

文章编号: 1004-7220(2025)05-1272-09

# 未成熟树突状细胞对钛表面不同晶相纳米形貌的力学生物学响应

罗赵雅靖<sup>1</sup>, 吴仪<sup>2</sup>, 陈红<sup>1</sup>, 陈晋<sup>1</sup>, 胡祖权<sup>1</sup>, 曾柱<sup>1,2\*</sup>, 王赞<sup>1,2\*</sup>

(1. 贵州医科大学 生物与工程学院(健康医药现代产业学院), 贵州省普通高等学校免疫细胞与抗体工程研究中心, 贵阳 550000;

2. 贵州医科大学 基础医学院, 贵州省细胞免疫治疗工程研究中心, 贵阳 550000)

**摘要:**目的 为阐明钛表面改性对未成熟树突状细胞(imature dendritic cells, imDCs)免疫功能的调控, 在钛表面构建不同晶相纳米形貌, 探究 imDCs 对钛表面不同晶相纳米形貌的力学生物学响应。方法 通过阳极氧化和煅烧的方法在钛表面构建不同晶相的纳米形貌; 将 imDCs 培养于不同晶相纳米形貌的钛基底上后, 通过荧光染色观察不同晶相纳米形貌上 imDCs 细胞骨架 F-actin、黏附及形态的变化; 采用实时荧光定量 PCR 检测黏附分子的表达量; 利用活细胞实时成像观察 imDCs 的迁移行为; 通过荧光偏振法检测 imDCs 的膜流动性。结果 经阳极氧化和煅烧在钛表面获得了不同晶相纳米形貌, 分别为非晶相、锐钛矿和金红石。不同晶相纳米形貌上 imDCs 的细胞骨架发生重塑, 锐钛矿晶相上细胞的铺展面积相对较小, 为  $(353.3 \pm 148.5) \mu\text{m}^2$ ; 黏附的细胞数量最多, 为  $(587 \pm 132)$  个, 黏附分子 CD11a、integrin  $\beta 2$ 、ICAM1、VCAM1 的表达量也增加; 细胞迁移能力较强, 累积迁移距离为  $(383.6 \pm 177.7) \mu\text{m}$ , 欧式迁移距离为  $(51.82 \pm 50.13) \mu\text{m}$ ; 膜流动性相对较弱, 荧光偏振度为  $0.3485 \pm 0.0418$ 。结论 imDCs 能对钛表面不同晶相纳米形貌产生响应, 表现出不同的生物力学行为。研究结果为设计具有免疫调控功能的钛生物材料提供理论依据。

**关键词:** 钛; 晶相结构; 树突状细胞; 力学生物学响应

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2025.05.025

## The Mechanobiological Response of Immature Dendritic Cells to Nanomorphologies with Different Crystalline Phases on Titanium Surfaces

LUO Zhaoyajing<sup>1</sup>, WU Yi<sup>2</sup>, CHEN Hong<sup>1</sup>, CHEN Jin<sup>1</sup>, HU Zuquan<sup>1</sup>, ZENG Zhu<sup>1,2\*</sup>, WANG Yun<sup>1,2\*</sup>

(1. Immune Cells and Antibody Engineering Research Center of Guizhou Province, School of Biology and Engineering (School of Modern Industry for Health and Medicine), Guizhou Medical University, Guiyang 550000, China; 2. Engineering Center of Cellular Immunotherapy of Guizhou Province, School of Basic Medical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 550000, China)

收稿日期: 2025-03-19; 修回日期: 2025-05-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(12202111, 12132006), 贵州省科技计划项目(黔科合基础 ZK[2022]一般 385), 贵州省重点实验室(ZDSYS [2023]004), 贵州医科大学基金项目(21NSFCP35、校博合 J 字[2021]042 号)

通信作者: 曾柱, 教授, 博士生导师, E-mail: zengzhu@gmc.edu.cn; 王赞, 副教授, 青年博士生导师, E-mail: wangyun@gmc.edu.cn

\* 为共同通信作者

**Abstract: Objective** To elucidate the regulatory effects of titanium surface modification on the immune function of immature dendritic cells (imDCs), different crystalline nanomorphologies were constructed on titanium surface to investigate the mechanobiological response of imDCs to nanomorphologies with different crystalline phases.

**Methods** Nanomorphologies with different crystalline phases were constructed on the titanium surface by anodic oxidation and calcination. The changes of the cytoskeleton F-actin, cell adhesion and morphology of imDCs cultured on nanomorphologies with different crystalline phases were observed by fluorescence staining. The relative gene expression of adhesion molecules was detected by quantitative real-time PCR. The migration behaviors of imDCs were observed using real-time live-cell imaging, and the membrane fluidity was detected by fluorescence polarization. **Results** Nanomorphologies with different crystalline phases, namely amorphous phase, anatase and rutile, were obtained on the titanium surface by anodic oxidation and calcination. The cytoskeleton of imDCs on nanomorphologies with different crystalline phases was remodeled. The spreading area of cells on anatase crystalline phase was relatively small, which was  $(353.3 \pm 148.5) \mu\text{m}^2$ . The number of adherent cells was the largest, which was  $587 \pm 132$ . The expression of adhesion molecules such as CD11a, integrin  $\beta 2$ , ICAM1, and VCAM1 were also increased in cells which cultured on anatase crystalline phase. The imDCs cultured on anatase crystalline phase were equipped with strong migration ability. The accumulative migration distance was  $(383.6 \pm 177.7) \mu\text{m}$ , and the Euclidean migration distance was  $(51.82 \pm 50.13) \mu\text{m}$ . The membrane fluidity was relatively weak, and the fluorescence polarization was  $0.3485 \pm 0.0418$ . **Conclusions** imDCs can respond to nanomorphologies with different crystalline phases on the titanium surface and exhibit different biomechanical behaviors. The results might provide a theoretical basis for the design of titanium biomaterials with immunomodulatory functions.

