

本文引文格式:陈丽羽,唐礼.不同尺寸钛颗粒对巨噬细胞 M1 极化的影响和机制探讨[J].
右江民族医学院学报,2025,47(2):242-248,256.

【论著与临床报道】

不同尺寸钛颗粒对巨噬细胞 M1 极化的影响和机制探讨

陈丽羽,唐礼

(广西医科大学口腔医学院/附属口腔医院,广西 南宁 530021)

摘要:目的 本研究旨在探讨纳米级和微米级的钛(Ti)颗粒对巨噬细胞 M1 极化的影响及其潜在机制。方法 分别采用 Ti 纳米颗粒(TiNPs)和 Ti 微米颗粒(TiMPs)处理 RAW264.7 巨噬细胞。利用 CCK-8 法检测细胞增殖情况;通过细胞形态学观察、RT-qPCR、ELISA、流式细胞术、Western Blot 研究 TiNPs 和 TiMPs 在促进巨噬细胞 M1 极化中的作用和机制。结果 与空白组(NC 组)比较,浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 TiNPs 组和 TiMPs 组中 M1 型巨噬细胞标志物 $IL-1\beta$ 、 $TNF-\alpha$ 、 $IL-6$ 的 mRNA 表达水平及 $IL-1\beta$ 的蛋白分泌量显著增加 ($P < 0.05$);其中,TiNPs 组的上述指标的表达水平显著高于 TiMPs 组 ($P < 0.05$)。此外,与 NC 组相比较,TiNPs 组中 p-p65 和 p-I κ B- α 的表达显著上调 ($P < 0.05$),且 M1 巨噬细胞标志物 CD86 表达上调 ($P < 0.05$)。结论 TiNPs 促进巨噬细胞向 M1 型极化,可能通过激活 NF- κ B 信号通路来实现。

关键词:巨噬细胞;钛颗粒;纳米颗粒;微米颗粒;种植体周炎;M1 极化

中图分类号:R329.24

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2025)02-0242-08

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.02.008

Effects and mechanisms of titanium particles of different sizes on M1 polarization of macrophages

CHEN Liyu, TANG Li

(College & Hospital of stomatology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of nanoscale and microscale titanium (Ti) particles on M1 polarization of macrophages and their underlying mechanisms. **Methods** RAW264.7 macrophages were treated with titanium nanoparticles (TiNPs) and titanium micron particles (TiMPs), respectively. Cell proliferation was assessed using the CCK-8 assay. The effects and mechanisms of TiNPs and TiMPs in promoting M1 polarization of macrophages were investigated through cell morphology observation, RT-qPCR, ELISA, flow cytometry and Western Blot. **Results** Compared with the normal control (NC) group, the mRNA expression levels of M1 macrophage markers $IL-1\beta$, $TNF-\alpha$, and $IL-6$, as well as the protein secretion of $IL-1\beta$, were significantly increased in the 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TiNPs and TiMPs groups ($P < 0.05$). Among them, the expression levels of the aforementioned markers in the TiNPs group were significantly higher than those in the TiMPs group ($P < 0.05$). Additionally, compared with the NC group, the expressions of p-p65 and p-I κ B- α were significantly upregulated in the TiNPs group ($P < 0.05$), and the expression of the M1 macrophage marker CD86 was upregulated ($P < 0.05$). **Conclusion** TiNPs promote macrophage polarization to the M1 phenotype, possibly through activation of the NF- κ B signaling pathway.

Key words: macrophages; titanium particles; nanoparticles; micron particles; peri-implantitis; M1 polarization

第一作者:陈丽羽,在读硕士研究生,主治医师,研究方向:口腔种植和修复的研究,E-mail:chenly168@qq.com

通讯作者:唐礼,博士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:口腔种植临床研究和基础研究,E-mail:gxtangli@foxmail.com

口腔种植修复因美观、耐用以及较高的成功率,逐渐取代传统修复方式,成为牙列缺损和缺失患者的首选治疗方案^[1]。然而,种植修复广泛应用的同时也伴随着种植体周炎(peri-implantitis, PI)的发生。这是一种波及种植体周围软硬组织的炎症性疾病,最终导致种植体松动,是种植修复失败的主要原因^[2]。PI 的发病率在患者水平约为 20%,种植体水平约为 11.5%^[2]。目前学术界普遍认为,PI 是以微生物感染为主导,多种危险因素共同作用的慢性炎症反应,但其具体致病机制尚未明确^[3]。而深入探讨 PI 的病因学机制不仅有助于阐明其病理生理过程,更为该疾病的早期预防和有效治疗提供重要理论依据。

钛(titanium, Ti)及其合金是种植修复应用最广泛的生物材料,主要因为 Ti 表面可快速形成一层致密的二氧化钛,赋予材料优异的耐腐蚀性、机械性能,以及生物相容性^[1]。然而,在口腔的长期负载下,种植体表面发生机械磨损和电化学腐蚀,导致二氧化钛层被破坏并释放 Ti 颗粒(Ti particles, TPs)^[4]。这些微小的颗粒会被免疫细胞识别和诱发慢性炎症反应,进而导致 PI^[5]。研究表明^[6],这种异物反应主要由先天免疫系统介导,而巨噬细胞在其中起关键作用。巨噬细胞不需要抗原暴露即可直接吞噬磨损颗粒,且极化为促炎 M1 或抗炎 M2 两种主要的表型,产生细胞因子调节局部免疫微环境^[7]。病理学研究表明,在 PI 患者组织检测到的 TPs 浓度较健康种植体的高^[8],还发现明显的巨噬细胞极化现象,其中 M1 型巨噬细胞占主导地位^[9]。此外,免疫学研究表明 TPs 可通过调节淋巴细胞和巨噬细胞的极化使破骨细胞分化,导致骨整合失败^[1]。还有研究表示,纳米级金属颗粒与微粒相比,在炎症反应和细胞摄取等方面表现出更强的生物活性^[10],然目前关于 Ti 微米颗粒和纳米颗粒在巨噬细胞 M1 型极化中的作用及其差异性的研究仍较为有限。

