

## · 基础研究 ·

## 纳米纱/多孔纳米纤维支架的生物相容性

贺云飞<sup>1,2△</sup>, 王爽<sup>1△</sup>, 马俊<sup>1</sup>, 余将明<sup>1</sup>, 席炎海<sup>1</sup>, 叶晓健<sup>1\*</sup>

1. 海军军医大学附属长征医院骨科, 上海 200003

2. 解放军联勤保障部队 940 医院骨科, 兰州 730070

**【摘要】目的** 通过体内外实验评价纳米纱/多孔纳米纤维材料的生物相容性, 为构建仿生组织工程纤维环及进一步开展体内实验奠定基础。**方法** 通过静电纺丝技术制备取向纳米纤维支架(AFS)、取向纳米纱支架(AYS)、三维多孔纳米纤维支架(3DPS)。将大鼠骨髓间充质干细胞(BMSC)接种于3种支架, 静态培养, 观察细胞在支架上黏附、生长和增殖情况, 评价支架的体外生物相容性。将3种支架植入大鼠皮下, 在不同时间点取材, 通过HE染色、异物巨细胞的形态数目及炎症因子基因表达量评价支架的体内生物相容性。**结果** 体外实验表明 BMSC 在3种支架上均能黏附、增殖, 生长良好。体内实验表明大鼠皮下植入3种支架后早期(1~2周)均有轻度炎症反应, 4周后炎症细胞浸润减少, 异物巨细胞数量逐渐减少。炎症因子基因表达水平与炎症细胞浸润程度相符。**结论** AYS和3DPS具有良好的生物相容性, 可用于进一步体内实验研究。

**【关键词】** 椎间盘; 生物相容性材料; 纳米医学**【中图分类号】** R 318.1 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-2957(2019)03-0198-05**【DOI】** 10.3969/j.issn.1672-2957.2019.03.010**Biocompatibility of nano-yarn/porous nano-fibers scaffolds**HE Yun-fei<sup>1,2△</sup>, WANG Shuang<sup>1△</sup>, MA Jun<sup>1</sup>, YU Jiang-ming<sup>1</sup>, XI Yan-hai<sup>1</sup>, YE Xiao-jian<sup>1\*</sup>

1. Department of Orthopaedics, Changzheng Hospital, Navy Medical University, Shanghai 200003, China

2. Department of Orthopaedics, No. 940 Hospital of PLA Joint Logistic Support Force, Lanzhou 730070, Gansu, China

**【Abstract】Objective** To evaluate the biocompatibility of nano-yarn/porous nano-fibrous materials *in vitro* and *in vivo*, so as to lay the foundation for the fabrication of bionic annulus fibrosus and *in vivo* experiments in future. **Methods** Aligned nanofibrous scaffold(AFS), aligned nanoyarn scaffold(AYS) and three-dimensional porous nanofibrous scaffold(3DPS) were prepared by electrospinning technology. Bone marrow mesenchymal stem cells(BMSC) were seeded into the 3 scaffolds. After static culture, the adhesion, growth and proliferation of BMSCs in scaffold materials were observed, and the biocompatibility of the scaffolds *in vitro* was evaluated. The 3 scaffolds were implanted subcutaneously into rats and samples were taken at different time points. The biocompatibility of the 3 scaffolds *in vivo* was evaluated by HE staining, observing and counting foreign body giant cells and inflammatory cytokines gene expression. **Results** *In vitro* experiments showed that BMSCs can adhere, proliferate and grow well in the 3 scaffolds. *In vivo* experiments showed that the 3 scaffolds had mild inflammatory reaction at early stage(1-2 weeks). After 4 weeks, the infiltration of inflammatory cells decreased and the number of foreign body giant cells gradually decreased. The expression level of inflammatory cytokines was consistent with inflammatory cell infiltration. **Conclusion** The AYS and 3DPS have good biocompatibility, and can be used for further study.