**Key words:** titanium; crystalline phase structure; dendritic cells; mechanobiological response

钛及其合金因良好的力学性能、优异的耐腐蚀性和生物相容性,已成为骨科和牙科缺损修复的核心植入材料,每年全球超百万患者通过钛植入体实现功能重建<sup>[1]</sup>。然而,由于植入后常引起不良炎症反应,使机体不能顺利进入增殖期和重塑期,使得钛的植入仍面临失败风险<sup>[2-3]</sup>。

树突状细胞(dendritic cells, DCs)是机体免疫系统中目前已知功能最强大的一类专职的抗原提呈细胞(antigen presenting cells, APCs),从功能上可分为未成熟DCs(imature DCs, imDCs)和成熟DCs(mature DCs, mDCs)。作为连接先天性免疫应答和适应性免疫应答的桥梁,DCs可通过表面模式识别受体识别材料植入后产生的生物材料相关模式分子,刺激初始T淋巴细胞的增殖和分化。不同的模式分子可以使DCs产生不同的响应,刺激T细胞往不同的方向分化,从而引发不同的免疫应答<sup>[4-5]</sup>。DCs的免疫学行为对植入部位免疫微环境稳态的维持至关重要<sup>[6]</sup>。研究表明,植入部位微环境中DCs的表型和功能依赖于植入生物材料表面的理化性质,如材料表面的亲疏水性、粗糙度、硬度

以及拓扑结构<sup>[7-9]</sup>。

研究发现,对钛表面进行改性(如拓扑结构优化和涂层)可以影响其表面蛋白质的吸附,从而间接调控免疫细胞应答<sup>[10-11]</sup>。通过改变钛表面理化性质,可以定向调控DCs的活化状态,从而减轻钛植入后机体的排异反应<sup>[7-9]</sup>。通过阳极氧化法在钛表面制备TiO<sub>2</sub>纳米形貌是一种常用且简便的钛表面改性技术,能有效提高钛植入的生物相容性和成骨能力。但这种方法制备的表面结构以非晶相为主,此类非晶相在高温热处理过程中会发生晶相的转变,最终形成锐钛矿相或金红石相等稳定的晶相<sup>[12]</sup>。TiO<sub>2</sub>不同晶相结构可调控细胞的黏附、增殖、分化等功能,但现有研究主要集中在不同晶相对成骨细胞增殖和分化的影响<sup>[13-14]</sup>。DCs如何通过力学感知-免疫信号转导对钛表面不同晶相纳米形貌进行响应尚不清楚。

本文从材料表面改性的角度出发,通过阳极氧化与热处理相结合的方式,在钛表面构建非晶相、锐钛矿及金红石相纳米形貌层,体外研究不同晶相纳米形貌对imDCs形态、细胞骨架结构、黏附、迁移

和膜流动性等力学生物学行为的调控,为明确 DCs 对生物材料表面改性的响应提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂及仪器

RPMI-1640 培养基(Gibco 公司,美国);胎牛血清(GeminiBio 公司,美国);重组小鼠粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(rmGM-CSF)、重组小鼠白细胞介素-4(rmIL-4)、脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)(Peprotech 公司,美国);CD11c<sup>+</sup>磁珠(Milteny 公司,德国);流式抗体(Thermo Fisher Scientific 公司,美国);钛片(奥秀金属材料有限公司);乙二醇(天津市风船化学试剂科技有限公司);PDMS(Dow Corning 公司,美国);罗丹明标记的鬼笔环肽、DAPI 染料(北京索莱宝科技有限公司);逆转录试剂盒(天根生化科技(北京)有限公司);qPCR SYBR Green Master Mix(翌圣生物科技(上海)股份有限公司);qPCR 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;TMA-DPH(Cayman Chemical 公司,美国);直流稳定电源(北京六一仪器厂);F-4600 荧光分光光度计(Hitachi 公司,日本);流式细胞仪(Beckman Coulter 公司,美国);激光共聚焦显微镜、正置荧光显微镜(Nikon 公司,日本)。

### 1.2 实验动物

6~8 周龄 SPF 级 C57BL/6J 小鼠,购自贵州医科大学实验动物中心,常规饲养于实验室动物房。本研究获得贵州医科大学实验动物伦理委员会的批准(2200274)。

### 1.3 钛表面不同晶相 TiO<sub>2</sub> 纳米形貌的制备

配制 0.25% NH<sub>4</sub>F 乙二醇电解液,将钛片经超声清洗、酸蚀和抛光后,置于电解液中进行 2 次阳极氧化,每次氧化电压为 20 V,氧化时间 30 min,得到非晶相钛片。将非晶相组在 450 °C 煅烧 1 h 得到锐钛矿相钛片,800 °C 煅烧 15 min 得到金红石相钛片。制备好的钛片经高温灭菌后可用于细胞培养。

### 1.4 小鼠骨髓来源的树突状细胞分离与培养

将 C57BL/6J 小鼠麻醉处死后,从胫骨和股骨中提取骨髓细胞,用红细胞裂解液去除红细胞后,将剩余细胞重悬在含 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素、20 ng/mL rmGM-CSF 和 10 ng/mL rmIL-4 的 RPMI-1640 培养基中培养,隔日半换液。第 6 天用

