的分子模式,引发一系列愈合相关关键事件,包括免疫防御系统的激活,及其与多能干细胞、骨相关细胞之间复杂的相互作用[8]。在骨损伤后,免疫细胞会引发炎症并激活再生级联反应[9]。骨损伤的正常愈合始于即刻的炎症反应。先天免疫系统成员,如中性粒细胞、巨噬细胞和单核细胞等,会释放各种细胞因子和趋化因子,募集并激活多种类型的细胞,包括招募骨髓间充质干细胞(BMSCs)到损伤部位,并调节其增殖、分化或凋亡[10]。在所有免疫细胞中,巨噬细胞研究最为广泛,被认为是组织再生的关键参与者,可通过调节 BMSCs 分化发挥作用[11]。最近的研究表明,中性粒细胞在炎症的激发、调节和消退中发挥重要作用,参与创伤愈合过程,对维持组织稳态至关重要,同时可以通过募集单核细胞等其他免疫细胞发挥抗炎和促愈合能力[12],可见中性粒细胞可能在骨修复的上游细胞调控过程中发挥重要作用。然而,中性粒细胞在骨再生过程中的地位和功能仍然难以捉摸。

中性粒细胞的可塑性在调节组织稳态和修复损伤方面发挥着至关重要的作用,能否通过靶向调节中性粒细胞可塑性以干预骨愈合值得深究。因此,本文就中性粒细胞在骨愈合过程中的时序性、表型和功能可塑性调控进行综述,期望为设计具有局部免疫调节效果,以促进骨骼愈合和再生的骨替代材料提供创新思路。

## 2. 中性粒细胞引发骨损伤愈合中的时序性免疫反应

骨损伤的最终愈合高度依赖于初始炎症阶段, 其中免疫细胞的时序性反应在骨愈合过程中发挥着关键作用[13]。

骨创伤愈合通常经历三个相互交织的阶段: 早期的炎症反应期、随后的修复期和最终的重塑期[14]。初始炎症反应在组织损伤后即刻发生, 时间可持续数天, 甚至数周, 包括中性粒细胞和巨噬细胞在内的先天免疫转变为后期适应性免疫[15] [16] [17]。最初的局部炎症始于快速水肿形成, 水肿作为临时支架, 主动募集免疫细胞, 启动骨再生[14]。在骨损伤后 12 h 内, 中性粒细胞通过感应化学吸引或者促炎介质迅速进入损伤局部, 成为早期骨折血肿中含量最高的免疫细胞[18]。中性粒细胞最初从破裂的血管中渗漏进入骨损伤区, 几分钟后主动从血液中迁移到受损的骨骼中。此外, 中性粒细胞或其祖细胞还可直接从受损的骨髓侵入血肿[19]。中性粒细胞吞噬局部细胞碎片后形成 NETs, 进一步分泌白细胞介素 6 (IL-6) 和趋化因子配体 2 (CCL2) 等炎症和趋化因子将巨噬细胞募集到血肿部位来增强炎症级联事件[20]。

在骨损伤后的第 1 至 5 天, 单核细胞在血肿中显著浸润, 而活化的巨噬细胞则在第 3 至 7 天期间表现出明显的浸润[21]。组织巨噬细胞在这个阶段代谢活跃, 并向 M1 型极化。中性粒细胞和巨噬细胞吞噬来自受伤组织的细胞碎片和损伤相关模式分子(DAMP)。巨噬细胞激活后释放肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 等化学趋化因子, 以刺激成纤维细胞增殖, 并将淋巴细胞募集到损伤部位[22]。这些细胞和中性粒细胞共同构成了纤连蛋白基质, 在愈合过程中充当血肿中的临时支架。该框架内的成熟单核细胞/巨噬细胞和树突状细胞最终分化为破骨细胞, 在骨损伤修复阶段的骨吸收中发挥重要作用[23]。

