

Mn/nHA 涂层 CF/PEEK 复合材料的制备 及体外成骨活性评价

李正浩^{1,2}, 李婧鸣^{1,2}, 章玉祥^{1,2}, 袁 波^{1,2}, 张 凯^{1,2}, 朱向东^{1,2}

(四川大学 1. 国家生物医学材料工程技术研究中心; 2. 生物医学工程学院, 成都 610064)

摘 要: 碳纤维/聚醚醚酮(Carbon Fiber Polyetheretherketone, CF/PEEK)在骨修复领域已得到了广泛应用, 但生物惰性致使其骨整合性较弱, 极大地影响了临床应用的长期稳定性和骨修复效果。本研究基于无机纳米粒子液相自组装策略, 在 CF/PEEK 表面构筑了锰掺杂纳米羟基磷灰石(Mn/nHA)涂层, 以期改善其生物活性和骨整合性。实验结果表明, Mn/nHA 和 nHA 涂层均可显著改善 CF/PEEK 表面粗糙度和提升亲水性。体外研究发现, Mn/nHA 和 nHA 两组涂层改性材料与大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)共培养 7 d 后, 相对细胞存活率分别高达 180%和 159%, 均表现出显著的促增殖效果。此外, 茜素红染色和逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)检测发现两种涂层均能增强细胞在材料表面的矿化和成骨分化能力, 且 Mn/nHA 涂层呈现出更强的促进作用。

关 键 词: 羟基磷灰石; 锰; 碳纤维/聚醚醚酮; 成骨活性

中图分类号: R318 文献标志码: A 文章编号: 1000-324X(2025)10-1145-08

Preparation and *in vitro* Osteogenic Activity Evaluation of Mn/nHA Coated CF/PEEK Composite

LI Zhenghao^{1,2}, LI Jingming^{1,2}, ZHANG Yuxiang^{1,2}, YUAN Bo^{1,2}, ZHANG Kai^{1,2}, ZHU Xiangdong^{1,2}

(1. National Engineering Research Center for Biomaterials, Sichuan University, Chengdu 610064, China, 2. College of Biomedical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: Carbon fiber/polyetheretherketone (CF/PEEK) has been widely used in the field of bone repair. However, its bio-inert nature results in poor osseointegration, which significantly limits its long-term stability and bone repair efficacy in clinical applications. Here, a manganese-doped nano-hydroxyapatite (Mn/nHA) coating was constructed on the surface of CF/PEEK using a liquid-phase self-assembly strategy of inorganic nanoparticles. The experimental results demonstrated that both Mn/nHA and nHA coatings significantly improved the surface roughness and hydrophilicity of CF/PEEK. Further *in vitro* studies revealed that after co-culturing with rat mesenchymal stem cells (BMSCs) for 7 d, the relative cell viability of the Mn/nHA- and nHA-coated materials reached as high as 180% and 159%, respectively, indicating a pronounced pro-proliferative effect. Additionally, alizarin red staining and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis showed that both coatings enhanced cell mineralization and osteogenic differentiation on the material surface, with the Mn/nHA coating exhibiting a stronger promoting effect.

Key words: hydroxyapatite; manganese; carbon fiber/polyetheretherketone; osteogenic activity

收稿日期: 2025-02-23; 收到修改稿日期: 2025-03-25; 网络出版日期: 2025-04-15

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFC2406102)

National Key R&D Program of China (2022YFC2406102)

作者简介: 李正浩(2000-), 男, 硕士研究生. E-mail: 2022223100034@stu.scu.edu.cn

LI Zhenghao (2000-), male, Master candidate. E-mail: 2022223100034@stu.scu.edu.cn