基于上述研究背景,本研究拟从颗粒粒径这一关键因素出发,探讨 Ti 纳米颗粒(Titanium nano-particles, TiNPs)和 Ti 微米颗粒(Titanium micron particles, TiMPs)对巨噬细胞 M1 极化的影响及其潜在机制,以期为阐明 PI 的发病机制提供新的实验依据,并为临床防治策略的制定提供一些理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料 TiNPs(粒径 ≤ 60 nm,上海麦克林生化科技股份有限公司); TiMPs[纯度 $\geq 93\%$,粒径 < 20 μm ,阿法埃莎(中国)化学有限公司];小鼠 RAW 264.7 巨噬细胞(上海酶研生物科技有限公司);细胞计数试剂盒-8(CCK-8)、内毒素检测试剂盒、彩色预染蛋白 marker(上海碧云天生物技术股份有限公司);逆转

录试剂盒、染料法 qPCR 预混液(北京康润诚业生物科技有限公司);小鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素- 1β (IL- 1β)ELISA 试剂盒(江苏酶免实业有限公司);胎牛血清(FBS)、DMEM 培养基(赛默飞世尔科技有限公司);大肠杆菌脂多糖(LPS)、ECL 显色剂(广州硕谱生物科技有限公司);SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒、无蛋白封闭液、抗体稀释液(上海雅酶生物医药科技有限公司);兔抗鼠 β -actin、I κ B- α 、磷酸化 I κ B- α (p-I κ B- α)、p65、磷酸化 p65(p-p65)一抗、HRP 标记羊抗兔二抗(武汉三鹰生物技术有限公司)。抗小鼠 CD16/32、APC 标记抗小鼠 CD86、PE 标记抗小鼠 CD206 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 TPs 的处理 使用千分之一电子天平称量 TiNPs、TiMPs 颗粒各 3 次,取平均值。置于 75%乙醇溶液中浸泡 48 h,随后灭菌超纯水清洗、离心,180 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥 24 h。冷却后加入无菌 PBS 溶液配制成 1 mg/mL 的母液,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存。取部分悬液采用鲎试剂法检测内毒素水平,结果显示内毒素含量均低于 0.5 EU/mL,排除对实验结果的干扰。实验前,将母液用完全培养基稀释,超声处理(40 kHz, 10 min)以获得均匀的颗粒混悬液。

1.2.2 细胞培养与分组 RAW264.7 巨噬细胞在含 10% FBS、1%青霉素-链霉素溶液的 DMEM 培养基中,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的恒温培养箱内培养。实验设 TiNPs 组、TiMPs 组、NC 组(空白组,仅含培养基)、LPS 组(阳性对照组,加入 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 脂多糖)。

1.2.3 CCK-8 分析 TiNPs/TiMPs 对巨噬细胞增殖的影响 RAW264.7 细胞以 5×10^3 个细胞/孔均匀接种在 96 孔板内,培养 24 h 观察细胞贴壁后,分别加入 TiNPs、TiMPs 混悬液。根据预实验结果,浓度设为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$,每个浓度设 3 个复孔,并培养 24 h、72 h。避光条件下加入 CCK-8 试剂,孵育 1 h,使用酶标仪在波长 450 nm 处测量各孔的吸光值。

1.2.4 TiNPs/TiMPs 处理后巨噬细胞形态学分析 根据 CCK-8 实验结果,选择 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作为实验浓度。RAW264.7 细胞以 5×10^4 个细胞/毫升均匀接种在 24 孔板内。24 h 细胞贴壁后,分别加入 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 TiNPs、TiMPs 混悬液以及 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 LPS 进行干预。继续培养 72 h 后,弃去原培养基,用 PBS 洗涤 3 次,每孔加入 4%多聚甲醛,倒置显微镜下观察细胞形态并拍照。

1.2.5 RT-qPCR 检测 M1、M2 型巨噬细胞标志物的 mRNA 表达 按 1.2.4 干预细胞 24 h 和 72 h 后收集细胞。采用 Trizol 试剂提取各组细胞的总 RNA,逆转

录合成 cDNA,使用 SYBR Green 染料法在荧光定量 PCR 仪上扩增。以 *GAPDH* 作为内参基因, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 M1 型巨噬细胞标志物 (*IL-1 β* 、*TNF- α* 、*IL-6*) 和 M2 型巨噬细胞标志物 (*IL-10*) 的 mRNA 相对表达水平。所有引物由捷尼斯生物科技有限公司设计并合成(见表 1)。

表 1 引物序列

Gene	Orientation	Primer Sequence (5'-3')
<i>GAPDH</i>	正向引物	GGCATTGTGGAAGGGCTCAT
	反向引物	ATGTCATCATACTTGGCAGGTT
<i>TNF-α</i>	正向引物	ATGTCTCAGCCTCTTCTCATTC
	反向引物	GCTTGTCACTCGAATTTTGAGA
<i>IL-1β</i>	正向引物	TTGAAGTTGACGGACCCCAA
	反向引物	ATGTGCTGCTGCGAGATTTG
<i>IL-6</i>	正向引物	CTGCAAGAGACTTCCATCCAG
	反向引物	AGTGGTATAGACAGGTCTGTGG
<i>IL-10</i>	正向引物	TTCTTCAAACAAAGGACCAGC
	反向引物	GCAACCCAAGTAACCCTTAAAG

