

doi:10.3969/j.issn.1001-3539.2024.07.003

成骨生长肽改性聚醚醚酮表面及其体外成骨活性

杨茗园¹, 余萍萍², 李梦琦³, 张永恒³, 郑延延¹, 刘吕花¹

(1. 川北医学院药学院, 四川南充 637000; 2. 川北医学院临床医学系, 四川南充 637000; 3. 川北医学院口腔医学院, 四川南充 637000)

摘要: 为提高聚醚醚酮(PEEK)的成骨活性, 首先利用碱性条件下多巴胺(DA)发生氧化自聚合在其表面形成聚多巴胺(PDA)涂层, 其次通过 PDA 将具有成骨活性的成骨生长肽(OGP)化学键合在其表面。通过 X 射线光电子能谱(XPS)、扫描电子显微镜(SEM)和水接触角测试对改性前后的 PEEK 表面进行表征。同时, 使用成骨细胞 MC3T3-E1 评价表面未改性和改性 PEEK 的体外成骨细胞的相容性和成骨活性。XPS 结果表明, PEEK 表面成功形成 PDA 涂层, 并且通过 PDA 成功将 OGP 化学键合在 PEEK 表面。SEM 和水接触角测试结果表明, PDA 及 OGP 改性后 PEEK 表面形貌均未发生明显变化, 但表面亲水性逐渐增强。体外使用成骨细胞 MC3T3-E1 评价结果显示, 与未改性的 PEEK 相比, PDA 及 OGP 修饰的 PEEK 表面均改善了成骨细胞 MC3T3-E1 的黏附、铺展、增殖和成骨分化活性, 其中 OGP 改性的 PEEK 表面呈现出最佳的成骨细胞黏附、铺展、增殖和成骨分化活性。以上结果表明 PEEK 表面修饰 OGP, 可有效提高其成骨细胞相容性和成骨活性, 增强了其在骨科等临床领域应用的潜力。

关键词: 聚醚醚酮; 表面改性; 聚多巴胺; 成骨生长肽; 成骨活性

中图分类号: R318.08 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3539(2024)07-0014-08

Surface and in vitro osteogenic activity of osteogenic growth peptide-decorated polyetheretherketone

YANG Mingyuan¹, YU Pingping², LI Mengqi³, ZHANG Yongheng³, ZHENG Yanyan¹, LIU Lyuhua¹

(1. School of Pharmacy, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China;

2. Department of Clinical Medicine, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China;

3. School of Stomatology, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China)

Abstract : In order to improve the osteogenic activity of polyetheretherketone (PEEK), polydopamine (PDA) coating was first formed on its surface by oxidative self-polymerization of dopamine (DA) under alkaline conditions, and then osteogenic growth peptide (OGP) with osteogenic activity was chemically bonded to its surface by PDA. The surfaces of PEEK before and after modification were characterized by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), scanning electron microscopy (SEM) and water contact angle test. Meanwhile, MC3T3-E1 osteoblasts were used to evaluate the in vitro osteoblast compatibility and osteogenic activity of surface unmodified and modified PEEK. The XPS results show that PDA coating is successfully formed on PEEK surface, and OGP is chemically bonded to PEEK surface by PDA. The results of SEM and water contact angle test show that the surface morphology of PEEK after PDA and OGP modification do not change significantly, but the hydrophilicity of PEEK surface after PDA and OGP modification gradually increases. The evaluation results of osteoblasts MC3T3-E1 in vitro show that both PDA and OGP modified PEEK surfaces improve the adhesion, spreading, proliferation and osteogenic differentiation activity of osteoblasts MC3T3-E1 compared with unmodified PEEK. Among them, OGP modified PEEK surface shows the best of osteoblast adhesion, spreading, proliferation and osteogenic differentiation activity. The above results indicate that PEEK surface modified with OGP can effectively improve its osteoblast compatibility and osteogenic activity, and enhancing its potential in clinical fields such as orthopedics.

Keywords : polyetheretherketone ; surface modification ; polydopamine ; osteogenic growth peptide ; osteogenic activity

基金项目: 四川省科技厅项目(2022YFSY0043, 2022NSFSC1537), 南充市科技局项目(22SXCXTD0001), 四川省大学生创新创业项目(S202310634118)

通信作者: 刘吕花, 硕士, 高级实验师, 主要研究方向为骨科植入材料表面改性

收稿日期: 2024-04-11

引用格式: 杨茗园, 余萍萍, 李梦琦, 等. 成骨生长肽改性聚醚醚酮表面及其体外成骨活性[J]. 工程塑料应用, 2024, 52(7): 14-21.

YANG Mingyuan, YU Pingping, LI Mengqi, et al. Surface and in vitro osteogenic activity of osteogenic growth peptide-decorated polyetheretherketone[J]. Engineering Plastics Application, 2024, 52(7): 14-21.