通信作者: 朱向东, 研究员. E-mail: zhu_xd1973@scu.edu.cn

ZHU Xiangdong, professor. E-mail: zhu_xd1973@scu.edu.cn

聚醚醚酮(Polyetheretherketone, PEEK)因其良好的生物相容性、临床射线可透性以及与人骨组织匹配的弹性模量等特点,在临床骨科特别是脊柱融合和颅颌面修复等领域有着广泛的应用前景^[1]。但是纯 PEEK 存在抗压、抗弯强度等力学性能较低等问题,在应用于承重部位骨缺损修复时,仍存在植入体失效风险^[2]。因此,具有轻质、高强度和高刚度的 CF/PEEK 复合材料开始得到广泛关注,并逐渐发展成为金属植入体的理想替代品^[3]。但值得注意的是,由于 CF/PEEK 本质属于生物惰性材料,其植入体内后与宿主骨之间相互作用会诱导生成大量纤维组织,在应力条件下极易产生松动甚至失效,严重影响其临床长期稳定性和修复效果^[4]。因此,如何提升 CF/PEEK 表面生物活性以改善其体内骨整合性已成为当前该领域的研究重点。

当前提升 CF/PEEK 表面生物活性的策略主要集中在通过物理方法(等离子注入或等离子喷涂等)或化学方法(表面酸碱处理或化学接枝等)在材料表面构建羟基磷灰石(Hydroxyapatite, HA)、二氧化硅、多肽等生物活性涂层^[5-8]。其中,HA 涂层是研究最为深入的一类生物活性涂层。早在 20 余年前,经等离子喷涂微米 HA 的 CF/PEEK 就已成功商业化并应用于临床。但这类改性策略由于线性加工限制,仅能对表面光滑植入体起到较好的效果,无法在复杂表面形貌的植入体上实施^[9]。因此,现有研究大多通过化学方法在 CF/PEEK 上构建 HA 涂层。相比微米 HA,纳米 HA(nHA)作为骨组织的主要无机成分,因其独特的纳米尺寸效应,在提升材料生物活性和促进骨再生方面作用更为显著^[10]。特别是近年来的一些研究表明,nHA 除了本身可促进骨再生外,还可调控免疫微环境进而间接诱导骨再生^[11]。

锰(Manganese, Mn)作为人体必需微量矿物元素之一,能够调节骨骼代谢和维持骨骼结构^[12]。据报道,添加适量 Mn 元素能促进胞外基质蛋白的黏附作用、加速骨代谢、调节成骨细胞分化和骨的重吸收^[13-15]。更为重要的是,Mn 离子在调控天然免疫应答方面也起着重要作用^[16]。胞外的 Mn 离子可通过循环系统激活巨噬细胞、树突状细胞及淋巴细胞的免疫应答而进入细胞质,从而强烈激活 cGAS-STING 信号通路,显著增强环化 GMP-AMP(cGAMP)合成能力^[17-19]。因此,近期一些研究也开始将 Mn 作为活性组元掺入到硅酸盐、ZIF-8 等纳米粒子中,以通过持续释放 Mn 来调控缺损组织免疫微环境,促进肌腱、皮肤和骨等不同组织再生,这些研究均取得了较好的修复效果^[20-22]。

本研究提出了 Mn 协同 nHA 诱导细胞成骨分化以促进骨再生的新策略。基于液相化学法,对 CF/

PEEK 进行了磺化预处理,在其表面构建具有良好黏附性和多官能基团的金属-酚醛网络(Metal-phenolic Network, MPN)^[23],以实现 Mn/nHA 的原位自组装。通过体外细胞共培养实验发现,Mn/nHA 涂层 CF/PEEK 复合材料能够调控细胞增殖、分化及成骨相关基因表达,呈现良好的促骨再生潜力。