**【Key Words】** Intervertebral disc; Biocompatible materials; Nanomedicine

J Spinal Surg, 2019, 17(3): 198-202

椎间盘退行性疾病可引起疼痛、神经损伤以及劳动力丧失, 给社会带来沉重的负担<sup>[1-2]</sup>。椎间盘退行性变可导致蛋白聚糖的丢失、细胞外基质结构的破坏、纤维环的撕裂、髓核的突出以及椎间隙高度

的丢失<sup>[3]</sup>。纤维环无血管及神经, 细胞的自我修复能力很差<sup>[4]</sup>, 一点小的撕裂或裂缝就可能逐渐发展, 引起髓核突出或者被椎间盘碎片取代形成瘢痕; 外科手术可以清除游离的纤维环碎片和髓核, 但是撕裂的纤维环得不到有效修复, 可能引起复发或出现继发病变<sup>[5-7]</sup>。因此, 有效修复纤维环具有重要的临床意义。

组织工程技术为纤维环修复提供了新思路, 如何根据纤维环复杂的结构和力学特点构建“仿生”

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81472071; 81772445)

△共同第一作者

作者简介: 贺云飞(1980—), 博士, 主治医师; heyunfei2009@126.com

王爽(1975—), 博士在读, 主治医师;

diggsawang@smmu.edu.cn

\*通信作者: 叶晓健 xjye2012@126.com

生物支架是研究的难点。纤维环所受应力复杂, 内部胶原纤维高度取向、交织排列, 具有明显各向异性的力学特点。为了模拟该特点, 本研究通过多层结合的方法, 采用静电纺丝技术制备了取向纳米纤维支架(AFS)、取向纳米纱支架(AYS)和三维多孔纳米纤维支架(3DPS), 并通过体内外实验评价3种支架的生物相容性, 为进一步的体内实验奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

DMEM细胞培养基(Hyclone公司, 美国)、胎牛血清(Gibco公司, 美国); CCK-8试剂盒(Dojindo研究所, 日本); 明胶、聚左旋乳酸(PLLA)和聚己内酯(PCL)由东华大学提供。倒置显微镜(Olympus公司, 日本); 扫描电子显微镜(SEM, 飞利浦公司, 荷兰); FL800酶标仪(Bio-Tek公司, 美国)。SD大鼠骨髓间充质干细胞(BMSC)由海军军医大学基础医学院解剖学教研室提供。6周龄雄性SD大鼠24只, 体质量约为200 g, 购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 实验动物生产许可证号为SCXK(沪)2018-0006。

### 1.2 支架制备

将PLLA/PCL和明胶按质量比8:2配制成完全透明的溶液, 加入注射器中, 注射器针头与直流电高压发生器相连(电压12 kV), 用微量注射泵控制溶液的推进速度(1.5 mL/h), 采用高速滚轴作为接收装置, 使用共轭静电纺丝技术制备AYS。将PLLA和明胶按质量比2:8配制成溶液, 采用常规静电纺丝技术制作无规纳米纤维(电压12 kV, 流速2.5 mL/h), 通过改变接收装置, 制备AFS。将无规纳米纤维膜剪碎, 加入叔丁醇溶液, 匀浆打碎, 冷冻干燥后成形制成3DPS。将制备的3种支架喷金后采用SEM观察支架形态特征。

### 1.3 体外生物相容性评价

将3种支架采用<sup>60</sup>Co辐照消毒后置于24孔板中, 使用含10%胎牛血清的低糖DMEM培养基孵育过夜。采用CCK-8试剂盒检测支架中细胞黏附和增殖情况。将第3代BMSC按 $1 \times 10^5$ /孔接种至预置支架的24孔板中, 加入含10%胎牛血清的完全培养基, 置于37℃、5%CO<sub>2</sub>细胞培养箱中培养。分别于培养2、4、8、16 h后去除培养基, PBS轻柔清洗2遍, 加入含10%体积CCK-8试剂的无血清培养基继续孵育2 h, 随后从每孔培养液中吸取100 μL溶液加入96孔板中, 用酶标仪检测450 nm处的光密度(OD)值,

每个浓度梯度设置5个复孔取平均值, OD值即反映支架中黏附细胞数目。同法检测细胞在支架中培养1、3、7 d时的增殖情况。7 d后取出支架, 固定、脱水、喷金后用SEM观察细胞形态及生长情况。