小鼠 CD11c<sup>+</sup> 细胞分选磁珠分选获得 imDCs,在 imDCs 中加入 100 ng/mL 的 LPS 刺激 24 h 获得 mDCs。本文以 imDCs 作为研究对象。

### 1.5 DCs 表型鉴定

离心收集细胞,用 4% 多聚甲醛固定 20 min 后 PBS 清洗,加入 1% BSA 重悬细胞,加入 CD11c、CD80、CD86、CD40、MHC-II 抗体,避光孵育 30 min, PBS 清洗后用流式细胞仪检测上述分子的表达。

### 1.6 细胞的 F-actin 及 DAPI 染色

将 imDCs 以每孔  $2 \times 10^5$  个细胞的密度接种于 12 孔板中培养 24 h。悬浮培养的 imDCs 制成细胞爬片,钛片组培养的 imDCs 直接弃去培养基,用 4% 多聚甲醛固定细胞后用 PBS 洗 3 次。加入 0.1% Triton X-100 进行通透, PBS 洗 3 次。加入 1% BSA 进行封闭, PBS 洗 3 次。加入罗丹明标记的鬼笔环肽稀释液,室温避光孵育 30 min, PBS 洗 3 次。加入 DAPI 染液避光孵育 5 min, PBS 洗 3 次后,正置荧光显微镜拍照观察。用 Image J 软件分析各组细胞的铺展面积、圆度、圆润度、长径比(A/R)。

### 1.7 细胞黏附情况及黏附相关分子相对表达量

按照 1.6 节方法进行细胞接种、培养、DAPI 染色后,正置荧光显微镜拍照观察,用 Image J 软件分析各组细胞黏附的情况。

将 imDCs 以每孔  $2 \times 10^6$  个细胞的密度接种于 6 孔板中培养 24 h(后续细胞实验中,除特殊说明外,细胞接种密度均与此相同)。将钛片上的细胞用细胞解离液解离下来后,用 Trizol 法提取各组细胞的总 RNA,用逆转录试剂盒进行反转录为 cDNA,以此作为模板,每组 3 个复孔,在实时荧光定量 PCR 系统中进行实时 PCR 反应。先 95 °C 预变性 2 min,随后进行 40 个扩增循环(95 °C 变性 10 s, 60 °C 退火/延伸 30 s)。结果用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  表示实验组目的基因相对于对照组的相对变化倍数。实验所用引物序列见表 1。

### 1.8 细胞自由迁移实验

将 PDMS 胶的 A 液和 B 液按照 3 : 10 比例混合后平铺在共聚焦皿中,60 °C 固化 8 h;将 PDMS 胶浸泡在 10% APTES 中,50 °C 处理 2 h;将 PDMS 胶浸泡在 2.5% 戊二醛中改性 1 h 后进行灭菌处理用于细胞培养。将钛片上的细胞解离后,接种  $2 \times 10^5$  个细胞到 PDMS 胶上培养 2 h 后,用 PBS 洗去未贴在胶

表 1 引物序列

Tab. 1 Real time qPCR primers

基因	序列
GAPDH	F:GGTTGCTCTCTCGACTTCA
	R:TGGTCCAGGGTTTCTACTCC
CD11a	F:AGTCAGCTACATGGTTCTAAC
	R:GTAAGTGTCTGATCGCATGTC
integrin $\beta$ 2	F:TGGGAATACTGCGAGTGTGA
	R:TCGTAACCGGGCTTGCACACTA
ICAM1	F:CTGAAAGATGAGCTCGAGAGTG
	R:AAACGAATACACGGTGTGCGTA
VCAM1	F:GACATTTACCCAGTTACAGGC
	R:TGACGGGAGTAAAGGTTACTTC

上的细胞,加入 200  $\mu$ L RPMI-1640 培养基,用激光共聚焦显微镜活细胞成像系统记录细胞的迁移行为,每隔 30 s 记录 1 次,连续记录 1 h。用 Image J 软件进行迁移轨迹追踪,用 Chemotaxis and Migration Tool 软件分析细胞的平均迁移速度、累计迁移距离及欧氏迁移距离。

### 1.9 细胞膜流动性检测

离心收集各组细胞,用 0.5 mL RPMI-1640 培养基重悬细胞,加入 0.5 mL 2  $\mu$ mol/L 的 TMA-DPH 工作液混匀,37  $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min;PBS 清洗后加入 1 mL PBS 重悬,用荧光分光光度计在时间扫描模式下检测细胞不同偏振角度时的荧光强度。其中, $I_{VV}$  为起偏器和检偏器光轴均在垂直方向时的荧光强

度(90-90); $I_{VH}$  为起偏器光轴在垂直方向、检偏器光轴在水平方向时的荧光强度(90-0); $I_{HH}$  为起偏器和检偏器光轴均在水平方向时的荧光强度(0-0); $I_{HV}$  为起偏器光轴在水平方向、检偏器光轴在垂直方向时的荧光强度(0-90)。荧光偏振度的计算公式为:

$$P = (I_{VV} - GI_{VH}I_{HV}) / (I_{VV} + GI_{VH})$$

式中: $G$  为校正因子( $G = I_{HV} / I_{HH}$ )。

### 1.10 统计学分析

用 GraphPad Prism 对实验数据进行统计分析,结果用(均值 $\pm$ 标准差)表示。组间比较采用  $t$  检验或单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同晶相 $\text{TiO}_2$ 纳米形貌的制备