1 实验方法

1.1 样品制备

所用 CF/PEEK 板材购自美国 Polymics 公司,经机械加工成 8 mm×8 mm×2 mm 的方片后进行抛光,再依次用丙酮、乙醇和超纯水进行超声清洗。利用质量分数为 98%的硫酸溶液处理 90 s 后,得到磺化 CF/PEEK(SCF/PEEK)材料。然后,将 SCF/PEEK 材料浸泡在单宁(12 g/L)与无水氯化钙(6 g/L)的混合溶液中,并放入烘箱静置 12 h。接着,通过化学沉淀法分别配制 0.5 mol/L 的 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、0.45 mol/L 的 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 0.05 mol/L 的 $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液,以及 0.3 mol/L 的 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 溶液,确保 Ca/P 和 (Ca+Mn)/P 的元素摩尔比均为 5:3。将预处理后的 SCF/PEEK 材料分别加入 Ca 溶液和 Ca+Mn 溶液中,浸泡 30 min 后,缓慢滴加 P 溶液。期间,通过氨水调节 pH,使其维持在 10.0 左右。待 P 溶液滴加完毕后,搅拌 30 min 并陈化 24 h。最后,取出材料并用去离子水反复清洗,得到 nHA-CF/PEEK 和 5%Mn/nHA-CF/PEEK 复合材料。

1.2 样品理化性能表征

利用场发射扫描电子显微镜(SEM, S4800, Hitach, 日本)观察材料表面的形貌特征。通过原子力显微镜(AFM, MFP-3D, Asylum Research, 美国)观察样品的表面微观形貌。测算材料表面的粗糙度时,所用硅探针的共振频率为 75 KHz,所探测的区域为样品表面 10 μm ×10 μm 的三个非重叠区域,取平均值。采用水接触角测试仪(WCA, IL4200, KRÜSS GmbH, 德国)测量材料表面水接触角,以评估材料表面亲疏水性。使用配备衰减全反射(ATR)系统的傅里叶变换红外分光光度计(FT-IR, Nicolet 6700, Thermo Scientific, 美国)分析样品表面的化学基团。通过 X 射线衍射仪(XRD, XRD-6100, Shimadzu, 日本)分析材料表面物相组成。采用 X 射线光电子能谱仪(XPS, XSAM800, Kratos, 英国)表征样品中各元素的化学价态。

1.3 细胞培养

用大鼠 BMSCs 研究 CF/PEEK 样品的成骨活性。在 5%(体积分数)二氧化碳和 37 °C 的培养条件

下, 将细胞置于含有 10%胎牛血清和 1%青霉素/链霉素的 α 培养基中进行培养, 每两天进行一次换液。细胞接种前, 所有样品用 75%(质量分数)乙醇溶液灭菌 10 min, 然后用无菌磷酸盐缓冲溶液(Phosphate-buffered Solution, PBS)洗涤 3 次。

1.4 细胞增殖

按 20000 cells/mL 的密度将细胞接种在 48 孔板的 CF/PEEK 样品上, 每组 3 个平行样。通过激光共聚焦扫描显微镜(CLSM, LSM880, Zeiss, 美国)观察 BMSCs 的生长情况。培养 1、4 和 7 d 后, 用 PBS 洗涤样品两次, 并用荧光素二乙酸酯(Fluorescein Diacetate, FDA)和碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)染色后观察。使用 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四氮唑溴盐 (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT)评估细胞增殖情况。培养 1、4 和 7 d 后, 用无菌 PBS 洗涤样品两次, 每孔加入 500 μ L 含 10% MTT 溶液的培养基后, 避光孵育 4 h。加入 1 mL 二甲基亚砷溶液后, 将孔板放入 37 $^{\circ}$ C 恒温振荡器中振荡 15 min, 每孔分别取 200 μ L 转移至 96 孔板中。最后, 使用酶标仪在 490 nm 波长下测定各个样品的光密度(Optical Density, OD), 每组设置 3 个平行样, 每个平行样设置三个复孔, 取均值。

1.5 体外矿化

通过茜素红 S 染色评估细胞外基质(Extracellular Matrix, ECM)的矿化程度。培养 4、7 和 14 d 后, 将表面的 BMSCs 细胞在 4%多聚甲醛中固定 1 h, 并在室温下用 1%茜素红溶液染色 10 min。用超纯水冲洗去除未结合的染液, 通过光学显微镜观察染色效果。为了定量染色效果, 所有样品均用 500 μ L/孔的 10%十六烷基吡啶氯化钠水溶液洗脱, 并在 567 nm 波长下测量相应 OD 值。