在骨损伤后 1 至 48 小时大量肥大细胞浸润至损伤部位, 在血管管腔和骨髓腔内定位并脱颗粒, 促进血管通透性和血管生成以及调节骨代谢[24]。通常, T 细胞在骨损伤后第 3 至 28 天浸润至骨损伤部位, 而 B 细胞的浸润通常发生于 3 至 5 天, 其中 T 细胞被抗原呈递细胞(树突状细胞和巨噬细胞)激活, 继而激活 B 细胞以启动适应性免疫反应[25]。其中  $\gamma\delta$ T 细胞, 也称为炎症淋巴细胞, 在骨再生中具有不可或缺的作用[9]。急性炎症阶段通常在 24 至 48 小时内达到最高点, 并在骨损伤发生后一周逐渐消退。在早期软骨痂形成时(5 至 7 天) T 细胞和 B 细胞就可以被检测到。随着骨痂重塑阶段的进展(14 至 21 天), 它们逐渐增加骨保护素(OPG)分泌量, 从而在愈合后期通过抑制破骨细胞来促进骨愈合[26]。

在损伤后第 3 至 5 天, 中性粒细胞数量显著减少, 直到第 7 至 10 天, 此时在愈合组织中仅观察到少量中性粒细胞[9]。在完成其生理功能后, 中性粒细胞会经历程序性细胞死亡, 随后被骨内的巨噬细胞所清除。巨噬细胞吞噬这些凋亡的中性粒细胞后基因会重新编排使其向 M2 型极化以启动抗炎反应[27], 而大量堆积的凋亡中性粒细胞会导致高促炎信号, 引发结缔组织增生导致骨愈合不佳[28]。

## 3. 中性粒细胞在骨再生中的表型可塑性

骨愈合是免疫系统和骨相关细胞相互调控的一个复杂生物学过程[29]。免疫细胞在骨愈合过程中的作用主要体现在两个阶段: 一是在骨再生过程中, 急性炎症阶段促进合成代谢, 二是在骨吸收过程中, 慢性炎症引发分解代谢。例如, 急性炎症期间产生的趋化因子能通过激发间充质干细胞增殖和成骨细胞的分化, 加速骨损伤修复初期的骨形成[30]。而慢性炎症则抑制成骨细胞的功能, 减少新骨形成的关键因子, 从而妨碍骨耦合并可能促成骨质溶解性疾病的发展, 如牙周炎中所见的情况[31]。而炎症期的及时相变往往涉及骨髓免疫细胞的表型转换。

在骨损伤愈合过程中, 通常存在促再生和促炎免疫细胞表型的群体, 且组织再生需要平衡的炎症反应[32]。而免疫优化愈合的基本策略是通过明确的表面标记物促进促愈合的免疫细胞表型, 如巨噬细胞向 CD206<sup>hi</sup>CD68<sup>hi</sup>M2 型的极化。M2 巨噬细胞已被广泛证明可用于各种类型的损伤的组织修复, 包括骨损伤、皮肤烧伤、和肝损伤等[33] [34]。但目前尚不明确中性粒细胞在组织再生中的作用是否只能归因于单一的

中性粒细胞表型。在所有髓系亚群中, 中性粒细胞表现出最高程度的表型的和功能不均一性。目前, 还不清楚这种不均一性是由于存在不同的嗜中性“子集”, 还是仅仅反映细胞成熟度和/或活化状态的差异。事实上, 尽管现在认为嗜中性粒细胞具有促炎症、免疫调节的和免疫抑制特性[35], 但由于缺乏确定的标记物, 以及不同疾病环境中这些细胞群体的功能对比报告, 将这些特性分配给不同的亚群是困难的。与巨噬细胞炎症期 M1 与 M2 型极化类似, 在中性粒细胞中也提出了类似的促炎型(N1)和免疫调节型(N2)的极化[36], 分别在炎症反应和组织再生中发挥作用[37]。

相较于 N2 型中性粒细胞, N1 型中性粒细胞主要负责表达  $\text{TNF-}\alpha$  [38], 这一特性使中性粒细胞在骨折愈合的早期阶段被募集至损伤部位[39]。在愈合过程的后期阶段, 中性粒细胞的募集受到 IL-8 水平的提升所影响, 而 IL-8 主要由 N2 型中性粒细胞所产生[38]。因此,  $\text{TNF-}\alpha$  和 IL-8 表达的时间变化可作为中性粒细胞群从炎症性转变为再生性表型的变化指标。N1 中性粒细胞在不同刺激的影响下可转化为 N2, 反之亦然[37]。转化生长因子- $\beta$ 1 ( $\text{TGF-}\beta$ 1)能够有效地促进未激活的中性粒细胞以及 N1 型中性粒细胞向 N2 表型的转变[38]。在骨损伤愈合过程中,  $\text{TGF-}\beta$ 1 的高表达不仅增强了成骨细胞的骨形成作用, 还有助于将 N1 型中性粒细胞转变为 N2 型, 从而为骨再生创造有利的环境[40]。此外, 中性粒细胞还表现出几种特异性的抗愈合表型, 如粒细胞髓系来源的抑制细胞(G-MDSCs), 它在骨肿瘤微环境中具有很强的免疫抑制特性, 以及在自身免疫性疾病中具有促炎特性的低密度粒细胞(LDGs) [6] [35]。