钛表面构建的非晶相  $\text{TiO}_2$  具有不同的纳米颗粒结构[见图 1(a)]。锐钛矿晶相同样具有  $\text{TiO}_2$  纳米颗粒结构形貌,但颗粒致密程度比非晶相上的高[见图 1(b)]。金红石晶相结构表面的颗粒变大,且更加致密光滑[见图 1(c)]。XRD 检测结果显示,各组样品的 XRD 图谱与标准卡片(441294-Ti、211272-Anatase、731765-Rutile)的特征峰吻合,说明成功制备了不同晶相的  $\text{TiO}_2$ [见图 1(d)]。

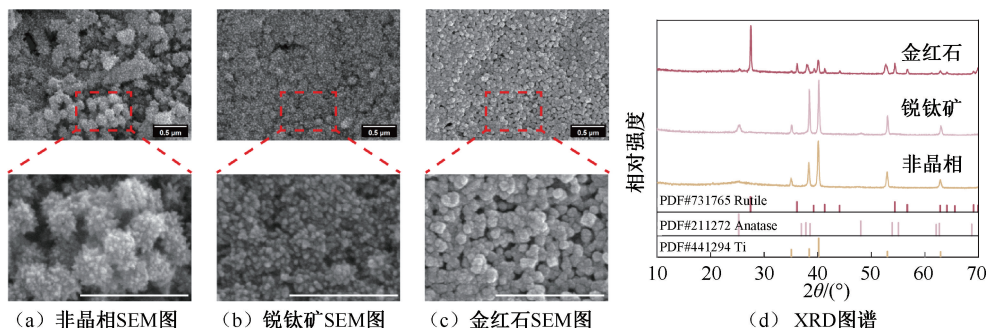
图 1 不同晶相  $\text{TiO}_2$  纳米形貌表征图片

Fig. 1 Characterization images of  $\text{TiO}_2$  nanomorphologies with different crystalline phases (a) SEM images of the amorphous phase, (b) SEM images of the anatase, (c) SEM image of the rutile, (d) XRD pattern of different crystalline phases

注:比例尺=0.5  $\mu$ m。

### 2.2 DCs 的培养与鉴定

根据已报道的小鼠骨髓来源 DCs 的体外分离培养方法<sup>[15]</sup>,通过体外分离 DCs 的前体细胞,经诱导培养和磁珠分选后得到 imDCs,经 LPS 诱导 24 h 得到 mDCs。流式细胞术鉴定结果表明,imDCs 的 CD11c 阳性率达 75.7%,经过 LPS 诱导后,imDCs

的 CD80、CD86、CD40 和 MHC-II 表达均上调,表明成功获得了 imDCs 和 mDCs(见图 2)。

### 2.3 不同晶相 $\text{TiO}_2$ 纳米形貌上 DCs 的细胞骨架和细胞形态

细胞骨架 F-actin 染色结果显示,正常悬浮培养的 imDCs 形态多呈圆形,凸起较少,而不同晶相

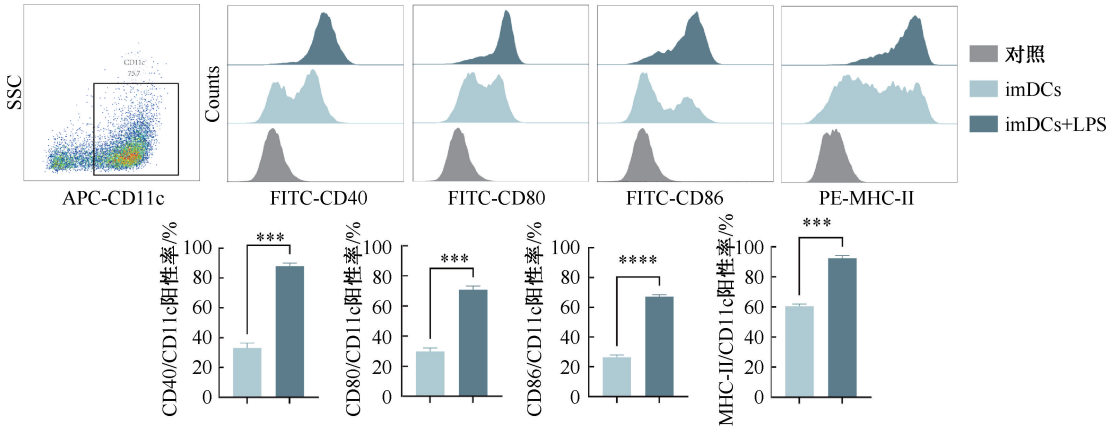


图2 DCs流式鉴定结果

Fig.2 Flow cytometry identification of DCs

注:  $n=3$ ; \*\*\* $P<0.001$ , \*\*\*\* $P<0.0001$ 。

TiO<sub>2</sub> 纳米形貌上培养的 imDCs 细胞骨架发生明显重塑, 细胞出现向两级拉长的形态。此外, 钛片组上 imDCs 铺展面积均有增大趋势, 锐钛矿组的铺展面积最小。通过 Image J 软件统计不同晶相上培养的 imDCs 的圆度、圆润度和长径比。非晶相组 imDCs 圆度和圆润度较为分散, 在 0.2~1 之间不