在此实验过程中, 由于未经过处理的 CF/PEEK 颜色为纯黑色, 无法在光学显微镜下清晰地观察到材料表面的染色状况, 故选取碘化后的 CF/PEEK, 即白色 SCF/PEEK 作为对照组以便观察。

1.6 成骨分化

将 BMSCs 与不同材料组共培养 4 d 后, 利用 Trizol 试剂提取其不同组别细胞的总 RNA, 通过逆转录酶试剂盒将提取的 RNA 逆转录为 cDNA。对其中的骨形态发生蛋白(Bone Morphogenetic Protein, BMP)、runt 相关转录因 2(Runt-related Transcription Factor 2, RUNX-2)、骨保护素(Osteoprotegerin, OPG)、骨钙素(Osteocalcin, OCN)、碱性磷酸酶(Alkaline Phosphatase, ALP)和骨唾液酸蛋白(Bone Sialoprotein, BSP)进行 RT-PCR 检测, 所用基因引物序列如表 1 所示。选取甘油二磷酸脱氢酶(GAPDH)作为管家基因, 用作对照。

表 1 RT-PCR 中所用引物序列
Table 1 Primers utilized for RT-PCR amplification

For GAPDH
F: 5'-GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG-3'
R: 5'-ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA-3'
For BMP
F: 5'-TGACTGGATCGTGGCACCTC-3'
R: 5'-CAGAGTCTGCACTATGGCATGGTTA-3'
For OPG
F: 5'-AACCGCACCCACAACCGA-3'
R: 5'-CACCTGAGAAGAACCCATCCG-3'
For RUNX-2
F: 5'-TGGCCGGGAATGATGAGAAC-3'
R: 5'-TTGAACCTGGCCACTTGGTT-3'
For OCN
F: 5'-TCTGAGTCTGACAAAGCCTTCAT-3'
R: 5'-AAGTCCATTGTTGAGGTAGCG-3'
For ALP
F: 5'-CATCGCCTATCAGCTAATGCACA-3'
R: 5'-ATGAGGTCCAGGCCATCCAG-3'
For BSP
F: 5'-GACCAGTTATGGCACCACGA-3'
R: 5'-CGCAGTGTGTACTCGTTGC-3'

1.7 统计分析

除文中另有说明, 所有数据均以三个独立实验的平均值 $\pm$ 标准差(SD)表示。数据统计学均使用 SPSS16.0 软件进行分析, 并采用单因素方差分析数据的显著性差异。 $p<0.05$ 表示数据存在统计学意义的显著性差异, 标记为*; $p<0.01$ 表示更显著差异, 标记为**; $p<0.001$ 表示极显著差异, 标记为***。

2 结果与讨论

2.1 材料表征

CF/PEEK 具有良好的耐蚀性, 常态情况下表面光滑平整。而经过碘化、单宁处理和纳米粒子沉积后, 通过 SEM 可以观察到 CF/PEEK 表面出现了许多网状结构, 并且这些微纳网孔的孔壁上还黏附着众多尺度为 50 nm 左右的纳米粒子(图 1)。但 Mn 掺杂并未对纳米粒子形貌造成显著影响。进一步通过 AFM 观察发现, 随着纳米粒子的沉积, CF/PEEK 表面粗糙度逐渐增大, 从 150 nm 左右增加至 250 nm 左右(图 2)。而由于 Mn 掺杂前后, 纳米粒子的形态未发生明显变化, 因此, nHA-CF/PEEK 和 5%Mn/nHA-CF/PEEK 两组样品表面的粗糙度也未出现显著差异。