1.2.6 ELISA 检测 M1 型巨噬细胞因子 *IL-1 β* 、*TNF- α* 的表达 按 1.2.4 干预细胞 24 h 和 72 h 后收集细胞上清液,每组取相同体积样本,使用小鼠 *IL-1 β* 、*TNF- α* 的 ELISA 试剂盒进行检测。最后使用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度值。根据标准曲线计算细胞因子浓度。

1.2.7 流式细胞术检测巨噬细胞 M1、M2 型标志物的表达 按 1.2.4 干预细胞 24 h 和 72 h 后收集细胞,经 200 目筛网过滤并调整细胞浓度为 1×10^6 个细胞/毫升。每组取 100 μ L,加入 1 μ L CD16/32 抗体,冰上避光孵育 30 min,PBS 洗涤 3 次。加入 0.5 μ L Fixable Viability Dye,4 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min 以区分活/死细胞,PBS 洗涤 3 次。加入 5 μ L CD86 抗体,4 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min。PBS 洗涤后,加入 100 μ L IC Fixation Buffer,4 $^{\circ}$ C 避光孵育 45 min。加入 1 mL 1 : 9(v/v) PBS 稀释的 Permeabilization Buffer,离心后 PBS 洗涤 3 次。加入 5 μ L CD206 抗体,4 $^{\circ}$ C 避光孵育 45 min,PBS 洗涤 3 次。300 μ L PBS 重悬,加入多聚甲醛至浓度 2% 进行固定。使用流式细胞仪检测,FlowJo 软件分析数据。

1.2.8 Western Blot 检测 *I κ B- α* 、p-*I κ B- α* 、p65 和 p-p65 蛋白表达水平 按 1.2.4 干预细胞 72 h 后收集细胞。使用含 1 mM PMSF 和 $1 \times$ 磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液在冰上裂解 25 min,离心(4 $^{\circ}$ C,12 000 g,25 min)收集上清液。BCA 法检测各组蛋白浓度,并调至相同浓度。加入 $5 \times$ SDS-PAGE 上样缓冲液,70 $^{\circ}$ C 变性 10 min。各组取 10 μ g 蛋白,SDS-PAGE 胶 200 V、35 min 电泳分离,湿转法将蛋白移至 PVDF 膜上,封闭 15 min,TBST 洗涤 3 次。分别加入 1 : 1000 (v/v) 稀释的一抗(抗 *I κ B- α* 、p-*I κ B- α* 、p65、p-p65 和 β -

actin 抗体),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。TBST 洗 3 次,加入 1 : 5000(v/v) 稀释 HRP 标记二抗,室温孵育 1 h。使用 ECL 显影,化学发光成像仪上采集图像。 β -actin 为内参,使用 ImageJ 软件进行分析。

1.3 统计学方法 所有实验独立重复 3 次,结果以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,GraphPad Prism 9.0 软件进行统计分析和图表绘制。分析前使用 Shapiro-Wilk 检验评估数据的正态性,Bartlett 检验验证方差齐性。若数据符合正态且方差齐,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析;对于不符合正态分布或方差不齐的数据,采用非参数秩和检验。 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

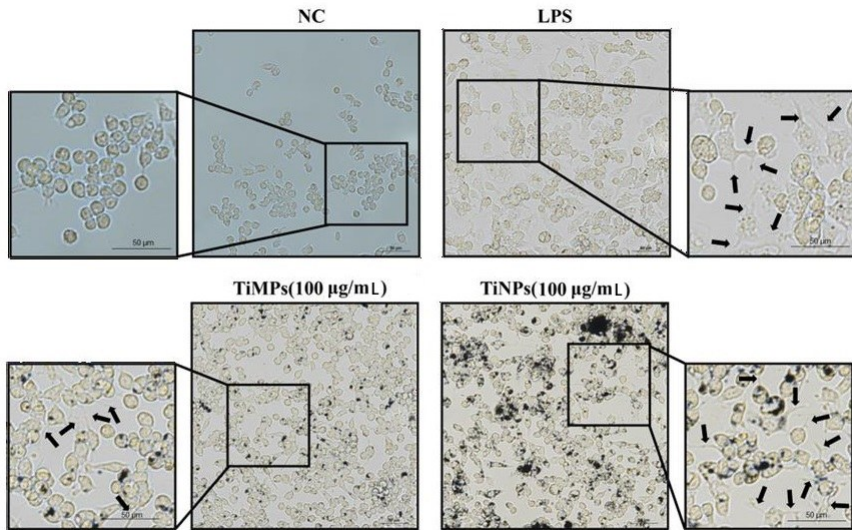
2 结果

2.1 TiNPs/TiMPs 处理后细胞形态分析 巨噬细胞具有可塑性和异质性,其形态学特征可作为评估表型极化的参考指标之一^[11]。各组处理后如图 1 所示,NC 组主要表现为未极化的 M0 型巨噬细胞特征,细胞呈圆形或椭圆形,胞体较小,可见少量短小突起,细胞核相对较小。LPS 组中,大部分呈现典型的 M1 型巨噬细胞形态,细胞体积增大,形态不规则,在多个方向伸出细长的伪足。TiMPs 组和 TiNPs 组中,均观察到明显的颗粒吞噬现象,胞质内可见大量黑色 Ti 颗粒沉积。此外,一部分细胞表现出与 M1 型巨噬细胞相似的形态学特征,包括细胞体积增大和伪足延伸等。这些观察结果初步表明,两种尺寸的 TPs 可能诱导巨噬细胞向 M1 型极化。