### 1.4 体内生物相容性评价

将3种支架切割成直径约为8 mm的圆盘形, 消毒灭菌。SD大鼠麻醉后在背部椎旁1 cm对称做长约1 cm纵行切口, 钝性分离皮下组织形成“皮袋”, 每只大鼠制作3个“皮袋”, 将3种支架分别随机选择一个“皮袋”植入。术后大鼠生命体征平稳, 无死亡, 苏醒后活动自如, 常规饲养, 切口愈合良好, 无红肿、破溃, 1周后拆线。术后1、2、4、8、12、24周, 每个时间点随机选取3只大鼠, 取出支架进行检测。采用HE染色观察支架形态、炎性细胞长入情况、细胞密度和巨噬细胞融合情况; 提取RNA, 利用实时荧光定量聚合酶链式反应(FQ-PCR)检测白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、IL-10、转化生长因子-β(TGF-β)基因相对表达水平。

### 1.5 统计学处理

采用SPSS 17.0软件对数据进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用LSD-*t*检验; 计数资料以例数和百分数(%)表示, 组间比较采用 $\chi^2$ 检验; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

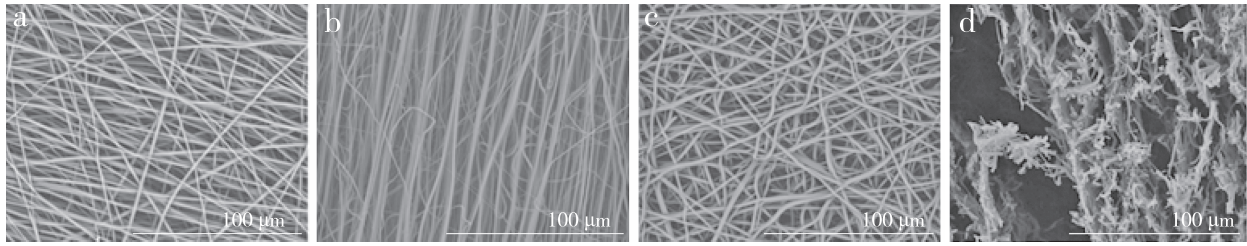
### 2.1 支架的形态学观察

AFS具有较好的取向性, 纤维直径均匀, 孔隙较为致密(图1a); AYS同样具有良好的取向性, 由高度有序排列的纳米纱纤维和少部分散在的纳米纤维构成, 纤维之间相互连接, 其纤维排列取向性较AFS更佳, 具有更高的孔隙率(图1b); 3DPS排列杂乱无章, 但较AFS和AYS具有更高的孔径及孔隙率(图1c, d)。

### 2.2 体外生物相容性

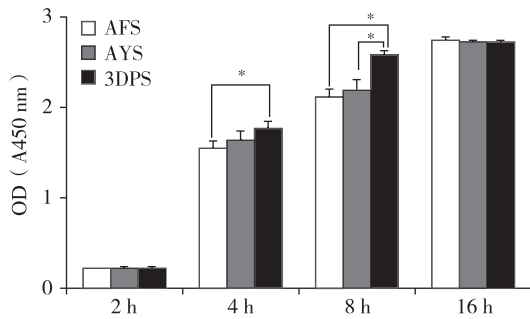
#### 2.2.1 细胞黏附

BMSC和支架共培养2、4、8、16 h后, 3种支架细胞黏附量随时间延长增加。4 h时AFS与AYS、AYS与3DPS的细胞黏附量差异无统计学意义( $P > 0.05$ , 图2)。3DPS的细胞黏附量高于AFS且差异具有统计学意义( $P < 0.05$ , 图2)。8 h时3DPS的细胞黏附量高于AFS和AYS, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 图2)。16 h时3种支架的细胞黏附量差异均无统计学意义( $P > 0.05$ , 图2)。



a: AFS b: AYS c, d: 3DPS

图1 支架材料的结构( SEM )  
Fig.1 Structures of scaffold materials( SEM )