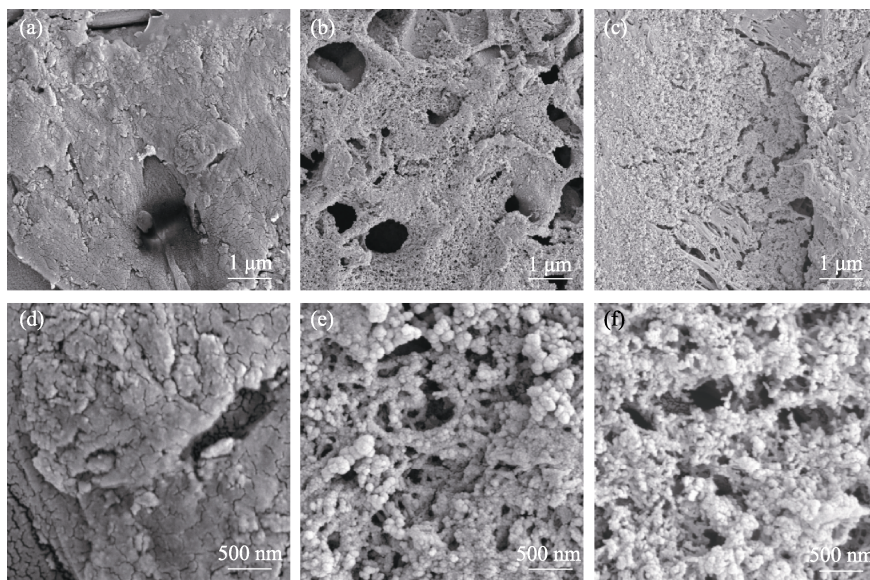


图 1 材料表面形貌的 SEM 照片

Fig. 1 SEM images for surface morphology of various material samples

(a, d) CF/PEEK; (b, e) nHA-CF/PEEK; (c, f) 5%Mn/nHA-CF/PEEK

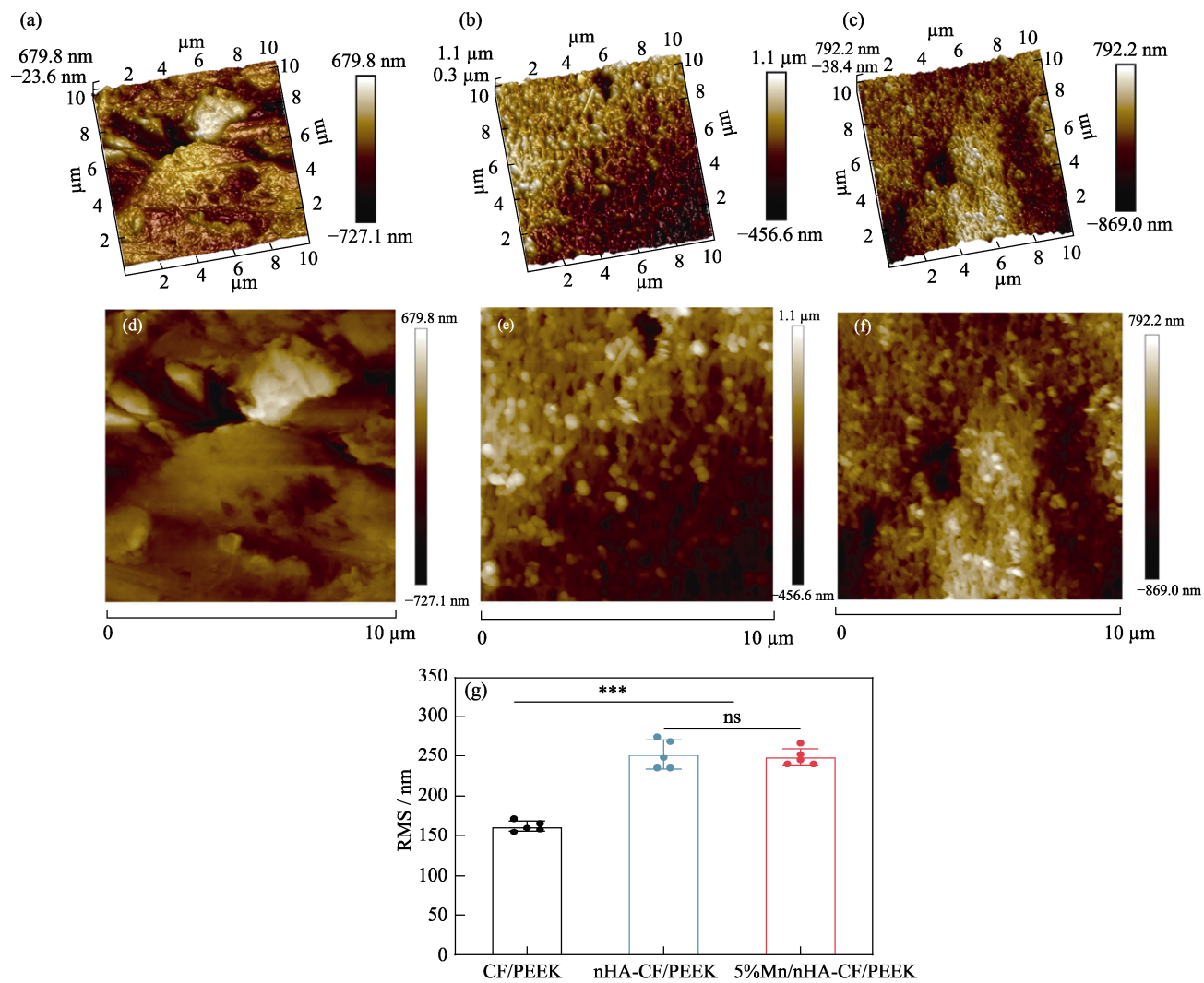


图 2 CF/PEEK (a, d)、nHA-CF/PEEK (b, e)和 5%Mn/nHA-CF/PEEK (c, f)表面形貌的 AFM 图像(a-f)和粗糙度(g)

Fig. 2 AFM images (a-f) and roughness (g) for surface topographies of CF/PEEK (a, d), nHA-CF/PEEK (b, e) and 5%Mn/nHA-CF/PEEK (c, f)

(a-c) 3D images; (d-f) 2D images; (g) Roughness