等, 锐钛矿组 imDCs 圆度和圆润度与正常悬浮培养的 imDCs 相似, 金红石晶组的 imDCs 圆度和圆润度基本接近 1, 表明细胞更圆<sup>[16]</sup>。非晶相组 imDCs 细胞拉长最明显, 其长径比较锐钛矿和金红石组的 imDCs 增加。结果表明, 不同晶相 TiO<sub>2</sub> 纳米形貌会改变 imDCs 的形态(见图 3)。

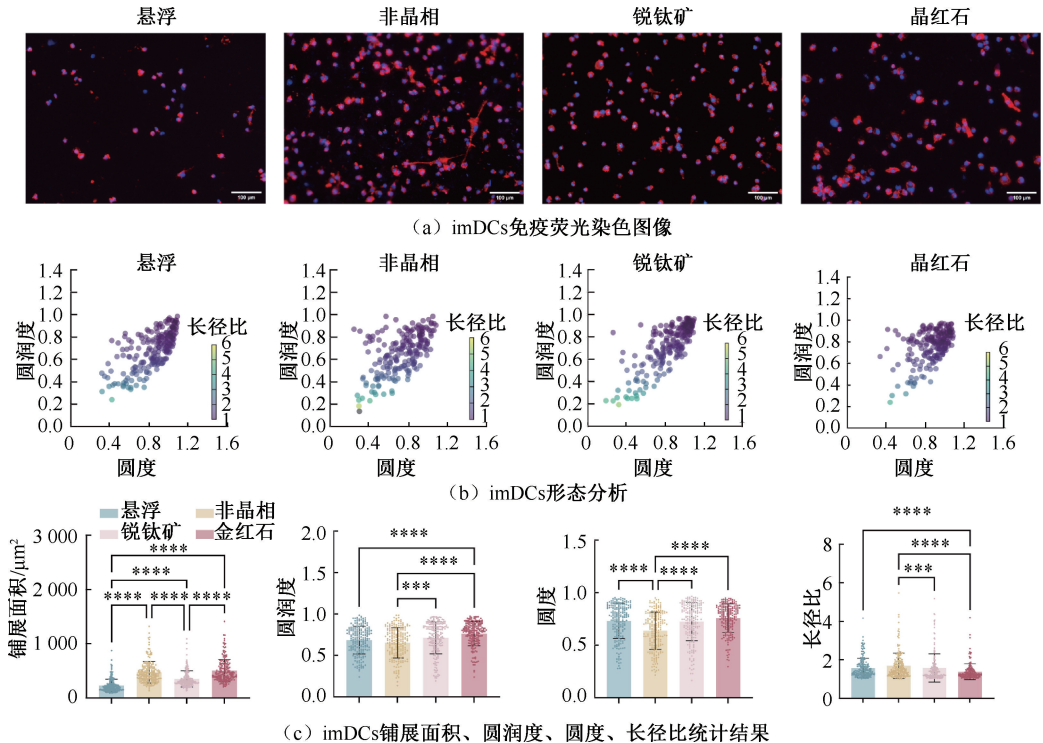


图3 imDCs 细胞骨架和形态

Fig.3 Cytoskeletal and morphology of imDCs (a) Immunofluorescence staining images of imDCs, (b) Morphological analysis of imDCs, (c) Statistical results for spreading area, roundness, circularity, aspect ratio of imDCs

注: 图 3(a) 中蓝色代表细胞核, 红色代表 F-肌动蛋白; 比例尺 = 100  $\mu\text{m}$ ;  $n=200$ ; \*\*\* $P<0.001$ , \*\*\*\* $P<0.0001$ 。

## 2.4 钛表面不同晶相 TiO<sub>2</sub> 纳米形貌对 imDCs 黏附的影响

通过计算不同晶相 TiO<sub>2</sub> 纳米形貌上细胞核数量,发现与金红石组相比,非晶相和锐钛矿组的 imDCs 黏附数量增加[见图 4(a)、(b)]. 实时荧光

定量 PCR 检测结果显示,不同晶相上培养的 imDCs 黏附分子 CD11a、integrin  $\beta$ 2、ICAM1 和 VCAM1 的表达较正常悬浮培养组均有不同程度上调,且锐钛矿组上 imDCs 的黏附分子表达量最高,与黏附数量统计的结果一致[见图 4(c)].

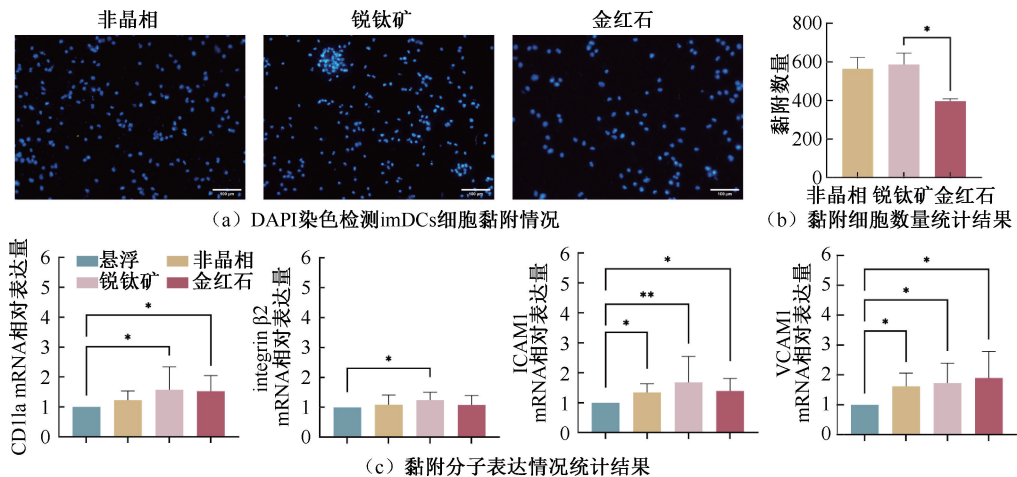


图4 imDCs 黏附能力

**Fig. 4 Adhesion ability of imDCs** (a) Detection of cell adhesion of imDCs by DAPI staining, (b) Statistical results of the number of adherent cells, (c) Statistical results of the relative expression of adhesion molecules