2.2 各浓度 TiNPs/TiMPs 对巨噬细胞增殖的影响

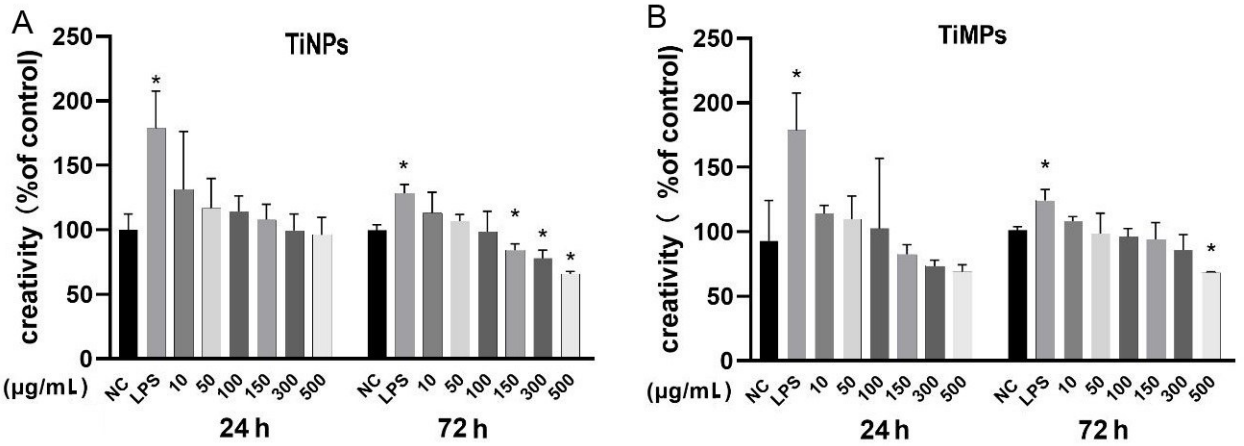
采用 CCK-8 法检测不同浓度 TiNPs/TiMPs 对 RAW264.7 细胞活力和增殖的影响。如图 2 所示,干预 24 h 后,TiNPs 和 TiMPs 处理组与 NC 组之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。图 2A 示干预 72 h 后,TiNPs 在浓度 150 μ g/mL、300 μ g/mL、500 μ g/mL 对细胞增殖产生抑制作用 ($P < 0.05$)。图 2B 示干预 72 h 后 500 μ g/mL TiMPs 对细胞增殖有抑制作用 ($P < 0.05$)。基于以上结果,选择 100 μ g/mL 作为后续的实验浓度。

2.3 TiNPs/TiMPs 对 M1、M2 型巨噬细胞标志物 mRNA 表达的影响 RT-qPCR 检测结果如图 3 所示,TiNPs 刺激巨噬细胞 24 h 和 72 h 后,与 NC 组相比,M1 型巨噬细胞标志物 *IL-1 β* 、*TNF- α* 、*IL-6* 的 mRNA 表达水平均显著升高,且呈现时间依赖性,并且显著高于 TiMPs 组 ($P < 0.05$);而 M2 标志物 *IL-10* 的表达与 NC 组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。TiMPs 刺激巨噬细胞 24 h 和 72 h 后,与 NC 组相比,*TNF- α* 、*IL-6* 的表达逐渐升高 ($P < 0.05$);在 72 h 时 *IL-1 β* 的表达也升高 ($P < 0.05$);*IL-10* 的表达与 NC 组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。



注:黑色箭头指示巨噬细胞伪足(比例尺=50 µm)。

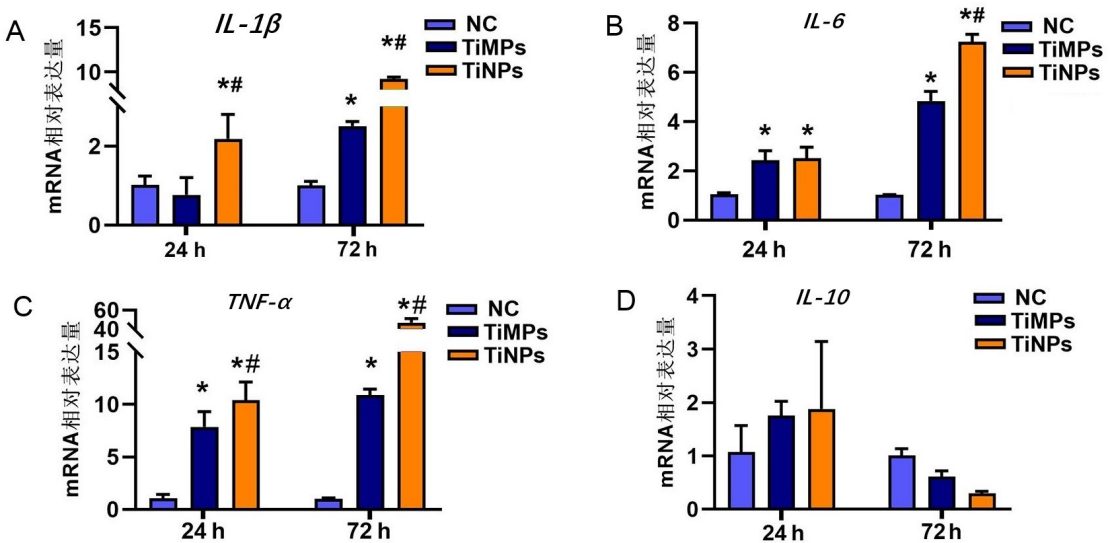
图 1 不同处理组 RAW264.7 细胞的形态学观察(×40)