通常而言,材料表面的亲疏水性在其与细胞和组织的相互作用过程中扮演着重要角色^[24]。通过水接触角测试评估了纳米涂层对 CF/PEEK 表面亲疏水性的影响。结果如图 3 所示,未经过处理的 CF/PEEK 表面呈现明显的疏水性,而随着两种纳米粒子的逐渐沉积,其表面开始从疏水向亲水转变,说明材料表面产生了大量亲水性官能团。

利用 FT-IR 对 CF/PEEK 表面两种纳米粒子的化学成分进行分析。如图 4 所示,在 3445 和 1420 cm^{-1} 附近出现了对应于 OH^- 的伸缩振动峰和弯曲振动峰,在 560 、 600 以及 1020 cm^{-1} 附近出现了对应于 PO_4^{3-} 的伸缩振动峰。XRD 结果(图 5)显示,两种纳米粒子的特征峰与 HA 标准卡片(JCPDS 09-0432)的典型特征峰对应,说明两种纳米粒子的主相成分都是 HA。值得注意的是,尽管两种粒子在 $2\theta=31.8^\circ$ 附近都出现了特征峰,但 5%Mn/nHA 的主特征峰发生了轻微偏移。这可能是因为锰的半径小于钙,当锰进入 HA 晶格取代部分钙时,晶格收缩,晶格参数变小,使得衍射峰向高角度方向细微偏移^[25-26]。