聚醚醚酮(PEEK)是高性能聚合物聚芳醚酮家族中的一员,具有耐磨损、耐水解、耐疲劳、耐腐蚀等优异特性^[1]。特别是PEEK具有优良的生物相容性和与骨组织相近的弹性模量,使得PEEK作为医用植入材料的研究日益广泛。目前,PEEK植入物在临床上已被应用于骨缺损修复、口腔种植体、椎间融合器等方面^[2-5]。然而,PEEK植入物由于表面的疏水性和化学惰性使其缺乏成骨活性,植入体内后不能与其周围骨组织形成稳固的骨整合,限制了其临床应用潜力^[6]。因此,通过表面改性提高PEEK的成骨活性成为了研究热点。

研究者采用多种表面改性方法以提高PEEK的成骨活性。Kassick等^[7]开发了一种温和的共价表面改性方法,通过酸介导的加成反应将带有极性侧链的各种氧胺和胍亲核试剂添加到PEEK的二芳基酮基团上,以增强其成骨活性。刘吕花等^[8]和Zheng等^[9-12]首先将PEEK二芳基酮基团中的羰基还原为羟基,随后在羟基化预处理的PEEK表面形成硅烷化层,最后通过进一步修饰硅烷化层,将 $-NH_2$, $-COOH$, $-OH$ 和 $-PO_4H_2$ 等基团以及细胞黏附短肽甘氨酸-精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(GRGD)等成分引入到PEEK表面增强其成骨活性。

碱性条件下,多巴胺(DA)能发生氧化自聚合,并通过共价聚合和非共价自组装的方式形成聚多巴胺(PDA)。类似于贻贝足蛋白,PDA含有丰富的具有超强黏附力的儿茶酚基团,从而实现在各种类型材料表面的超强黏附^[13]。近年来,基于PDA的表面修饰因具有简单、有效、低成本等优点,成为一种很有潜力的增强骨组织工程生物材料性能的表面改性策略^[14-15]。PDA功能层不仅可以提高植入体表面的亲水性和生物相容性,改善成骨细胞在植入体表面的黏附、铺展、增殖与分化,而且可以通过席夫碱或迈克尔加成反应化学键合生物大分子,如含有巯基或氨基的多肽和蛋白质。笔者前期成功利用PDA将抗骨质疏松药物阿仑膦酸钠化学键合到PEEK表面获得双膦酸化PEEK表面,赋予PEEK表面一定的骨免疫调节能力,改善了其体外及体内的成骨活性^[16]。成骨生长肽(OGP)是从骨髓再生消融后的成骨重塑过程中的血液中分离出的一种具有14个氨基酸序列的蛋白多肽^[17]。研究结果表明,OGP在体外能促进成骨细胞的增殖与分化,在体内可增加骨形成和骨小梁密度,促进骨折愈合^[18]。因

而,笔者利用PEEK表面预先形成的PDA层将OGP化学键合在PEEK表面以增强其成骨活性。

1 实验部分

1.1 主要原材料

PEEK板材:Vitrex 450G,江苏君华特种工程塑料制品有限公司;

DA盐酸盐:上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

OGP:上海强耀生物科技有限公司;

α -MEM基础培养基、胎牛血清(FBS)、链霉素-青霉素和磷酸盐缓冲液(PBS):美国Hyclone公司;

三羟甲基氨基甲烷盐酸盐缓冲液(Tris-HCl)、细胞计数试剂盒(CCK-8)、Western及IP细胞裂解液、碱性磷酸酶(ALP)活性检测试剂盒和蛋白浓度测定试剂盒:上海碧云天生物技术有限公司;

TRIZOL试剂:美国Invitrogen公司;

反转录试剂盒、荧光定量聚合酶链式反应(PCR)试剂盒:日本TaKaRa公司。

1.2 主要设备及仪器

扫描电子显微镜(SEM):JSM-6300,日本Hitachi公司;

X射线光电子能谱(XPS)仪:XSAM800,英国Kratos有限公司;

静态水接触角测量仪:DSA100,德国Krüss公司;

酶标仪:Multiskan GO,美国Thermo Scientific公司;

荧光定量PCR(RT-qPCR)仪:CFX96,美国Bio-Rad公司。

1.3 样品表面表征

XPS测试:Al靶测试,以284.8 eV处的主C1s进行校正。

SEM表征:样品表面喷金后,用导电胶粘到样品台上,再进行形貌观察。

水接触角测试:水滴体积为3 μ L,室温条件下进行测试,每个样本测量3次。

1.4 PDA及OGP改性PEEK表面

PEEK片(直径15 mm,厚2 mm)首先用1 200, 2 000, 3 000目(0.83, 6.5, 10 μ m)砂纸依次打磨抛光,然后用乙醇、去离子水各超声清洗20 min,最后在干燥箱中干燥后备用。将DA溶于10 mM Tris-HCl缓冲液(pH=8.5)中配成2 mg/mL DA溶液。将PEEK片浸入DA溶液中37 $^{\circ}$ C避光反应24 h后取

出,去离子水超声清洗 20 min。干燥后获得 PDA 改性的 PEEK,标记为 PEEK-PDA。将 OGP 溶于 10 mM Tris-HCl 缓冲液 (pH=8.5) 中配成 100 μ g/mL OGP 溶液。将 PEEK-PDA 样品浸入 OGP 溶液中反应 6 h 后取出,去离子水洗 3 次,干燥后获得 OGP 改性的 PEEK,标记为 PEEK-PDA-OGP。

1.5 体外细胞相容性及成骨活性评价

细胞培养:成骨细胞 MC3T3-E1 (中国科学院细胞库/干细胞库)培养于添加体积分数 10% FBS 和 1% 链霉素-青霉素的 α -MEM 培养基中,在 37 $^{\circ}$ C, 5 % CO₂条件下孵育。