注:A为TiNPs干预24h、72h后的细胞活力;B为TiMPs干预24h、72h后的细胞活力。

与NC组比较,* $P < 0.05$ 。

图 2 TiNPs/TiMPs对RAW264.7细胞增殖的影响

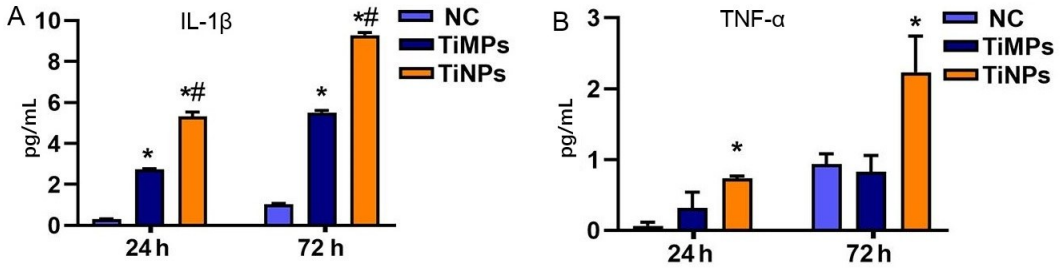


注:与NC比较,* $P < 0.05$;与TiMPs比较,# $P < 0.05$ 。

图 3 TiNPs/TiMPs对巨噬细胞极化标志物 mRNA 表达的影响

2.4 TiNPs/TiMPs 对促炎细胞因子表达的影响
ELISA 检测结果如图 4 所示,与 NC 组相比,TiNPs 处理促进了促炎因子 IL-1 β 和 TNF- α 的分泌,在 24 h 和 72 h,TiNPs 组的 IL-1 β 和 TNF- α 表达水平均显著上

调($P < 0.05$),且显著强于 TiMPs 处理组($P < 0.05$)。TiMPs 在 24 h 和 72 h 后仅诱导 IL-1 β 分泌的显著增加($P < 0.05$),对 TNF- α 的表达无显著影响($P > 0.05$)。

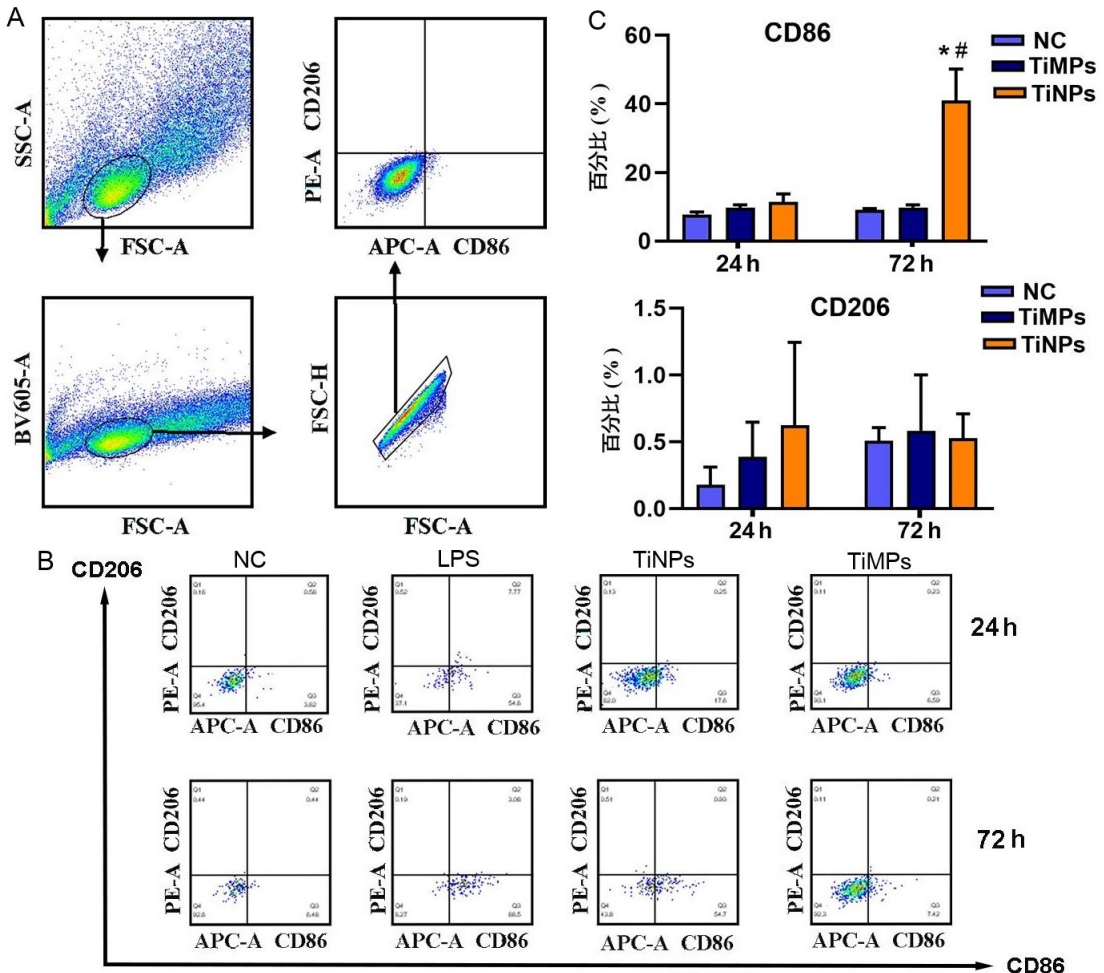


注:与 NC 比较,* $P < 0.05$;与 TiMPs 比较,# $P < 0.05$ 。

图 4 TiNPs/TiMPs 对细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 分泌的影响

2.5 TiNPs/TiMPs 对 M1、M2 型巨噬细胞标志物表达的影响
与 NC 组比较,TiNPs 处理 72 h 后显著上调了 M1 型巨噬细胞标志物 CD86 的表达水平($P < 0.05$),而 TiMPs 处理组的 CD86 表达与 NC 组相比差

异无统计学意义($P > 0.05$)。另外各组间 M2 型巨噬细胞标志物 CD206 的表达水平与 NC 组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 5。