可见中性粒细胞的可塑性赋予了中性粒细胞在多种生物学事件中发挥作用的灵活性, 尤其是在炎症损伤和组织修复相关的情境下。中性粒细胞时序性的数量和表型转变在骨组织损伤愈合过程中发挥重要性。

## 4. 生物材料调控中性粒细胞功能表型策略

生物材料的目标是支持缺损部位的组织再生过程, 并最终被新生成的骨组织随着时间的推移重新吸收和替换。通过植入生物材料来调控免疫反应以改善骨愈合是骨组织工程研究的一大策略。通常情况下, 中性粒细胞会在创伤几天后从伤口中被清除。然而, 在植入生物材料的环境下, 中性粒细胞的存在可能会延续数周[41], 这表明中性粒细胞在骨组织工程可能具有重要作用。

### 4.1. 物理和化学信号

生物材料相关的物理和化学因素会影响中性粒细胞反应, 例如生物材料(天然或合成)的类型和来源、表面形貌、疏水性或亲水性以及化学成分。调整生物材料的物理和/或化学性质似乎是调节中性粒细胞反应并最终促进生物材料-组织整合的一种有趣方法。Fetz 等体内外评估表明较小直径的纤维表面会产生更多的 NETs, 这种现象可能导致生物材料的表面被纤维包裹。相反, 较大直径纤维表面具有较少的 NETs, 以促进生物材料与周围组织的整合[42]。Abaricia 等在体外研究发现与光滑和粗糙的植入物相比, 粗糙和疏水的植入物可减少酶和促炎细胞因子的产生以及 NETs 的形成[43]。可见生物材料表面特性可调节中性粒细胞功能表型。植入物的化学成分被认为是诱导或影响异物反应的另一个重要因素。与钛相比, 不锈钢和聚醚醚酮生物材料周围中性粒细胞数量增加, 髓过氧化物酶、弹性蛋白酶的产生增加, 以及 NETs 形成增加。相较于合成材料, 中性粒细胞在天然材料的环境中展现出更高的生存率, 并且释放较少的酶、细胞因子以及 NETs [44]。可见生物材料的化学成分也会影响中性粒细胞的功能表型。

### 4.2. 生物信号

与物理和化学信号不同, 使用生物因子来调节免疫反应被视为一种更为直接且通常更有效的策略。生物材料的应用提供了几种有望的可能, 例如将生物材料与细胞、抗生素、生长因子和化疗药物相结合。中性粒细胞反应的调节是开发能够加速组织修复或再生的新型材料的一种新策略。Gao 等通过将中性粒

细胞释放的生长因子整合到明胶甲基丙烯酸酯水凝胶中,他们开发了一种具有免疫调节功能的生物材料。这种材料能够有效地引导中性粒细胞向抗炎型(N2)表型转变。在体内皮下模型中观察到使用该材料后炎症细胞的聚集减少,同时伴随着血管生成的增加,这些变化有助于加速受损组织的修复过程[45]。另有研究针对锇对中性粒细胞的免疫调节特性生产了含有锇-羟基磷灰石的明胶支架。这种支架可以诱导更多的中性粒细胞向 N2 中性粒细胞极化,并在体外和体内促进血管生成[46]。总之,控制 N1/N2 中性粒细胞比值可能与控制 M1/M2 巨噬细胞比值同样关键,这一策略有望成为促进生物材料-组织整合的有效手段。

中性粒细胞是相当可塑的细胞,可以极化成不同的效应表型,这为开发新的免疫调节生物材料开辟了新的可能性。到目前为止,文献中报道的专注于中性粒细胞用于基于生物材料的免疫调节的可行的研究尽管很少,但获得的结果表明基于中性粒细胞的免疫调节生物材料是组织工程应用的一种有前景的方法。通过调节中性粒细胞向 N2 抗炎和促再生表型为拓宽新的免疫调节材料设计提供了思路。未来需要进一步的研究工作来充分了解中性粒细胞如何加速组织修复/再生,并将其转化为临床应用。然而,中性粒细胞表型的调节可能有副作用,例如感染风险增加[47]。