细胞增殖:所有样品的正反面均用紫外光灭菌后,置于 24 孔组织培养板中。然后以每孔 10 000 个的密度将细胞接种到样品表面。培养 1,3,5 d 后,根据 CCK-8 试剂盒说明书,用酶标仪测定 450 nm 处的光学密度值。

细胞形貌:以每孔 10 000 个的密度将细胞接种到样品表面,培养 4,24 h 后,用无菌 PBS 洗涤 3 次。每孔加入 1 mL 2.5% 戊二醛,在 4 $^{\circ}$ C 冰箱中固定 24 h。然后将样品浸泡在不同浓度的乙醇溶液中进行细胞脱水。最后将样品干燥并喷金。

ALP 活性测定:以每孔 30 000 个的密度将细胞接种到样品表面,培养 7,14 d 后,用无菌 PBS 洗涤细胞 3 次。每孔加入 400 μ L Western 及 IP 细胞裂解液裂解细胞,收集裂解液。然后分别按照 ALP 活性检测试剂盒和蛋白浓度检测试剂盒说明书,检测裂解液中的 ALP 活性和蛋白浓度。最后 ALP 活性以蛋白浓度进行归一化处理。

RT-qPCR 检测成骨相关基因表达:以每孔 30 000 个的密度将细胞接种到样品表面,培养 7,14 d 后,用无菌 PBS 洗涤细胞 3 次。然后采用 TRIZOL 试剂提取成骨细胞 MC3T3-E1 总 RNA。随后,按照逆转录试剂盒说明书将 RNA 逆转录成 cDNA。最后使用 RT-qPCR 仪器测试并量化相关成骨基因。成骨相关基因[Runt 相关转录因子 2 (RUNX-2)、I 型胶原蛋白(COL-I)和骨桥蛋白(OPN)]以 GAPDH 为管家基因进行定量测定,并进行归一化处理。表 1 为成骨相关基因引物序列。

1.6 统计学分析

数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差,使用 SPSS26.0 软件,采用单因素方差分析(ANOVA)进行多组间比较检验样品组之间有无显著性差异。 $P<0.05$ 视为有统计学差异。

表 1 成骨相关基因引物序列

Tab. 1 Primer sequences of osteogenesis-related genes	
Gene	Primer sequences
RUNX-2	F:5'-CCCAGCCACCTTTACCTACA-3'
	R:5'-TATGGAGTGTCTGCTGGTCTG-3'
OPN	F:5'-TCTGATGAGACCGTCACTGC-3'
	R:5'-AGGTCCTCATCTGTGGCATC-3'
COL-I	F:5'-GAGCGGAGAGTACTGGATCG-3'
	R:5'-GTTCTGGGCTGATGTACCAGT-3'
GAPDH	F:5'-ACCCAGAAGACTGTGGATGG-3
	R:5'-CACATTGGGGGTAGGAACAC-3'

2 结果与讨论

2.1 PDA 及 OGP 改性 PEEK 表面分析

图 1 为 PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 的表面 SEM 图。由图 1 可见,所有样品表面均平坦,明显可见砂纸打磨的痕迹,表面改性前后样品表面形貌并无显著变化,高倍镜下 PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 样品表面可见 DA 氧化自聚合沉积形成的纳米颗粒。

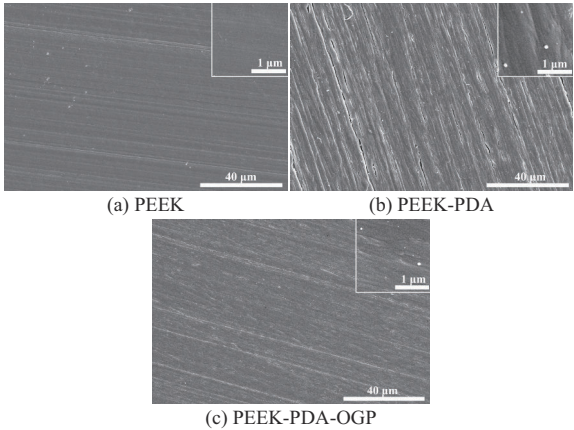


图 1 PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 试样表面的 SEM 照片
Fig. 1 SEM images of PEEK, PEEK-PDA and PEEK-PDA-OGP sample surfaces

PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 试样表面的 XPS 全谱图如图 2 所示。由图 2 可见,PEEK 样品表面仅呈现自身 C1s 和 O1s 的特征峰,证明 PEEK 表面无杂质污染。PEEK-PDA 表面出现了 PDA 的特征峰 N1s,说明 PEEK 表面成功形成 PDA 涂层。与 PEEK-PDA 相比,PEEK-PDA-OGP 表面的 N1s 峰信号强度增强,说明 OGP 成功引入到 PEEK 表面。不同试样表面各元素的相对含量 N1s/C1s 及 O1s/C1s 比率见表 2。由表 2 可以看出,PDA 或 OGP 修饰后,样品表面各元素相对含量及 O1s/C1s 和 N1s/C1s 比率均发生变化,说明 PEEK 表面化学环境发生变化,间接说明 PDA 和 OGP 成功修饰在 PEEK 表面。