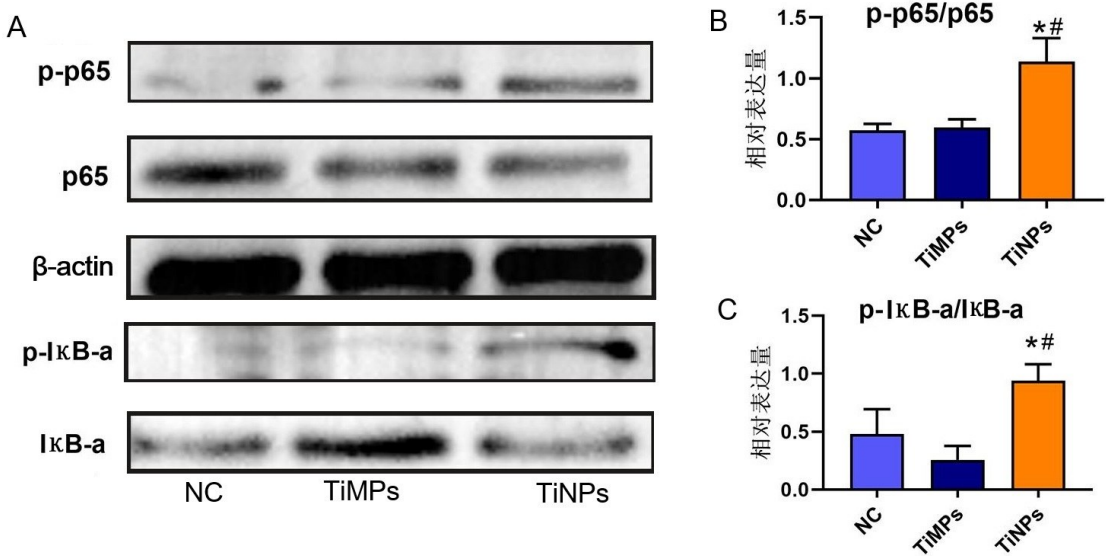


注:A.流式细胞术圈门过程图;B.各组 24 h、72 h 的流式细胞术结果图;C.各组 24 h、72 h 流式细胞术 M1、M2 巨噬细胞标志物 CD86、CD206 的统计图。与 NC 比较,* $P < 0.05$;与 TiMPs 比较,# $P < 0.05$ 。

图 5 流式细胞术分析 TiNPs/TiMPs 对巨噬细胞极化的影响

2.6 TiNPs/TiMPs 对巨噬细胞 I κ B- α 、p-I κ B- α 、p65 和 p-p65 蛋白表达的影响 Western Blot 分析结果如图 6 所示,与 NC 组相比 TiNPs 处理显著提高了 p-

p65/p65 和 p-I κ B- α /I κ B- α 的相对表达水平 ($P < 0.05$)。而 TiMPs 处理组与 NC 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。



注:在静息时 p50/p65 二聚体与 I κ B 结合在胞质内,当 NF- κ B 信号通路被激活后,I κ B 磷酸化并降解,使二聚体移至核内,因此 p-p65 和 p-I κ B- α 可指示 NF- κ B 通路的激活状态^[12]。A 为 p-I κ B- α 、I κ B- α 、p65 和 p-p65 的 Western Blot 图像;B 为 p65/p-p65 的统计分析图;C 为 p-I κ B- α /I κ B- α 的统计分析图。与 NC 比较,* $P < 0.05$;与 TiMPs 比较,# $P < 0.05$ 。

图 6 各组 I κ B- α 、p-I κ B- α 、p65 和 p-p65 的蛋白表达和分析

3 讨论

成功的骨整合目前被认为是植入物与宿主免疫之间的动态平衡状态,即在植入物周围形成骨组织,使其与机体相隔离^[3]。若该平衡被打破,骨吸收速率将超过骨形成速率,种植体周围的骨质会逐渐流失,最终发展为 PI^[3]。这一病理过程主要受到免疫系统调控,其中巨噬细胞作为先天免疫系统的重要组成部分,通过调节其极化状态来影响种植体周围骨组织的稳态^[7]。M1 型巨噬细胞具有强大的吞噬功能,通过分泌促炎因子、活性氧等物质,不仅激活炎症信号通路和募集其他免疫细胞,还能促进破骨细胞的分化和活化^[13]。长期处于 M1 极化状态可能导致慢性骨吸收。而 M2 巨噬细胞产生的抗炎因子(如 IL-4、TGF- β 和 IL-10)可抑制破骨细胞活性,促进组织的修复和再生^[14]。

在 PI 患者病变组织的活检中显示,TPs 是主要的异物成分^[1]。大部分 TPs 的粒径在十几纳米到数百微米不等^[6,15]。研究表明^[16],颗粒尺寸与免疫反应强度密切相关,当 TPs 从种植体表面脱落后,其生物惰性将发生改变,表现出一定的免疫原性。尤其粒径 $< 20 \mu\text{m}$ 时,能促进多种炎症介质的分泌,包括髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88) 和核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 等^[17]。其中亚微米级和纳米级($< 1 \mu\text{m}$)颗粒因具有更大的表

面积与体积比,表现出更强的生物反应性,比如引发炎症和异物反应^[14]。本研究结果显示,TiNPs 促进巨噬细胞向 M1 型极化,促炎作用明显强于 TiMPs,这与先前的研究结果一致,提示 TPs 在诱发 PI 的反应过程中,TiNPs 可能是主要的效应介质。