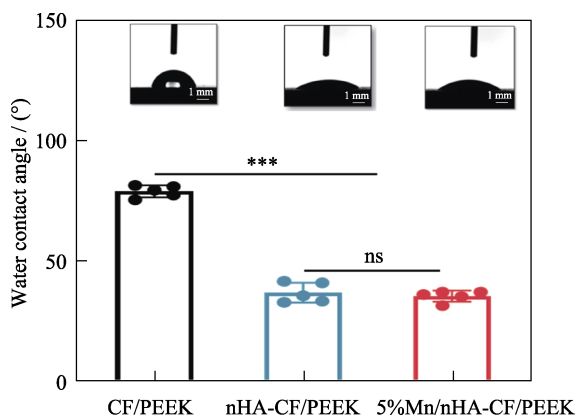


图 3 CF/PEEK、nHA-CF/PEEK 和 5%Mn/nHA-CF/PEEK 表面的水接触角

Fig. 3 Water contact angles of CF/PEEK, nHA-CF/PEEK and 5%Mn/nHA-CF/PEEK

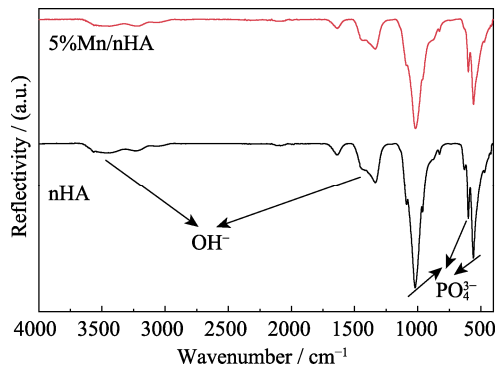


图 4 CF/PEEK 表面 nHA 和 5%Mn/nHA 涂层样品的 FT-IR 光谱图

Fig. 4 FT-IR spectra of nHA and 5%Mn/nHA coated on CF/PEEK samples

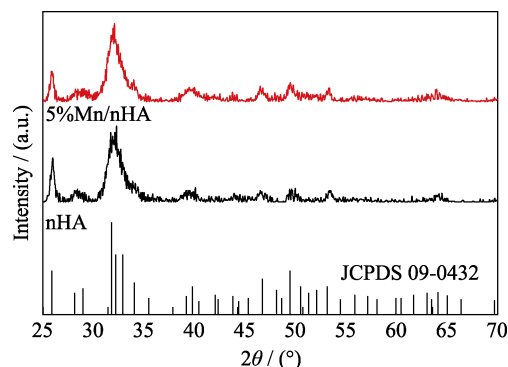


图 5 CF/PEEK 表面 nHA 和 5%Mn/nHA 涂层样品的 XRD 图谱

Fig. 5 XRD patterns of nHA and 5%Mn/nHA coated on CF/PEEK samples

两种纳米粒子的 XPS 全谱图(图 6(a))中,除了 Ca、P 等元素的典型特征峰,还有明显的 Mn2p 特征峰。此外,分峰谱图(图 6(b-d))显示,经过 Mn 掺杂后,各元素特征峰均向能量更低的方向偏移。其中, Mn 元素和 Ca 元素均表现出两个特征峰,分别为 $\text{Mn}2p_{3/2}$ 、 $\text{Mn}2p_{1/2}$ 和 $\text{Ca}2p_{3/2}$ 、 $\text{Ca}2p_{1/2}$, 呈正二价态。对上述图谱进行定量分析,发现 Mn 的掺入量接近理论值 5%(表 2)。上述结果共同说明了本研究通过纳米粒子的原位自组装,成功实现了 nHA 和 Mn/nHA 纳米涂层在 CF/PEEK 表面的均匀沉积,这不仅增加了材料表面粗糙度,也提升了其亲水性。