图 3、图 4 和图 5 分别是 PEEK, PEEK-PDA 和

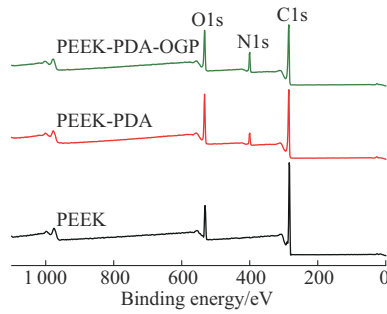
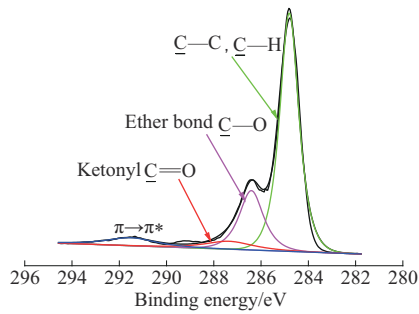


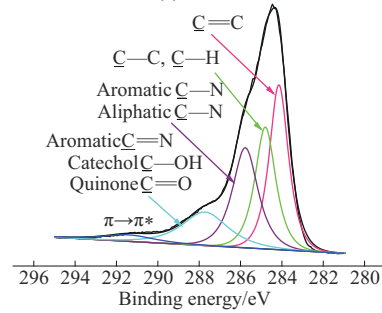
图2 PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 试样表面的 XPS 全谱图
Fig. 2 XPS wide-scan spectra of PEEK, PEEK-PDA and PEEK-PDA-OGP surface

表2 不同试样表面各元素相对含量及 O1s/C1s 和 N1s/C1s 比率
Tab. 2 Relative concentration of each element and ratio of O1s/C1s and N1s/C1s on surface of different samples

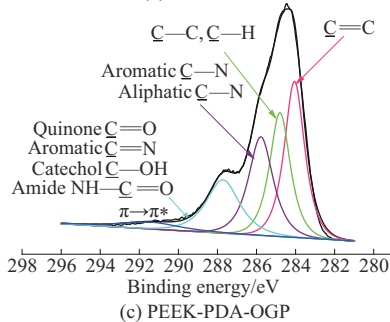
Sample	Relative concentration/%			O1s/C1s	N1s/C1s
	C1s	O1s	N1s		
PEEK	85.74	14.26	0	0.166	
PEEK-PDA	71.61	20.51	7.88	0.286	0.110
PEEK-PDA-OGP	68.82	18.73	12.45	0.272	0.181



(a) PEEK

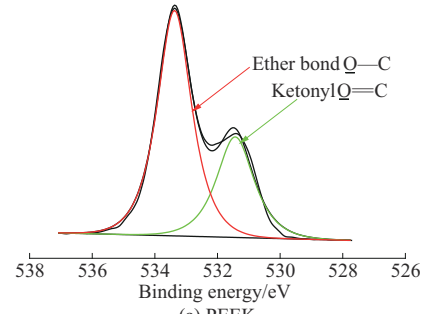


(b) PEEK-PDA

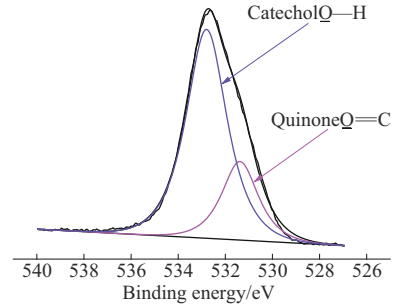


(c) PEEK-PDA-OGP

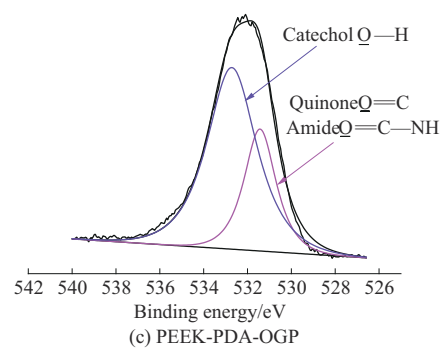
图3 PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 试样表面 XPS C1s 谱图
Fig. 3 XPS C1s spectra of PEEK, PEEK-PDA and PEEK-PDA-OGP surfaces



(a) PEEK



(b) PEEK-PDA



(c) PEEK-PDA-OGP

图4 PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 试样表面 XPS O1s 谱图
Fig. 4 XPS O1s spectra of PEEK, PEEK-PDA and PEEK-PDA-OGP surfaces

PEEK-PDA-OGP 的 XPS 高分辨 C1s, O1s 和 N1s 谱图及各拟合峰成键归属, 其各成键的相对含量见表 3。图 3 中 PEEK 的高分辨 C1s 谱图主要归为 284.8 eV 处的 $\text{C}-\text{C}/\text{C}-\text{H}$, 286.4 eV 处的醚基 $\text{C}-\text{O}$, 287.3 eV 处的酮基 $\text{C}=\text{O}$ 和 291.4 eV 处的携上峰。PEEK-PDA 的高分辨 C1s 谱图(图 3)主要归为 284.1 eV 处的 $\text{C}=\text{C}$, 284.8 eV 处的 $\text{C}-\text{C}/\text{C}-\text{H}$, 285.7 eV 处的芳香族 $\text{C}-\text{N}$ 和脂肪族 $\text{C}-\text{N}$, 287.7 eV 处的芳香族 $\text{C}=\text{N}$ 、酚羟基 $\text{C}-\text{OH}$ 和醌基 $\text{C}=\text{O}$ 以及 291.4 eV 处的携上峰。可见 PEEK 表面形成 PDA 涂层后, PEEK-PDA 表面仅探测到 PDA 的特征成键, 说明 PEEK 表面形成的 PDA 涂层厚度在 10 nm 以上^[19]。PEEK-PDA-OGP 的高分辨 C1s 谱图各拟合峰的成键类型及含量与 PEEK-PDA 相比变化不大, 但 287.7 eV 处拟合峰的面积增加(表 3), 这是由于 PEEK 表面键合 OGP 后引入的酰胺基 $\text{O}=\text{C}-\text{NH}$