对于微粒和纳米颗粒,巨噬细胞的处理机制存在差异,将影响其极化状态。较大的微粒($10 \sim 100 \mu\text{m}$)单个巨噬细胞无法吞噬时,多个巨噬细胞会形成异物巨细胞将其包裹后处理^[13]。该过程复杂,涉及由多种细胞分泌的细胞因子,如 IL-4 和 IL-13 作用下巨噬细胞的趋化、融合和内化等^[18-19],但本研究仅采用单一细胞系进行实验,缺乏其他细胞的协同作用,可能是 TiMPs 组中未能观察到明显极化现象的重要原因。此外,与微粒相比,只有纳米级 TPs 能够进入细胞核,引起 DNA 甲基化、组蛋白翻译后修饰等表观遗传改变,从而影响炎症、细胞增殖等生物进程^[6]。同时,TiNPs 还引起异物反应,促使多种介质,如促炎因子、趋化因子的表达^[7]。以上步骤可激活下游的 NF- κ B、MAPK 等多个极化相关的信号通路^[20]。NF- κ B 信号通路作为炎症与免疫应答的重要通路,在本研究中可能是 TiNPs 调控巨噬细胞极化的关键靶点。实验结果显示 TiNPs 通过上调 p65 和 I κ B- α 的磷酸化,促使 NF- κ B 二聚体的核转位,从而激活该通路并诱导巨噬

细胞向促炎 M1 表型极化。伴随促炎因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)及 CD86 的表达升高,但 CD206 的表达与 NC 组相比未见显著差异。CD206 作为 M2 型巨噬细胞特异性甘露糖受体,其表达受 NF- κ B 通路负向调控,抑制此通路可促使巨噬细胞向 M2 型极化并上调 CD206^[21-22]。而 NF- κ B 通路上调了 CD86 的表达,CD86 是 M1 型巨噬细胞表面的共刺激分子,可激活 T 细胞和增强免疫应答^[23]。NF- κ B 通路通过调控 M1/M2 的极化,影响局部组织的免疫应答^[22]。由于 M1 型巨噬细胞会分泌多种细胞因子,通过旁分泌加剧周围组织的损伤,还可通过自分泌维持其 M1 表型^[20-24]。若种植体周围微环境中长期保持 M1 极化的状态,可能引起局部慢性骨吸收,最终发展为 PI^[7]。虽然其具体机制仍需深入研究,但 TiNPs 通过激活 NF- κ B 信号通路引起 M1/M2 平衡失调,进而引起异物反应和骨吸收,可能是未来 PI 治疗的一个潜在靶点。

本研究仍存在局限之处。首先,TPs 在 PI 中的致病机制复杂,涉及多种免疫细胞以及多个信号通路的相互作用,需要更全面、更详细的实验设计和研究方案来进一步阐明;其次,本研究为体外实验,缺乏体内实验的进一步验证;此外,PI 的病程一般较长,由于条件限制,本研究设置的观察时间点较短,无法全面反映完整的动态变化过程。未来还需对上述不足进行必要的优化与改进。

参考文献:

- [1] KHEDER W, BOUZID A, VENKATACHALAM T, et al. Titanium particles modulate lymphocyte and macrophage polarization in peri-implant gingival tissues[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(14): 11644.
- [2] DIAZ P, GONZALO E, VILLAGRA L J G, et al. What is the prevalence of peri-implantitis? a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Oral Health*, 2022, 22(1): 449.
- [3] IVANOVSKI S, BARTOLD P M, HUANG Y S. The role of foreign body response in peri-implantitis: what is the evidence? [J]. *Periodontol*, 2000, 2022, 90(1): 176-185.
- [4] GAUR S, AGNIHOTRI R, ALBIN S. Bio-tribocorrosion of titanium dental implants and its toxicological implications: a scoping review [J]. *Sci World J*, 2022, 2022: 4498613.
- [5] GAO J J, WU P, CHI Y J, et al. LY450139 inhibited Ti-particle-induced bone dissolution via suppressing Notch and NF- κ B signaling pathways [J]. *Cal-cif Tissue Int*, 2022, 111(2): 211-223.
- [6] CHEN L, TONG Z A, LUO H K, et al. Titanium particles in peri-implantitis: distribution, pathogenesis and prospects[J]. *Int J Oral Sci*, 2023, 15(1): 49.
- [7] SUPRA R, AGRAWAL D K. Innate Immune response in orthopedic implant failure[J]. *J Orthop Sports Med*, 2023, 5(1): 9-19.
- [8] ASA'AD F, THOMSEN P, KUNRATH M F. The role of titanium particles and ions in the pathogenesis of peri-implantitis[J]. *J Bone Metab*, 2022, 29(3): 145-154.
- [9] RAKIC M, RADUNOVIC M, PETKOVIC-CURCIN A, et al. Study on the immunopathological effect of titanium particles in peri-implantitis granulation tissue: a case-control study[J]. *Clin Oral Implants Res*, 2022, 33(6): 656-666.
- [10] KHEDER W, AL KAWAS S, KHALAF K, et al. Impact of tribocorrosion and titanium particles release on dental implant complications-A narrative review [J]. *Jpn Dent Sci Rev*, 2021, 57: 182-189.
- [11] YU D M, GUO S, YU M, et al. Immunomodulation and osseointegration activities of Na₂TiO₃ nanorods-arrayed coatings doped with different Sr content [J]. *Bioact Mater*, 2022, 10: 323-334.
- [12] KHATUA S, SIMAL-GANDARA J, ACHARYA K. Understanding immune - modulatory efficacy *in vitro* [J]. *Chem Biol Interact*, 2022, 352: 109776.
- [13] REIFENRATH J, WELLMANN M, KEMPFERT M, et al. TGF- β 3 loaded electrospun polycaprolacton fibre scaffolds for rotator cuff tear repair: an *in vivo* study in rats [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 1046.
- [14] ALBREKTSSON T, TENGVALL P, AMENGUAL L, et al. Osteoimmune regulation underlies oral implant osseointegration and its perturbation [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1056914.
- [15] WU X X, CAI C J, GIL J, et al. Characteristics of particles and debris re-leased after implantoplasty: a comparative study [J]. *Materials (Basel)*, 2022, 15(2): 602.
- [16] AMENGUAL-PENAFIEL L, CORDOVA L A, CONSTANZA JA-RA-SEPULVEDA M, et al. Osteoimmunology drives dental implant osseointegration: a new paradigm for implant dentistry [J]. *Jpn Dent Sci Rev*, 2021, 57: 12-19.
- [17] MESSOUS R, HENRIQUES B, BOUSBAA H, et al. Cytotoxic effects of submicron- and nano-scale titanium debris released from dental implants: an integrative review [J]. *Clin Oral Investig*, 2021, 25(4): 1627-1640.
- [18] ESLAMI-KALIJI F, HEDAYAT NIA N, LAKEY J R T, et al. Mechanisms of foreign body giant cell formation in response to implantable biomaterials [J]. *Polymers (Basel)*, 2023, 15(5): 1313.
- [19] GHOSH M, MCGURK F, NORRIS R, et al. The implant-induced foreign body response is limited by cd13-dependent regulation of ubiquitination of fusogenic proteins [J]. *J Immunol*, 2024, 212(4): 663-676.