## 5. 讨论

免疫系统与组织损伤和再生密切相关。因此,有效调节和操纵免疫反应以有效调节先天愈合过程对于成功的组织恢复至关重要。骨愈合是免疫系统和骨组织相互耦联、调控的复杂生物学过程,早期炎症反应是免疫系统和骨组织在骨愈合中发生联系的纽带。中性粒细胞作为骨损伤后的初始免疫细胞,不仅参与炎症的调节,还启动下游反应介导骨愈合。尽管炎症在骨愈合中起着关键作用,特别是在愈合的初始和重塑阶段,但长期暴露于炎症信号已被证明会损害骨愈合过程。因此,有效调节和操纵中性粒细胞免疫反应以有效调节先天愈合过程对于成功的组织恢复至关重要。考虑到中性粒细胞数量、表型和功能的高度及动态可塑性,因此,为诱导有效的骨再生过程,当考虑将调节中性粒细胞免疫反应作为骨组织工程的一种新疗法时,全面了解中性粒细胞对骨愈合的时序性控制以及掌握调控中性粒细胞可塑性的精确方法至关重要。靶向中性粒细胞的治疗策略可能预示一个有前景的科研和临床新方向。

## 参考文献

- [1] Kraus, R.F. and Gruber, M.A. (2021) Neutrophils-from Bone Marrow to First-Line Defense of the Innate Immune System. *Frontiers in Immunology*, **12**, Article 767175. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.767175>
- [2] Adrover, J.M., Del, F.C., Crainiciuc, G., et al. (2019) A Neutrophil Timer Coordinates Immune Defense and Vascular Protection. *Immunity*, **50**, 390-402. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.01.002>
- [3] Reglero-Real, N., Rolas, L. and Nourshargh, S. (2019) Leukocyte Trafficking: Time to Take Time Seriously. *Immunity*, **50**, 273-275. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.01.013>
- [4] Casanova-Acebes, M., Pitaval, C., Weiss, L.A., et al. (2013) Rhythmic Modulation of the Hematopoietic Niche through Neutrophil Clearance. *Cell*, **153**, 1025-1035. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.04.040>
- [5] Herisson, F., Frodermann, V., Courties, G., et al. (2018) Direct Vascular Channels Connect Skull Bone Marrow and the Brain Surface Enabling Myeloid Cell Migration. *Nature Neuroscience*, **21**, 1209-1217. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0213-2>
- [6] 叶依依. 中性粒细胞的异质性与肿瘤[J]. 中国癌症防治杂志, 2023, 15(6): 677-683.
- [7] Chatfield, S.M., Thieblemont, N. and Witko-Sarsat, V. (2018) Expanding Neutrophil Horizons: New Concepts in Inflammation. *Journal of Innate Immunity*, **10**, 422-431. <https://doi.org/10.1159/000493101>
- [8] Neves, J., Zhu, J., Sousa-Victor, P., et al. (2016) Immune Modulation by MANF Promotes Tissue Repair and Regenerative Success in the Retina. *Science*, **353**, aaf3646. <https://doi.org/10.1126/science.aaf3646>
- [9] El-Jawhari, J.J., Jones, E. and Giannoudis, P.V. (2016) The Roles of Immune Cells in Bone Healing; What We Know, Do not Know and Future Perspectives. *Injury*, **47**, 2399-2406. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2016.10.008>
- [10] Zhang, B., Su, Y., Zhou, J., et al. (2021) Toward a Better Regeneration through Implant-Mediated Immunomodulation: Harnessing the Immune Responses. *Advanced Science*, **8**, e2100446. <https://doi.org/10.1002/advs.202100446>