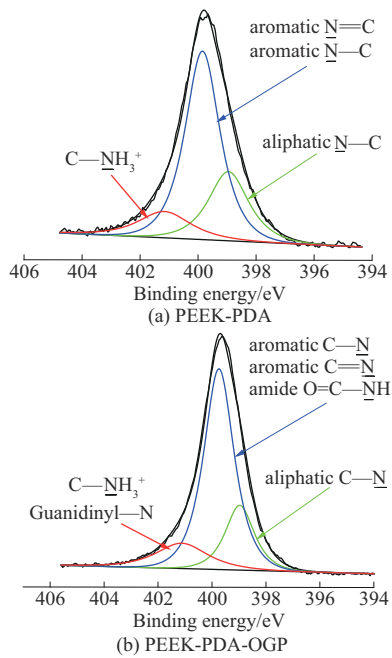


图5 PEEK-PDA和PEEK-PDA-OGP试样表面的XPS N1s谱图

Fig. 5 XPS N1s spectra of PEEK-PDA and PEEK-PDA-OGP surfaces

表3 PEEK, PEEK-PDA和PEEK-PDA-OGP表面各拟合峰的相对含量

Tab. 3 Relative content of each fitted peak on surface of PEEK, PEEK-PDA and PEEK-PDA-OGP

Spec- tra	B.E./ eV	Attribution	Relative content/%		
			PEEK	PEEK-PDA	PEEK-PDA-OGP
C1s	284.1	C=C	0	31.14	30.66
	284.8	C-C, C-H	67.33	25.06	24.87
	285.7	aromatic C=N, aliphatic C=N	0.00	25.32	23.47
	286.4	ether bond C-O	21.24	0	0
	287.3	ketonyl C=O	5.63	0	0
	287.7	aromatic C=N, catechol C-OH, quinone C=O, amide O=C-NH	0	15.25	17.15
	291.4	$\pi \rightarrow \pi^*$	5.80	3.23	3.85
O1s	531.4	ketonyl O=C, quinone O=C, amide O=C-NH	32.67	25.05	30.04
	532.7	catechol C-OH	0	74.95	69.96
	533.5	ether bond O-C	67.33	0.00	0
N1s	398.9	aliphatic C-N	0	25.73	20.21
	399.7	aromatic C=N, aromatic C-N, amide O=C-NH	0	61.40	65.74
	401.1	C-NH ₃ ⁺ , guanidiny-N	0	12.87	14.05

Note: B.E. is Binding energy.

也归属于该拟合峰^[12]。由图4可见, PEEK-PDA表面的XPS高分辨O1s谱图仅呈现PDA的特征成键,且PEEK表面的特征成键均已消失,再次说明PEEK表面形成的PDA涂层厚度大于10 nm。PEEK-PDA-OGP的高分辨O1s谱图各拟合峰的成键类型

及含量与PEEK-PDA相比变化不大,但531.4 eV处拟合峰的面积增加(表3),这是由于PEEK表面键合OGP后引入的酰胺基 $\text{O}=\text{C}-\text{NH}$ 也归属于该拟合峰。从图5的XPS高分辨N1s谱图可以看出, PEEK-PDA-OGP样品相比于PEEK-PDA样品, 399.7 eV处拟合峰面积增加(表3),这是由于OGP中的 $-\text{NH}_2$ 与PDA中的醌基 $\text{C}=\text{O}$ 发生席夫碱或迈克尔加成反应生成的芳香族 $\text{C}=\text{N}$ 和芳香族 $\text{C}-\text{N}$,以及键合OGP后引入的酰胺基 $\text{O}=\text{C}-\text{NH}$ 均归属于该拟合峰所致。另外,键合OGP后引入的胍基N归属于401.1 eV处拟合峰^[12],所以该拟合峰面积也增加。

图6为PEEK, PEEK-PDA和PEEK-PDA-OGP表面的亲水性评价结果。由图6可见, PEEK表面的水接触角为 $83.6^\circ \pm 0.70^\circ$,其表面形成PDA涂层后,由于PDA中有大量的醌基、酚羟基、 $-\text{NH}_2$ 等极性基团,所以其表面亲水性得到改善,水接触角降低至 $73.0^\circ \pm 0.26^\circ$ 。PEEK-PDA表面键合OGP后,由于OGP分子中存在 $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$ 和 $-\text{OH}$ 等亲水性基团,增强了样品表面的亲水性,样品表面水接触角降低至 $62.7^\circ \pm 0.72^\circ$ 。总之, SEM, XPS及水接触角测试结果表明PDA涂层成功的沉积在PEEK表面和OGP成功化学键合在PEEK表面。