(下转第 256 页)

后期产生苦涩味有关。

综上所述,九华黄精经过九蒸九晒炮制后,其化学成分发生了显著变化。这些变化不仅提高了其滋补功效,还使其更易于被人体吸收和利用。现代药理学研究发现,九华黄精经九蒸九晒炮制后可提升抗氧化^[13]、降血糖^[14]、调节免疫^[15]、抗动脉硬化^[16]、抗肿瘤^[17]等功效,上述药理学改变可能与炮制前后主要差异代谢物有关,但与药效关系需进一步研究。

参考文献:

- [1] 赵祺,任仙樱,姜程曦. 九华黄精本草考证[J]. 中草药, 2018,49(17):4184-4188.
- [2] ZHANG X N, SHI S H, ZHANG J L, et al. Effects of different processing methods on the quality of *Polygonatum cyrtonema* Hua [J]. TMR Mod Herb Med, 2024, 7(2): 10.
- [3] 盛祥文,许兴旺,汪茜. 九华黄精种质资源保护与开发利用现状及对策[J]. 现代农业科技, 2023(22):52-55.
- [4] 王晓慧,李帆,罗莎,等. 九华黄精的化学成分研究进展[J]. 特种经济动植物, 2019, 22(7):21-23.
- [5] 秦宇雯,袁玮,陆兔林,等. 九华黄精的炮制工艺沿革及现代研究[J]. 中草药, 2018, 49(18):4432-4438.
- [6] 侯红平,王彩霞,魏晓露,等. 高分辨非靶代谢组学方法研究臻通集胶囊对高脂血症模型大鼠的影响[J]. 中国现代中药, 2023, 25(4):812-821.
- [7] 彭佩瑾,闫媛,安广涛,等. 中药美拉德反应研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(11):121-129.
- [8] 闫玉珠,于燕,刘俊叶,等. 酒精性和激素性股骨头坏死的

外周脂质组学分析[J]. 中南大学学报(医学版), 2022, 47(7):872-880.

- [9] 杨思雨,池玉洁,张海琼,等. 基于广泛靶向代谢组学分析不同基原黄连根茎次生代谢物差异[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(20):5441-5450.
- [10] 徐如静,梁娟,俞年军,等. 九华黄精炮制前后多糖类成分结构变化研究[J]. 安徽中医药大学学报, 2021, 40(2): 91-96.
- [11] 滕欢欢,王仁中,吴德玲,等. 多花黄精炮制前后不同极性部位抗氧化与降血糖活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(8):70-75.
- [12] 林莹. 泰山黄精炮制前后外观性状、有效成分及刺激性物质变化相关性研究[D]. 济南:山东中医药大学, 2023.
- [13] 潘德芳. 九华黄精活性成分多糖及挥发性组分研究[D]. 长沙:中南大学, 2011.
- [14] 胡嘉懿. 产业化蒸制过程中九华黄精的品质评价及降血糖作用差异研究[D]. 合肥:安徽中医药大学, 2023.
- [15] 张宇,夏成涵,吴江平,等. 九华黄精的化学成分及其抗炎活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(7): 1149-1157.
- [16] GUO A J, LI X Y, PAN L H, et al. The interventional effect of *Polygonatum cyrtonema* Hua polysaccharide on atherosclerosis in mice of different sexes [J]. Food Sci Hum Wellness, 2024, 13(1):370-380.
- [17] 李玲. 连续制备的多花黄精多糖的理化性质及活性研究[D]. 合肥:合肥工业大学, 2018.

收稿日期:2025-01-02;修回日期:2025-02-08

(本文编辑 覃洪含)

(上接第 248 页)

- [20] YIN Z Y, GONG G, LIU X H, et al. Mechanism of regulating macrophages/osteoclasts in attenuating wear particle-induced aseptic osteolysis [J]. Front Immunol, 2023, 14:1274679.
- [21] LI W G, LIU W B, WANG W, et al. Sinusoidal electromagnetic fields accelerate bone regeneration by boosting the multifunctionality of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1):234.
- [22] TONG Y, YU Z, CHEN Z X, et al. The HIV protease inhibitor Saquinavir attenuates sepsis-induced acute lung injury and promotes M2 macrophage polarization via

targeting matrix metalloproteinase-9[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(1):67.

- [23] CUTOLO M, CAMPITIELLO R, GOTELLI E, et al. The Role of M1/M2 macrophage polarization in rheumatoid arthritis synovitis[J]. Front Immunol, 2022, 13: 867260.
- [24] PU J, WU D S, ZHANG Y L, et al. An experimental study on the fretting corrosion behaviours of three material pairs at modular interfaces for hip joint implants [J]. Lubricants, 2021, 9(2):12.

收稿日期:2025-01-17;修回日期:2025-02-14

(本文编辑 覃洪含)