注:比例尺 = 100  $\mu$ m;  $n_{黏附数量} = 5, n_{CD11a} = 9, n_{integrin \beta 2} = 13, n_{ICAM1} = 9, n_{VCAM1} = 9; *P < 0.05, **P < 0.01$ .

## 2.5 钛表面不同晶相 TiO<sub>2</sub> 纳米形貌对 imDCs 迁移的影响

用活细胞成像系统实时观测不同组 imDCs 的自由迁移情况,统计细胞的平均迁移速度、累积迁移距离及欧氏迁移距离,以此来判断不同处理组 imDCs 的迁移运动能力<sup>[17]</sup>。结果显示,锐钛矿组的 imDCs 迁移速度比悬浮培养 imDCs 和金红石组快,且迁移距离和欧氏迁移距离也比其他两组长(见图 5)。

## 2.6 钛表面不同晶相 TiO<sub>2</sub> 纳米形貌对 imDCs 的细胞膜流动性的影响

荧光漂白恢复 (fluorescence recovery after photobleaching, FRAP) 技术检测 imDCs 细胞膜的流动性,用荧光分光光度计检测荧光偏振度,荧光偏振度与膜流动性成反比。不同晶相纳米形貌上培养的 imDCs 表现出不同的细胞膜流动性,非晶相和锐钛矿上培养 imDCs 的荧光偏振度呈现上升趋势,而金红石组培养的 imDCs 的荧光偏振度下降,膜流动性增加(见图 6)。

## 3 讨论

由于植入后常引起不良炎症反应,使得钛的植入仍面临失败风险<sup>[18]</sup>。DCs 作为连接先天性免疫应答和适应性免疫应答的桥梁,在钛植入后激发机体宿主反应中发挥着重要的作用。已有研究报道通过改变钛表面理化性质调控 DCs 功能从而减轻植入后不良炎症反应<sup>[7-9]</sup>。钛表面极易形成 TiO<sub>2</sub> 氧化层,且 TiO<sub>2</sub> 可形成不同的晶相<sup>[19]</sup>,具有不同的理化性质<sup>[20]</sup>。DCs 是否对不同晶相的 TiO<sub>2</sub> 纳米形貌产生力学生物学响应进而调控其免疫学功能还鲜有报道。

从力学免疫学的角度来看,免疫细胞的生物力学特性与其免疫学功能密切相关<sup>[21]</sup>。本课题组之前的研究结果发现,肿瘤微环境来源的抑制性细胞因子或胞外力学微环境的改变,均可使 DCs 的细胞骨架重塑,并改变其免疫功能<sup>[6,22]</sup>。

细胞的力学性能主要由细胞骨架决定,细胞骨架连接了细胞膜上的力敏感蛋白和细胞核,是细胞

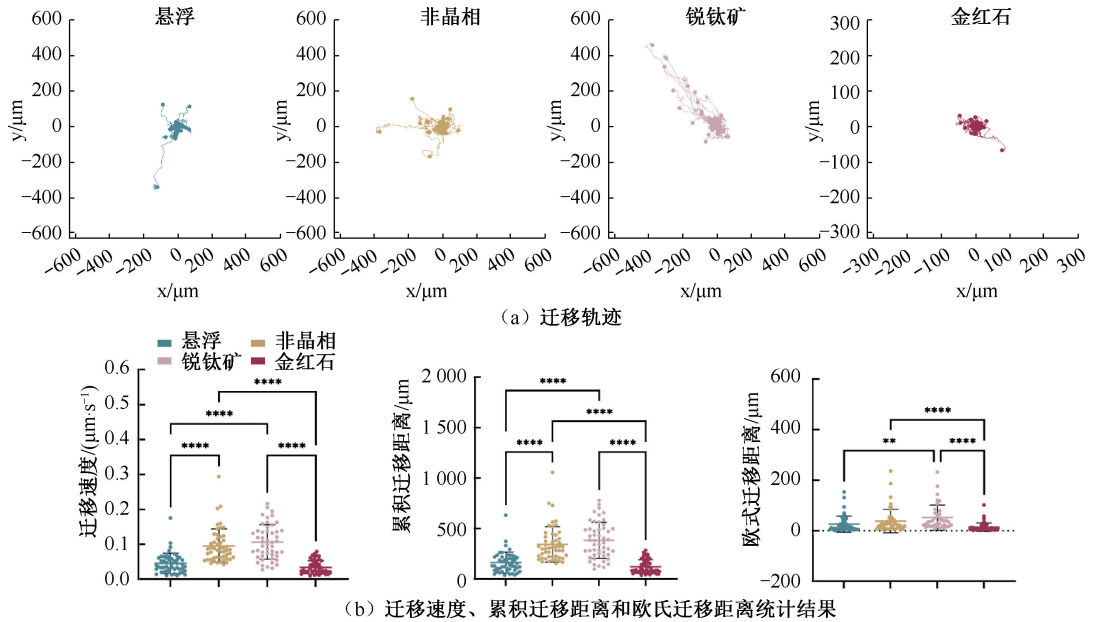


图5 imDCs 迁移能力

Fig. 5 Migration ability of imDCs (a) Migration tracks, (b) Statistical results of migration velocity, cumulative migration distance and Euclidean migration distance