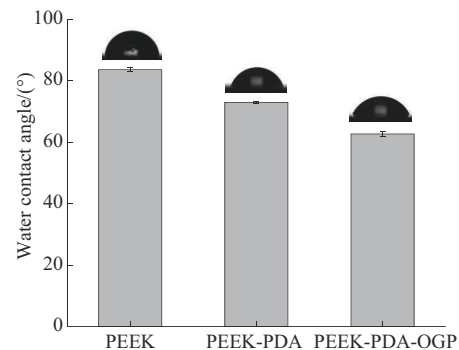


图6 PEEK, PEEK-PDA和PEEK-PDA-OGP试样表面的水接触角

Fig. 6 Water contact angles of PEEK, PEEK-PDA and PEEK-PDA-OGP surfaces

2.2 体外成骨细胞MC3T3-E1相容性及成骨活性评价

图7为成骨细胞MC3T3-E1在PEEK, PEEK-PDA和PEEK-PDA-OGP试样表面4 h和24 h的黏附形貌图。可见,培养4 h后,纯PEEK表面细胞呈细长的梭形,数目和伪足较少。而PEEK-PDA和PEEK-PDA-OGP样品表面细胞黏附铺展状态良好,细胞数目及丝状和板状伪足较多。培养24 h后,细

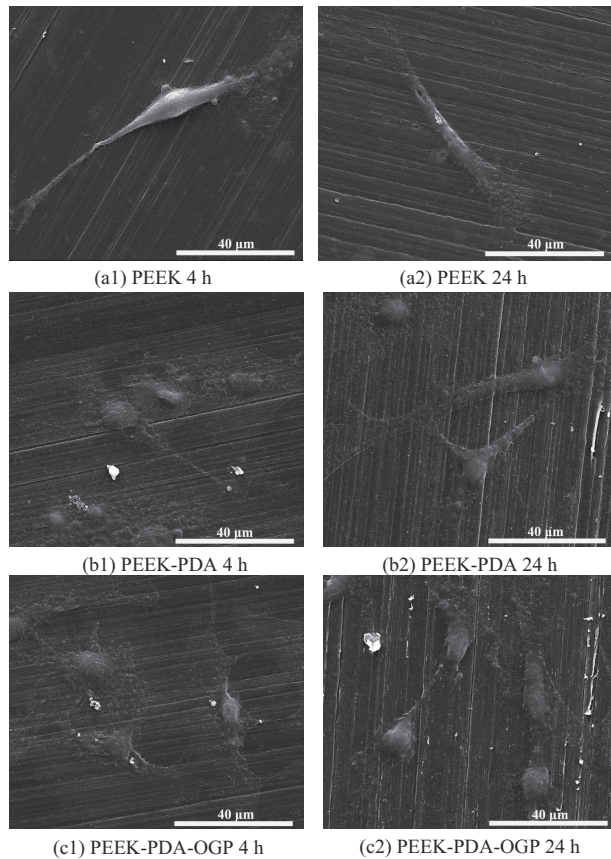


图7 PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 试样表面成骨细胞 MC3T3-E1 黏附 4 h 和 24 h 的 SEM 图

Fig. 7 SEM images of MC3T3-E1 adhered to PEEK, PEEK-PDA and PEEK-PDA-OGP surfaces for 4 h and 24 h

胞能在所有的样品表面黏附铺展,只是纯 PEEK 表面细胞呈细长的扁平状,而 PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 样品表面细胞进一步铺展且有更多伪足相互交汇,说明 PDA 和 OGP 改性的 PEEK 表面能有效地改善成骨细胞 MC3T3-E1 的早期黏附。

成骨细胞 MC3T3-E1 在 PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 试样表面培养 1, 3, 5 d 的增殖结果如图 8 所示,其中*和#分别代表与 PEEK 组和 PEEK-PDA 组相比的统计学差异, $P<0.05$,下同。由图 8 可以看到,从第 1 d 到第 5 d,各组的光学密度值都呈增加趋势,说明细胞在 PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 试样表面都具有黏附与增殖能力。光学密度值 PEEK-PDA-OGP>PEEK-PDA> PEEK,且组间均具有统计学差异($P<0.05$),这说明成骨细胞 MC3T3-E1 在 PDA 和 OGP 功能化后的 PEEK 表面能更好地黏附与增殖,且 OGP 功能化的 PEEK 表面表现最佳。

ALP 是一种骨生成关键性酶,是成骨细胞早期

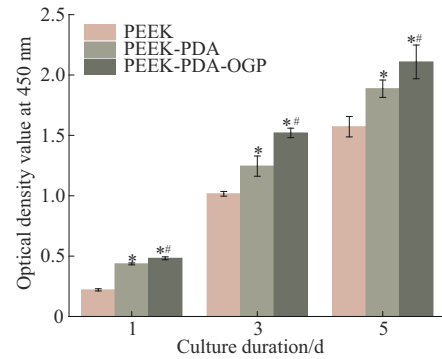


图8 成骨细胞 MC3T3-E1 在 PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 试样表面生长 1, 3, 5 d 的增殖结果

Fig. 8 Proliferation results of MC3T3-E1 on PEEK, PEEK-PDA and PEEK-PDA-OGP surfaces at 1, 3 and 5 d