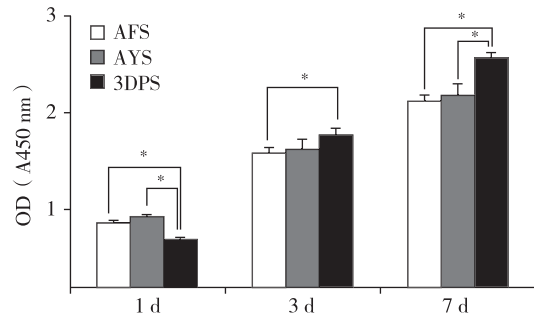
注: \*  $P < 0.05$   
Note: \*  $P < 0.05$

图2 细胞黏附情况  
Fig.2 Cell adhesion

### 2.2.2 细胞增殖

BMSC和支架共培养1、3、7 d后, 3种支架细胞增殖量随时间延长而增加。1 d时AFS的细胞增殖量与AYS差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 而3DPS的细胞增殖量低于AFS和AYS且差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 图3)。3 d时AFS的细胞增殖量与AYS差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 而3DPS的细胞增殖量高于AFS且差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 图3), 3DPS的细胞增殖量与AYS差异无统计学意义( $P >$

0.05)。7 d时AFS的细胞增殖量与AYS差异仍无统计学意义( $P > 0.05$ ), 而3DPS的细胞增殖量高于AFS和AYS且差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 图3)。

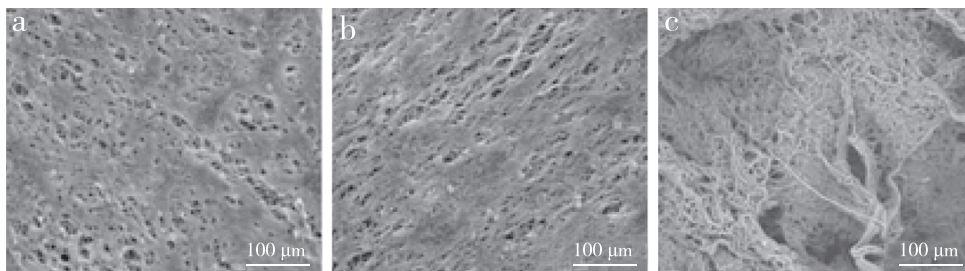


注: \*  $P < 0.05$   
Note: \*  $P < 0.05$

图3 细胞增殖情况  
Fig.3 Cell growth

### 2.2.3 细胞形态

BMSC和支架共培养7 d后, SEM观察可见BMSC在3种支架表面贴附牢固, 生长状态良好。在AFS和AYS上细胞随纤维方向生长呈现长梭形, 伸展充分(图4a, b); 在3DPS上细胞多呈圆形, 还可观察到细胞向支架材料内部长入(图4c)。



a: AFS b: AYS c: 3DPS

图4 细胞形态( SEM )  
Fig.4 Cell morphology( SEM )