- [11] Sorkin, M., Huber, A.K., Hwang, C., *et al.* (2020) Regulation of Heterotopic Ossification by Monocytes in a Mouse Model of Aberrant Wound Healing. *Nature Communications*, **11**, Article No. 722. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14172-4>
- [12] Medeiros, N.I., Mattos, R.T., Menezes, C.A., *et al.* (2018) IL-10 and TGF-Beta Unbalanced Levels in Neutrophils Contribute to Increase Inflammatory Cytokine Expression in Childhood Obesity. *European Journal of Nutrition*, **57**, 2421-2430. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1515-y>
- [13] 马亚萍, 王维群, 张顶梅, 等. 骨免疫调制(osteimmunomodulation)在成骨中的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2023, 39(8): 759-766.
- [14] Claes, L., Recknagel, S. and Ignatius, A. (2012) Fracture Healing under Healthy and Inflammatory Conditions. *Nature Reviews Rheumatology*, **8**, 133-143. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2012.1>
- [15] Newman, H., Shih, Y.V. and Varghese, S. (2021) Resolution of Inflammation in Bone Regeneration: From Understandings to Therapeutic Applications. *Biomaterials*, **277**, Article 121114. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.121114>
- [16] 蔡卜磊, 杨璐颖, 王乐, 等. 中性粒细胞——组织修复的启动者[J]. 实用口腔医学杂志, 2023, 39(5): 553-561.
- [17] 牛佳伟, 魏杰. 巨噬细胞在骨折愈合过程中的作用[J]. 中国现代医学杂志, 2019, 29(11): 54-58.
- [18] Bastian, O., Pillay, J., Alblas, J., *et al.* (2011) Systemic Inflammation and Fracture Healing. *Journal of Leukocyte Biology*, **89**, 669-673. <https://doi.org/10.1189/jlb.0810446>
- [19] Hoff, P., Gaber, T., Strehl, C., *et al.* (2016) Immunological Characterization of the Early Human Fracture Hematoma. *Immunologic Research*, **64**, 1195-1206. <https://doi.org/10.1007/s12026-016-8868-9>
- [20] Kolaczowska, E. and Kubes, P. (2013) Neutrophil Recruitment and Function in Health and Inflammation. *Nature Reviews Immunology*, **13**, 159-175. <https://doi.org/10.1038/nri3399>
- [21] Schell, H., Duda, G.N., Peters, A., *et al.* (2017) The Haematoma and Its Role in Bone Healing. *Journal of Experimental Orthopaedics*, **4**, Article No. 5. <https://doi.org/10.1186/s40634-017-0079-3>
- [22] Leibovich, S.J. and Ross, R. (1975) The Role of the Macrophage in Wound Repair. A Study with Hydrocortisone and Antimacrophage Serum. *The American Journal of Pathology*, **78**, 71-100.
- [23] Alnaeeli, M. and Teng, Y.T. (2009) Dendritic Cells Differentiate into Osteoclasts in Bone Marrow Microenvironment *in vivo*. *Blood*, **113**, 264-265. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-09-180836>
- [24] Blair, R.J., Meng, H., Marchese, M.J., *et al.* (1997) Human Mast Cells Stimulate Vascular Tube Formation. Tryptase Is a Novel, Potent Angiogenic Factor. *Journal of Clinical Investigation*, **99**, 2691-2700. <https://doi.org/10.1172/JCI119458>
- [25] Hankenson, K.D., Gagne, K. and Shaughnessy, M. (2015) Extracellular Signaling Molecules to Promote Fracture Healing and Bone Regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **94**, 3-12. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.09.008>
- [26] Kovach, T.K., Dighe, A.S., Lobo, P.I., *et al.* (2015) Interactions between MSCs and Immune Cells: Implications for Bone Healing. *Journal of Immunology Research*, **2015**, Article ID: 752510. <https://doi.org/10.1155/2015/752510>
- [27] Bouchery, T. and Harris, N. (2019) Neutrophil-Macrophage Cooperation and Its Impact on Tissue Repair. *Immunology & Cell Biology*, **97**, 289-298. <https://doi.org/10.1111/imcb.12241>
- [28] Schulz, C., Petzold, T. and Ishikawa-Ankerhold, H. (2021) Macrophage Regulation of Granulopoiesis and Neutrophil Functions. *Antioxidants & Redox Signaling*, **35**, 182-191. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8203>
- [29] 李骁. 免疫调节在骨组织愈合中的研究进展[J]. 重庆医学, 2021, 50(18): 3225-3229.
- [30] Ono, T. and Takayanagi, H. (2017) Osteoimmunology in Bone Fracture Healing. *Current Osteoporosis Reports*, **15**, 367-375. <https://doi.org/10.1007/s11914-017-0381-0>
- [31] Graves, D.T., Ding, Z. and Yang, Y. (2020) The Impact of Diabetes on Periodontal Diseases. *Periodontology*, **82**, 214-224. <https://doi.org/10.1111/prd.12318>
- [32] Kovtun, A., Messerer, D., Scharffetter-Kochanek, K., *et al.* (2018) Neutrophils in Tissue Trauma of the Skin, Bone, and Lung: Two Sides of the Same Coin. *Journal of Immunology Research*, **2018**, Article ID: 8173983. <https://doi.org/10.1155/2018/8173983>
- [33] Sly, L.M. and McKay, D.M. (2022) Macrophage Immunotherapy: Overcoming Impediments to Realize Promise. *Trends in Immunology*, **43**, 959-968. <https://doi.org/10.1016/j.it.2022.10.002>
- [34] 单沁. 骨组织工程中调节巨噬细胞行为促进骨愈合的策略[J]. 中国生物医学工程学报, 2022, 41(5): 614-620.
- [35] 谢雪梅, 任仟, 罗鸿博, 等. 单细胞水平解析中性粒细胞异质性的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(23): 2927-2932.
- [36] Bastian, O.W., Croes, M., Alblas, J., *et al.* (2018) Neutrophils Inhibit Synthesis of Mineralized Extracellular Matrix by