成骨分化的重要标志^[20]。图 9 为成骨细胞 MC3T3-E1 在 PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 试样表面培养 7 d 和 14 d 的 ALP 活性结果。由图 9 可以看出,随培养时间的延长,PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 试样组的 ALP 活性均不同程度地增加,且成骨细胞 MC3T3-E1 在 PEEK-PDA-OGP 组表现出最高的 ALP 活性,说明 OGP 功能化的 PEEK 表面最有利于成骨细胞 MC3T3-E1 的早期成骨分化。

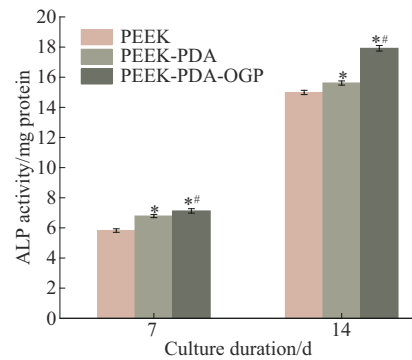


图9 成骨细胞 MC3T3-E1 在 PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 试样表面生长 7 d 和 14 d 的 ALP 活性结果

Fig. 9 ALP activity of MC3T3-E1 cultured on PEEK, PEEK-PDA and PEEK-PDA-OGP samples for 7 d and 14 d

RUNX-2 是经典 Wnt/ β -catenin 信号通路的重要下游基因,是调控早期成骨细胞分化的关键转录因子。COL-I 是骨基质中的主要成分之一,其转录和分泌被认为是成骨分化中期的标志物,为基质成熟和矿化做准备。OPN 是一种分泌到骨细胞外基质中的酸性糖蛋白,也被认为是成骨分化和矿化的晚期标志物^[20-21]。图 10 是成骨细胞 MC3T3-E1 在 PEEK, PEEK-PDA 和 PEEK-PDA-OGP 试样表面培养 7 d 和 14 d 的成骨分化相关基因(RUNX-2, COL-I, OPN)mRNA 表达水平的 RT-qPCR 测试结果。由

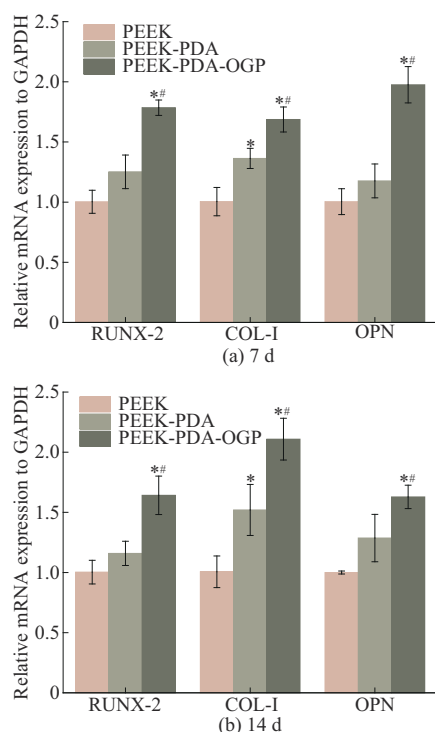


图10 成骨细胞MC3T3-E1在PEEK、PEEK-PDA和PEEK-PDA-OGP试样表面生长7 d和14 d的成骨相关基因表达结果

Fig. 10 Osteogenesis-related gene expression results of MC3T3-E1 cultured on PEEK, PEEK-PDA, PEEK-PDA-OGP surfaces for 7, 14 d

图10可以看出,在两个时间点,PEEK-PDA-OGP组的RUNX-2、COL-1和OPN mRNA表达水平均高于PEEK-PDA组和未改性PEEK组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。而PEEK-PDA组的RUNX-2、COL-1和OPN的mRNA表达水平虽高于未改性PEEK组,但只有COL-1的mRNA表达水平与未改性PEEK组相比具有统计学差异。以上结果说明成骨细胞MC3T3-E1在OGP功能化的PEEK表面成骨分化最优。

综上,OGP改性的PEEK在体外能改善成骨细胞的黏附、铺展、增殖与成骨分化,因而在体内有望获得较好的骨整合。

3 结论

(1) SEM、XPS及水接触角测试结果表明,PDA成功地沉积到PEEK表面,并成功介导OGP化学键合在PEEK表面。经PDA和OGP修饰后PEEK的表面形貌均未发生明显变化,但其表面亲水性增强。

(2)体外细胞相容性及成骨活性评价结果表明,PDA和OGP改性的PEEK表面均能促进成骨细胞MC3T3-E1的黏附、铺展、增殖与成骨分化,其中OGP改性的PEEK表面促进作用最为显著。