## 2.3 体内生物相容性

### 2.3.1 HE染色

支架植入大鼠皮下1周时, AFS表层炎性细胞

多, AYS有部分炎性细胞浸润, 3DPS炎性细胞浸润较为均匀; 2周后3种支架均有炎性细胞浸润, 细胞数量显著增多, 达到高峰; 4周时3种支架上炎

性细胞聚集成簇; 8周、12周时3种支架材料上炎性细胞数量均减少, 部分材料吸收; 24周时可见散在的炎细胞浸润, 材料稀疏(图5)。

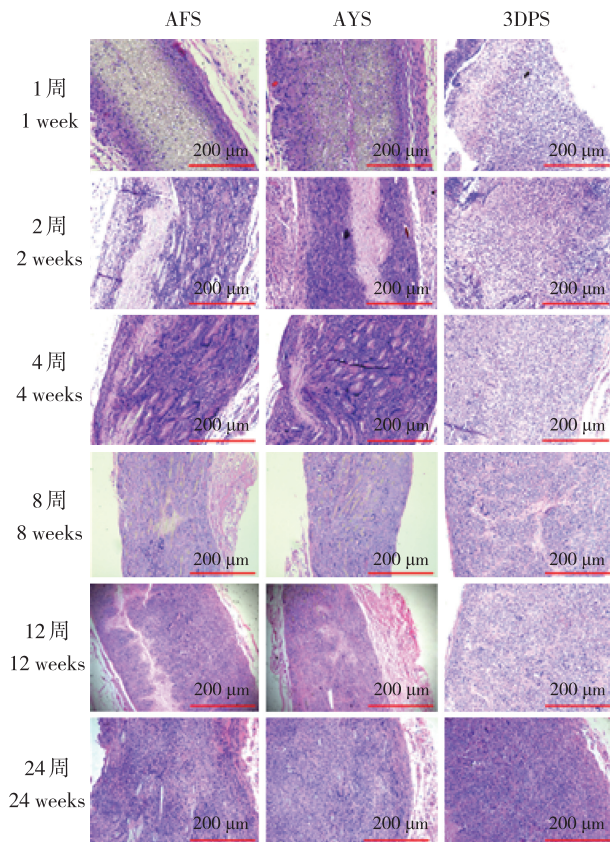


图5 支架植入大鼠体内后的炎性反应( HE 染色 )  
Fig. 5 Inflammatory response of scaffolds *in vivo* ( HE staining )

2.3.2 多核巨细胞形态及数目

支架植入大鼠皮下1周时, AFS、AYS表层炎性细胞多, 有零星异物巨噬细胞, 3DPS以炎性细胞浸润为主, 罕见异物巨细胞; 2周、4周时3种支架上均可见异物巨细胞, 且AFS、AYS上异物巨细胞显著增多, 巨噬细胞聚集、融合成簇, 达到高峰, 3DPS上异物细胞相对较少; 8周时3种支架上炎性

细胞和异物巨细胞数量均减少(图6)。

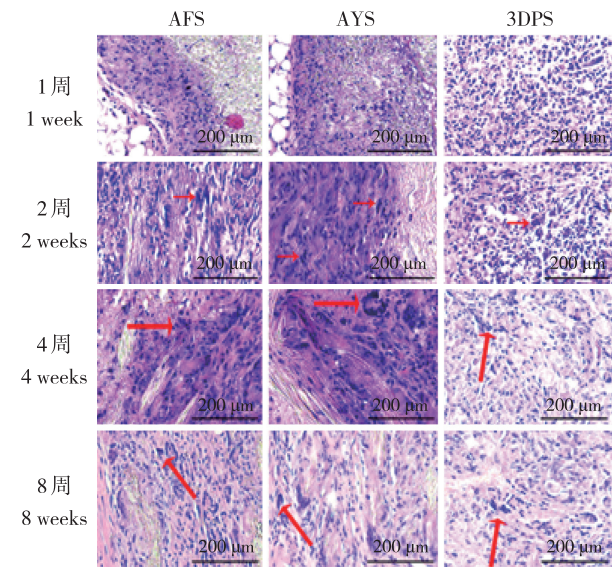
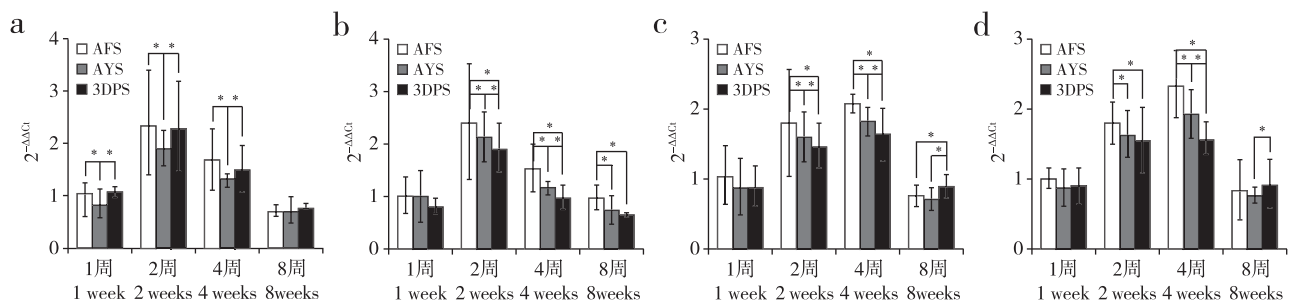


图6 支架植入大鼠体内后的异物巨细胞形态( HE 染色 )  
Fig. 6 Foreign body giant cells morphology of scaffolds *in vivo* ( HE staining )