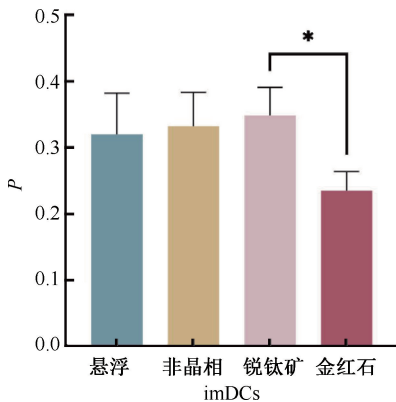
注:  $n=50$ ; \*\* $P < 0.01$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$ .

图6 imDCs 荧光偏振度

Fig. 6 Fluorescence polarization degree of imDCs

注:  $n=4$ ; \* $P < 0.05$ .

产生和传导力的主要结构<sup>[23]</sup>。本文结果表明,不同晶相纳米形貌上的 imDCs 细胞骨架 F-actin 发生了明显重塑,细胞铺展面积增大,但锐钛矿组 imDCs 的铺展面积相对其他两组较小。研究表明,生物材料植入后,浸润的细胞通过整合素等各种表面传感器感知和响应细胞外基质,随后发生细胞骨架重塑、黏着斑形成以及细胞形态、迁移和功能的变化<sup>[24]</sup>。本文推测,imDCs 细胞骨架的重塑可能是通

过整合素感知并激活细胞内信号转导相关通路,进而影响 imDCs 的免疫功能。

本文进一步检测了不同晶相纳米形貌上 imDCs 的黏附和包含 integrin 在内的黏附分子的表达情况。结果发现锐钛矿组的 imDCs 黏附数量较多,且锐钛矿组上 imDCs 的黏附分子 CD11a、integrin  $\beta 2$ 、ICAM1、VCAM1 表达量较高,证明不同晶相纳米形貌上 imDCs 骨架重塑与细胞的黏附和黏附分子 integrin 等表达相关。此外,研究表明,integrin  $\beta 2$  介导的黏附决定了材料表面 DCs 的成熟状态,DCs 在生物材料表面的黏附越少,DCs 的成熟程度越低,进而降低宿主免疫反应<sup>[4,25]</sup>。锐钛矿组的 imDCs 黏附数量多且黏附分子的表达量高,说明锐钛矿上的 imDCs 可能会被激活为 mDCs,不利于钛植入的预后。

迁移能力是免疫细胞发挥功能的基础,DCs 的迁移在启动免疫反应和诱导耐受性方面起着至关重要的作用<sup>[26]</sup>。已有研究表明,DCs 迁移能力与其吞噬抗原能力相关,且两者相互拮抗<sup>[27]</sup>。本文检测 imDCs 自由迁移能力的结果显示,锐钛矿组的细胞迁移运动能力比其他组强,推测其吞噬能力弱,表

明锐钛矿组 imDCs 可能趋于成熟<sup>[28]</sup>。

膜流动性是指生物膜中磷脂分子和膜蛋白等成分的流动能力,是生物膜的重要特性之一。研究表明,imDCs 的吞噬是一个涉及细胞变形和质膜扭曲的动态过程,膜流动性增强可能使得细胞的变形性更强,这可能会使内吞能力增强<sup>[29]</sup>。本文结果显示,金红石组 imDCs 的荧光偏振度显著下降,膜流动性增强,而锐钛矿组的膜流动性相对较弱。由此推测,锐钛矿组上 imDCs 的吞噬能力可能会弱于金红石组,这也与细胞迁移能力结果相一致。

## 4 结论

imDCs 在不同晶相纳米形貌的钛基底上呈现差异化化学表型。锐钛矿相上的 imDCs 细胞骨架发生重塑,显著提升其黏附能力和迁移能力,但降低膜流动性,这可能导致锐钛矿上的 imDCs 趋于成熟,从而不利于钛的植入。本研究仅对 imDCs 对钛表面不同晶相纳米形貌的力学生物学响应进行了研究,后续需深入探究不同晶相纳米形貌对 DCs 免疫功能的调控机制,为设计具有免疫调控功能的钛基生物材料提供更全面的理论依据。