参考文献

- [1] 刘吕花,郑延延,张丽芳,等.硬组织植入生物活性聚醚醚酮复合材料[J].化学进展,2017,29(4):50-58.
LIU Lyuhua, ZHENG Yanyan, ZHANG Lifang, et al. Bioactive polyetheretherketone implant composites for hard tissue[J]. Progress in Chemistry, 2017, 29(4):450-458.
- [2] WEI Z, ZHANG Z, ZHU W, et al. Polyetheretherketone development in bone tissue engineering and orthopedic surgery[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2023, 11. DOI:10.3389/fbioe.2023.1207277.
- [3] WALSH W R, PELLETIER M H, CHRISTOU C, et al. The in vivo response to a novel Ti coating compared with polyether ether ketone:Evaluation of the periphery and inner surfaces of an implant [J]. The Spine Journal, 2018, 18:1 231-1 240.
- [4] 张伟芳,刘吕花,刘英,等.聚醚醚酮在口腔医学中应用的研究进展[J].工程塑料应用,2022,50(11):163-167.
ZHANG Weifang, LIU Lyuhua, LIU Ying, et al. Research progress on application of polyetheretherketone in stomatology[J]. Engineering Plastics Application, 2022, 50(11):163-167.
- [5] 张永恒,刘吕花,李梦琦,等. PEEK口腔生物材料的应用现状及前景[J].工程塑料应用,2024,52(3):179-185.
ZHANG Yongheng, LIU Lyuhua, LI Mengqi, et al. Application status and prospect of PEEK oral biomaterials[J]. Engineering Plastics Application, 2024, 52(3):179-185.
- [6] YIN W, CHEN M, BAI J, et al. Recent advances in orthopedic polyetheretherketone biomaterials:Material fabrication and biofunction establishment[J]. Smart Materials in Medicine, 2022, 3:20-36.
- [7] KASSICK A J, YERNENI S S, GOTTLIEB E, et al. Osteoconductive enhancement of polyether ether ketone:A mild covalent surface modification approach[J]. ACS Applied Bio Materials, 2018, 1(4): 1 047-1 055.
- [8] 刘吕花,郑延延,董军.氨基修饰聚醚醚酮表面及其成骨细胞相容性[J].工程塑料应用,2017,45(6):24-28.
LIU Lyuhua, ZHENG Yanyan, DONG Jun. Surface osteoblast compatibility of amino-modified polyetheretherketone[J]. Engineering Plastics Application, 2017, 45(6):24-28.
- [9] ZHENG Y, LIU L, XIONG C, et al. Enhancement of bioactivity on modified polyetheretherketone surfaces with $-COOH$, $-OH$ and $-PO_4H_2$ functional groups[J]. Materials Letters, 2018, 213: 84-87.
- [10] ZHENG Y, XIONG C, ZHANG S, et al. Bone-like apatite coating on functionalized poly(etheretherketone) surface via tailored silanization layers technique[J]. Materials Science and Engineering-C, 2015, 55:512-523.
- [11] ZHENG Y, XIONG C, WANG Z, et al. Enhanced osteoblast cells adhesion, spreading, and proliferation to surface-carboxylated poly(etheretherketone)[J]. Journal of Bioactive and Compatible Polymers:Biomedical Applications, 2015, 30(3):302-318.

- [12] ZHENG Y, XIONG C, LI X, et al. Covalent attachment of cell-adhesive peptide Gly-Arg-Gly-Asp (GRGD) to poly(etheretherketone) surface by tailored silanization layers technique[J]. *Applied Surface Science*, 2014, 320:93–101.
- [13] LIU Y, AI K, LU L. Polydopamine and its derivative materials: Synthesis and promising applications in energy, environmental, and biomedical fields[J]. *Chemical Reviews*, 2014, 114(9):5 057–5 115.
- [14] WU H, ZHAO C, LIN K, et al. Mussel-inspired polydopamine-based multilayered coatings for enhanced bone formation[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10. DOI: 10.3389/fbioe.2022.952500.
- [15] DU J, ZHOU Y, BAO X, et al. Surface polydopamine modification of bone defect repair materials: Characteristics and applications[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10. DOI:10.3389/fbioe.2022.974533.
- [16] ZHANG W, LIU L, ZHOU H, et al. Surface bisphosphonation of polyetheretherketone to manipulate immune response for advanced osseointegration[J]. *Materials & Design*, 2023, 232. DOI:10.1016/j.matdes.2023.112151.
- [17] PIGOSSI S C, MEDEIROS M C, SASKA S, et al. Role of osteogenic growth peptide (ogp) and ogp(10-14) in bone regeneration: A review[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17 (11). DOI:10.3390/ijms17111885.
- [18] WANG Q, YANG X, WANG G, et al. Osteogenic growth peptide-loaded 3D-printed PCL scaffolds for the promotion of osteogenesis through the ERK pathway[J]. *Materials & Design*, 2020, 193. DOI:10.1016/j.matdes.2020.108811.
- [19] 刘吕花,张伟芳,郑延延.磺酸基修饰聚醚醚酮表面及其成骨活性[J].*工程塑料应用*, 2021, 49(11):14–20.
- LIU Lyuhua, ZHANG Weifang, ZHENG Yanyan. Sulfonate group-tailored polyetheretherketone surface and its osteogenic activity [J]. *Engineering Plastics Application*, 2021, 49(11):14–20.
- [20] ZHAO Y, BAI L, ZHANG Y, et al. Type I collagen decorated nanoporous network on titanium implant surface promotes osseointegration through mediating immunomodulation, angiogenesis, and osteogenesis[J]. *Biomaterials*, 2022, 288. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2022.121684.
- [21] ZHAO Y, SUN Y, HANG R, et al. Biocompatible silane adhesion layer on titanium implants improves angiogenesis and osteogenesis[J]. *Biomaterials Advances*, 2022, 139. DOI: 10.1016/j.biomadv.2022.213033.