2.3.3 炎性因子基因表达

支架植入大鼠皮下1周时, 3种支架中IL-6、TNF-α、IL-10、TGF-β基因总体表达量均不高, AFS、3DPS中IL-6基因表达量较AYS高, 差异具有统计学意义(P<0.05, 图7a)。2周时3种支架中IL-6、TNF-α、IL-10、TGF-β基因表达量均升高, AFS与3DPS的IL-6基因表达量均较AYS高, 差异具有统计学意义(P<0.05, 图7a); TNF-α、IL-10、TGF-β基因表达量总体呈AFS>AYS>3DPS(图7b~d)。4周时3种支架中IL-6、TNF-α基因表达量明显回落; IL-10、TGF-β基因表达量持续升高达峰值, 总体趋势仍呈AFS>AYS>3DPS 3种支架周表达量差异均有统计学意义(P<0.05, 图7c, d)。8周时IL-6、TNF-α、IL-10、TGF-β基因表达量均明显回落(图7)。



a: IL-6 b: TNF-α c: IL-10 d: TGF-β \*P<0.05

图7 炎性因子基因表达

Fig. 7 Gene expression of inflammatory factors

### 3 讨 论

一种合适的纤维环组织工程支架首先需具有良好的生物相容性, 将细胞与支架共培养后观察细胞在支架上的黏附、增殖及生长状态是评估支架体外生物相容性的常用方法。本研究结果显示, 细胞在3种支架上均良好黏附、增殖, 其中在3DPS上细胞黏附率(4、8、16 h)和增殖率(3、7 d)均高于AFS和AYS。SEM观察发现, BMSC在3种支架表面黏附牢固, 生长状态良好, 且在3DPS上还可观察到细胞向支架内部长入的现象。

支架的生物相容性是支架植入后宿主生理环境和一系列复杂生物、免疫反应的综合结果<sup>[8]</sup>, 因此, 单纯的体外评价并不能准确评估支架的生物相容性, 还需要应用动物体内实验来全面评估<sup>[9-10]</sup>。支架植入体内后首先被巨噬细胞识别, 并黏附于支架表面与其发生相互作用, 发生无菌性炎症反应, 巨噬细胞与支架逐渐相互融合形成异物巨细胞, 因此, 巨噬细胞和异物巨细胞是判断支架生物相容性的重要因素<sup>[11]</sup>。本研究组织学检测结果表明, 3种支架植入大鼠皮下均产生了一定程度的炎症反应, 但无皮肤破溃、坏死等明显排斥反应。

本研究还观察了3种支架植入大鼠皮下后炎症因子的表达变化。有研究表明, IL-6、TNF- $\alpha$ 通过细胞激活和趋化促进巨噬细胞浸润而促进炎症反应, 而IL-10、TGF- $\beta$ 则被认为是抗炎因子<sup>[12-16]</sup>。细胞因子在支架植入早期(通常在第1周)即产生并激活, 而且是判断针对异物纤维修复预后的重要预测因素<sup>[17-19]</sup>。起初血清蛋白、中性粒细胞、单核细胞聚集包裹在支架周边, 并激活大量的巨噬细胞黏附于支架上, 巨噬细胞分泌特有的细胞因子与支架结合, 并成为促炎或抗炎因子的主要来源<sup>[20-21]</sup>。通常认为IL-6、TNF- $\alpha$ 于急性炎症反应早期出现, 在常规伤口愈合过程中, IL-6在伤后1 d开始升高, 3 d达到高峰, 10 d后回归正常<sup>[22]</sup>。本研究发现支架植入大鼠皮下后, 这种炎症反应的发生明显推迟, IL-6、TNF- $\alpha$ 呈缓慢升高趋势, 2周达到高峰, 4周后逐渐回落, 8周后趋于正常; 而IL-10、TGF- $\beta$ 持续升高。炎症因子的表达与组织学检测结果吻合, 证实3种支架均可引起轻度慢性炎症反应。