**利益冲突声明:**无。

**作者贡献声明:**罗赵雅靖负责实验研究、数据分析和论文撰写;吴仪、陈红和陈晋参与实验设计和数据分析;胡祖权、曾柱和王赞负责实验指导和论文修改。

## 参考文献:

- [ 1 ] CAI ZY, DU P, LI K, *et al.* A review of the development of titanium-based and magnesium-based metallic glasses in the field of biomedical materials [J]. *Materials*, 2024, 17(18): 4587.
- [ 2 ] SUN XD, LIU TT, WANG QQ, *et al.* Surface modification and functionalities for titanium dental implants [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2023, 9(8): 4442-4461.
- [ 3 ] ABARICIA JO, FARZAD N, HEATH TJ, *et al.* Control of innate immune response by biomaterial surface topography, energy, and stiffness [J]. *Acta Biomater*, 2021(133): 58-73.
- [ 4 ] ESLAMI-KALIJI F, SARAFBIDABAD M, RAJADAS J, *et al.* Dendritic cells as targets for biomaterial-based immunomodulation [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2020, 6(5): 2726-2739.
- [ 5 ] 余鹏, 曾柱. 树突状细胞的生物力学与力学生物学研究进展 [J]. *医用生物力学*, 2023, 38(3): 451-457.
- [ 6 ] HU WH, WANG Y, CHEN J, *et al.* Regulation of biomaterial implantation-induced fibrin deposition to immunological functions of dendritic cells [J]. *Mater Today Bio*, 2022(14): 100224.
- [ 7 ] WANG WZ, HAN B, CHEN JN, *et al.* Tolerogenic dendritic cells suppress titanium particle-induced inflammation [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(1): 712.
- [ 8 ] 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.
- [ 9 ] YANG Y, LIN YJ, XU RG, *et al.* Micro/nanostructured topography on titanium orchestrates dendritic cell adhesion and activation via  $\beta 2$  integrin-FAK signals [J]. *Int J Nanomedicine*, 2022(17): 5117-5136.
- [ 10 ] ZHU YZ, LIANG H, LIU XM, *et al.* Regulation of macrophage polarization through surface topography design to facilitate implant-to-bone osteointegration [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(14): eabf6654.
- [ 11 ] LI X, XU K, HE Y, *et al.* ROS-responsive hydrogel coating modified titanium promotes vascularization and osteointegration of bone defects by orchestrating immunomodulation [J]. *Biomaterials*, 2022 ( 287 ): 121683.
- [ 12 ] 李艳冉. 二氧化钛纳米管的晶型对蛋白吸附和细胞响应影响的研究 [D]. 厦门: 厦门大学, 2019.
- [ 13 ] YU W, ZHANG Y, JIANG X, *et al.* *In vitro* behavior of MC3T3-E1 preosteoblast with different annealing temperature titania nanotubes [J]. *Oral Dis*, 2010, 16(7): 624-630.
- [ 14 ] HE J, ZHOU W, ZHOU XJ, *et al.* The anatase phase of nanotopography titania plays an important role on osteoblast cell morphology and proliferation [J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2008, 19(11): 3465-3472.
- [ 15 ] LIU XM, YU P, XU YJ, *et al.* Metformin induces tolerogenicity of dendritic cells by promoting metabolic reprogramming [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2023, 80(10): 283.
- [ 16 ] CHEN Y, ZHAI MJ, MEHWISH N, *et al.* Comparison of globular albumin methacryloyl and random-coil gelatin methacryloyl: Preparation, hydrogel properties, cell behaviors, and mineralization [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022(204): 692-708.
- [ 17 ] 许瑜韵, 刘洋, 安宸毅, 等. 树突状细胞迁移行为为刚度感知关键分子研究 [J]. *医用生物力学*, 2024, 39(6): 1189-

- 1196.
- XU YJ, LIU Y, AN CY, *et al.* Key molecules for stiffness sensing of dendritic cell migration behavior [J]. *J Med Biomech*, 2024, 39(6): 1189-1196.
- [18] HAN HJ, KIM S, HAN DH. Multifactorial evaluation of implant failure: A 19-year retrospective study [J]. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2014, 29(2): 303-310.
- [19] HIROI Z. Inorganic structural chemistry of titanium dioxide polymorphs [J]. *Inorg Chem*, 2022, 61(22): 8393-8401.
- [20] HUANG HH, CHEN ZH, NGUYEN DT, *et al.* Blood coagulation on titanium dioxide films with various crystal structures on titanium implant surfaces [J]. *Cells*, 2022, 11(17): 2623.
- [21] HU WH, WU CF, LONG JH, *et al.* Mechano-immunological checkpoints: An emerging strategy for investigation and evaluation of disease and therapeutics [J]. *Smart Mater Med*, 2024, 5(2): 256-260.
- [22] HU ZQ, XUE H, LONG JH, *et al.* Biophysical properties and motility of human mature dendritic cells deteriorated by vascular endothelial growth factor through cytoskeleton remodeling [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(11): 1756.
- [23] 朱鸿源, 王璘, 苗润, 等. 细胞力学 2023 年度研究进展 [J]. *医用生物力学*, 2024, 39(5): 787-795.
- ZHU HY, WANG J, MIAO R, *et al.* Research progress of cellular mechanics in 2023 [J]. *J Med Biomech*, 2024, 39(5): 787-795.
- [24] ASADI TOKMEDASH M, KIM C, CHAVDA AP, *et al.* Engineering multifunctional surface topography to regulate multiple biological responses [J]. *Biomaterials*, 2025(319): 123136.
- [25] ROGERS TH, BABENSEE JE. The role of integrins in the recognition and response of dendritic cells to biomaterials [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(5): 1270-1279.
- [26] HAMPTON HR, CHTANOVA T. Lymphatic migration of immune cells [J]. *Front Immunol*, 2019(10): 1168.
- [27] CHABAUD M, HEUZÉ ML, BRETOU M, *et al.* Cell migration and antigen capture are antagonistic processes coupled by myosin II in dendritic cells [J]. *Nat Commun*, 2015, 6(1): 7526.
- [28] KIM MK, KIM J. Properties of immature and mature dendritic cells: Phenotype, morphology, phagocytosis, and migration [J]. *RSC Advances*, 2019, 9(20): 11230-11238.
- [29] MASTERS TA, PONTES B, VIASNOFF V, *et al.* Plasma membrane tension orchestrates membrane trafficking, cytoskeletal remodeling, and biochemical signaling during phagocytosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(29): 11875-11880.