- Human Bone Marrow-Derived Stromal Cells in vitro. *Frontiers in Immunology*, **9**, Article 945. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00945>
- [37] Fridlender, Z.G., Sun, J., Kim, S., *et al.* (2009) Polarization of Tumor-Associated Neutrophil Phenotype by TGF-Beta: “N1” versus “N2” TAN. *Cancer Cell*, **16**, 183-194. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.06.017>
- [38] Ohms, M., Moller, S. and Laskay, T. (2020) An Attempt to Polarize Human Neutrophils toward N1 and N2 Phenotypes in vitro. *Frontiers in Immunology*, **11**, Article 532. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00532>
- [39] Chan, J.K., Glass, G.E., Ersek, A., *et al.* (2015) Low-Dose TNF Augments Fracture Healing in Normal and Osteoporotic Bone by Up-Regulating the Innate Immune Response. *EMBO Molecular Medicine*, **7**, 547-561. <https://doi.org/10.15252/emmm.201404487>
- [40] Wu, M., Chen, G. and Li, Y.P. (2016) TGF-Beta and BMP Signaling in Osteoblast, Skeletal Development, and Bone Formation, Homeostasis and Disease. *Bone Research*, **4**, Article No. 16009. <https://doi.org/10.1038/boneres.2016.9>
- [41] Jhunjhunwala, S., Aresta-DaSilva, S., Tang, K., *et al.* (2015) Neutrophil Responses to Sterile Implant Materials. *PLOS ONE*, **10**, e137550. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137550>
- [42] Fetz, A.E. and Bowlin, G.L. (2022) Neutrophil Extracellular Traps: Inflammation and Biomaterial Preconditioning for Tissue Engineering. *Tissue Engineering-Part B: Reviews*, **28**, 437-450. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2021.0013>
- [43] Abaricia, J.O., Shah, A.H., Musselman, R.M., *et al.* (2020) Hydrophilic Titanium Surfaces Reduce Neutrophil Inflammatory Response and NETosis. *Biomaterials Science*, **8**, 2289-2299. <https://doi.org/10.1039/C9BM01474H>
- [44] Avery, D., Morandini, L., Celt, N., *et al.* (2023) Immune Cell Response to Orthopedic and Craniofacial Biomaterials Depends on Biomaterial Composition. *Acta Biomaterialia*, **161**, 285-297. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.03.007>
- [45] Gao, Z., Yu, Y., Dai, K., *et al.* (2022) Engineering Neutrophil Immunomodulatory Hydrogels Promoted Angiogenesis. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **14**, 39746-39758. <https://doi.org/10.1021/acsami.2c08600>
- [46] Selders, G.S., Fetz, A.E., Radic, M.Z., *et al.* (2017) An Overview of the Role of Neutrophils in Innate Immunity, Inflammation and Host-Biomaterial Integration. *Regenerative Biomaterials*, **4**, 55-68. <https://doi.org/10.1093/rb/rbw041>
- [47] Bartneck, M. and Wang, J. (2019) Therapeutic Targeting of Neutrophil Granulocytes in Inflammatory Liver Disease. *Frontiers in Immunology*, **10**, Article 2257. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02257>