综上, BMSC在AYS和3DPS上增殖、分化良好, 且可长入3DPS内部; 支架周围组织炎症反应小, 提示AYS和3DPS生物相容性良好, 为进一步采用AYS仿生外层纤维环、3DPS仿生内层纤维环, 两层胶联

制成复合支架构建仿生组织工程纤维环奠定基础。

### 参 考 文 献

- [1] Murray CJ, Atkinson C, Bhalla K, et al. The state of US health, 1990-2010: burden of diseases, injuries, and risk factors[J]. JAMA, 2013, 310(6): 591-608.
- [2] Murray CJ, Lopez AD. Measuring the global burden of disease[J]. N Engl J Med, 2013, 369(5): 448-457.
- [3] Boos N, Weissbach S, Rohrbach H, et al. Classification of age-related changes in lumbar intervertebral discs: 2002 Volvo Award in basic science[J]. Spine(Phila Pa 1976), 2002, 27(23): 2631-2644.
- [4] Roberts S, Urban JP, Evans H, et al. Transport properties of the human cartilage endplate in relation to its composition and calcification[J]. Spine(Phila Pa 1976), 1996, 21(4): 415-420.
- [5] Guterl CC, See EY, Blanquer SB, et al. Challenges and strategies in the repair of ruptured annulus fibrosus[J]. Eur Cell Mater, 2013, 25: 1-21.
- [6] Carragee EJ, Spinnickie AO, Alamin TF, et al. A prospective controlled study of limited versus subtotal posterior discectomy: short-term outcomes in patients with herniated lumbar intervertebral discs and large posterior annular defect[J]. Spine(Phila Pa 1976), 2006, 31(6): 653-657.
- [7] McGirt MJ, Eustacchio S, Varga P, et al. A prospective cohort study of close interval computed tomography and magnetic resonance imaging after primary lumbar discectomy: factors associated with recurrent disc herniation and disc height loss[J]. Spine(Phila Pa 1976), 2009, 34(19): 2044-2051.
- [8] Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility[J]. Biomaterials, 2008, 29(20): 2941-2953.
- [9] Kawahara H. Cellular responses to implant materials: biological, physical and chemical factors[J]. Int Dent J, 1983, 33(4): 350-375.
- [10] Pearce AI, Richards RG, Milz S, et al. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review[J]. Eur Cell Mater, 2007, 13: 1-10.
- [11] Ji W, Yang F, Seyednejad H, et al. Biocompatibility and degradation characteristics of PLGA-based electrospun nanofibrous scaffolds with nanoapatite incorporation[J]. Biomaterials, 2012, 33(28): 6604-6614.
- [12] Putra A, Ridwan FB, Putridewi AI, et al. The role of TNF- $\alpha$  induced MSCs on suppressive inflammation by increasing TGF- $\beta$  and IL-10[J]. Open Access Maced J Med Sci, 2018, 6(10): 1779-1783.

(下转第206页)

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Kerr D, Zhao W, Lurie JD. What are long-term predictors of outcomes for lumbar disc herniation? A randomized and observational study[J]. Clin Orthop Relat Res, 2015, 473(6): 1920-1930.
- [ 2 ] Frymoyer JW. Lumbar disk disease: epidemiology[J]. Instr Course Lect, 1992, 41: 217-223.
- [ 3 ] 江龙, 朱泽章, 邱勇, 等.青少年腰椎间盘突出症患者脊柱-骨盆矢状面形态的影像学研究[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2013, 23(2): 140-144.
- [ 4 ] Barrey C, Jund J, Nosedá O, et al. Sagittal balance of the pelvis-spine complex and lumbar degenerative diseases. A comparative study about 85 cases[J]. Eur Spine J, 2007, 16(9): 1459-1467.
- [ 5 ] Coşkun Benlidayı İ, Başaran S, Seydaoğlu G. Lumbosacral morphology in lumbar disc herniation: a “chicken and egg” issue[J]. Acta Orthop Traumatol Turc, 2016, 50(3): 346-350.
- [ 6 ] Endo K, Suzuki H, Tanaka H, et al. Sagittal spinal alignment in patients with lumbar disc herniation[J]. Eur Spine J, 2010, 19(3): 435-438.
- [ 7 ] Rajnics P, Templier A, Skalli W, et al. The importance of spinopelvic parameters in patients with lumbar disc lesions[J]. Int Orthop, 2002, 26(2): 104-108.
- [ 8 ] Zhu Z, Zhao Q, Wang B, et al. Scoliotic posture as the initial symptom in adolescents with lumbar disc herniation: its curve pattern and natural history after lumbar discectomy[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2011, 12: 216.
- [ 9 ] Ergün T, Lakadamyali H, Sahin MS. The relation between sagittal morphology of the lumbosacral spine and the degree of lumbar intervertebral disc degeneration[J]. Acta Orthop Traumatol Turc, 2010, 44(4): 293-299.
- [ 10 ] Youdas JW, Garrett TR, Egan KS, et al. Lumbar lordosis and pelvic inclination in adults with chronic low back pain[J]. Phys Ther, 2000, 80(3): 261-275.
- [ 11 ] Bierma-Zeinstra SM, van Gool JJ, Bernsen RM, et al. Measuring the sacral inclination angle in clinical practice: is there an alternative to radiographs?[J]. J Manipulative Physiol Ther, 2001, 24(8): 505-508.
- [ 12 ] 钱宇, 范顺武, 方向前, 等.下腰椎椎间孔形态与椎间盘高度丢失的相关性研究[J]. 中华骨科杂志, 2003, 23(9): 536-540.
- [ 13 ] Tibrewal SB, Percy MJ. Lumbar intervertebral disc heights in normal subjects and patients with disc herniation[J]. Spine (Phila Pa 1976), 1985, 10(5): 452-454.

(收稿日期: 2018-02-06)

(本文编辑: 于 倩)

(上接第202页)

- [ 13 ] Luttikhuisen DT, Harmsen MC, Van Luyn MJ. Cellular and molecular dynamics in the foreign body reaction[J]. Tissue Eng, 2006, 12(7): 1955-1970.
- [ 14 ] Wei H, Yin L, Feng S, et al. Dual-parallel inhibition of IL-10 and TGF- $\beta$ 1 controls LPS-induced inflammatory response via NF- $\kappa$ B signaling in grass carp monocytes/macrophages[J]. Fish Shellfish Immunol, 2015, 44(2): 445-452.
- [ 15 ] Hang L, Kumar S, Blum AM, et al. Heligmosomoides polygyrus bakeri infection decreases Smad7 expression in intestinal CD4+ T cells, which allows TGF- $\beta$  to induce IL-10-producing regulatory T cells that block colitis[J]. J Immunol, 2019, pii: ji1801392.
- [ 16 ] Molnarfi N, Bjarnadóttir K, Benkhoucha M, et al. Activation of human B cells negatively regulates TGF- $\beta$ 1 production[J]. J Neuroinflammation, 2017, 14(1): 13.
- [ 17 ] Rodriguez A, Meyerson H, Anderson JM. Quantitative *in vivo* cytokine analysis at synthetic biomaterial implant sites[J]. J Biomed Mater Res A, 2009, 89(1): 152-159.
- [ 18 ] Dipietro LA, Polverini PJ, Rahbe SM, et al. Modulation of JE/MCP-1 expression in dermal wound repair[J]. Am J Pathol, 1995, 146(4): 868-875.
- [ 19 ] Dipietro LA, Reintjes MG, Low QE, et al. Modulation of macrophage recruitment into wounds by monocyte chemoattractant protein-1[J]. Wound Repair Regen, 2001, 9(1): 28-33.
- [ 20 ] Gretzer C, Emanuelsson L, Liljensten E, et al. The inflammatory cell influx and cytokines changes during transition from acute inflammation to fibrous repair around implanted materials[J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2006, 17(6): 669-687.
- [ 21 ] Tang L, Hu W. Molecular determinants of biocompatibility[J]. Expert Rev Med Devices, 2005, 2(4): 493-500.
- [ 22 ] Brodbeck WG, Nakayama Y, Matsuda T, et al. Biomaterial surface chemistry dictates adherent monocyte/macrophage cytokine expression *in vitro*[J]. Cytokine, 2002, 18(6): 311-319.

(收稿日期: 2018-01-17)

(本文编辑: 于 倩)