2.2 体外成骨性能评价

良好的细胞相容性是保障材料体内服役安全性和有效性的前提。本研究选择大鼠 BMSCs 作为体外细胞实验模型,以评估 CF/PEEK 的体外细胞相容性和促骨再生潜力。通过 CLSM 观察细胞在不同 CF/PEEK 表面培养 1、4 和 7 d 后的存活率,发现三组材料表面的细胞均呈现正常的细胞铺展形态,且细胞密度随着培养时间延长逐渐增大(图 7(a))。细胞增殖测试显示,随着培养时间的延长,两组涂层改性后的材料表面细胞量相比空白对照组显著递增,相对存活率分别达到 159%和 180%(图 7(b))。由此可见,三组材料均有良好的体外细胞相容性,且两种 nHA 涂层特别是 5%Mn/nHA 涂层显著促进了 BMSCs 在 CF/PEEK 表面的增殖。

通常而言,间充质干细胞在材料表面增殖一段时间后,会沿着特定方向分化。为进一步评估材料的促成骨分化潜能,本研究首先通过茜素红染色对材料表面培养细胞的矿化能力进行定性评估。如图 8 所示,与材料共培养 4 d 后, SCF/PEEK 表面未见任何变化,而 nHA-CF/PEEK 和 5%Mn/nHA-CF/PEEK 两组材料表面有少量橘红色沉积物出现。一

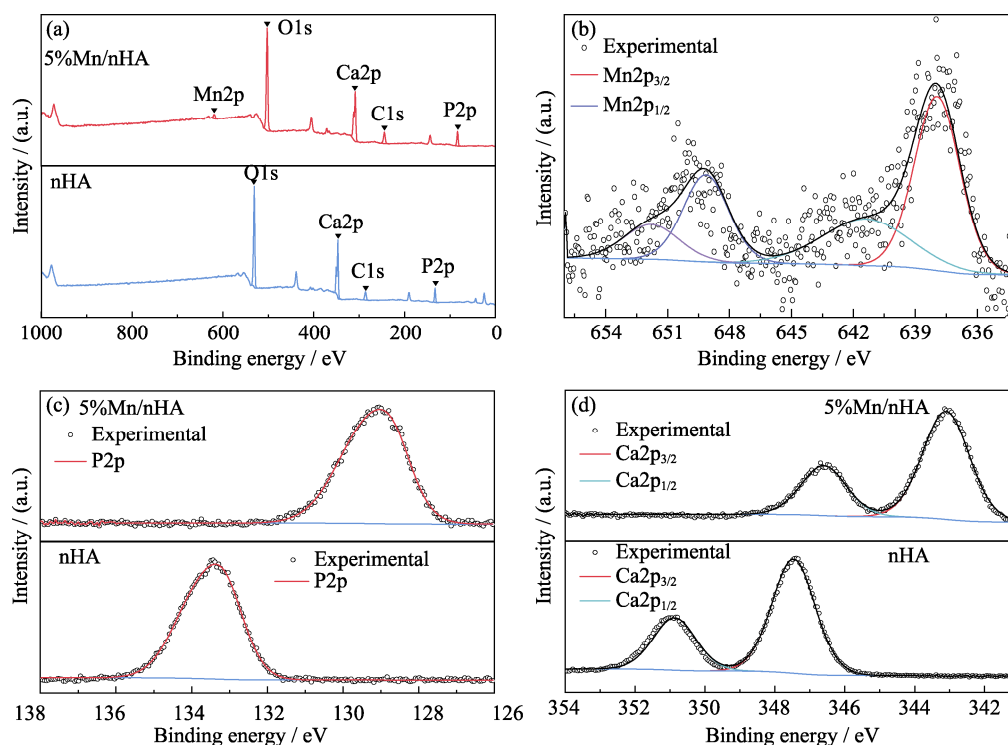


图 6 CF/PEEK 表面 nHA 和 5%Mn/nHA 涂层样品的 XPS 谱图

Fig. 6 XPS spectra of nHA and 5%Mn/nHA coated on CF/PEEK samples

(a) XPS full spectra; (b) Mn, (c) P and (d) Ca element valence analyses

表 2 材料表面涂层的元素组成(原子分数)

Table 2 Elemental composition of the surface coating (in atom)

Sample	O/%	Ca/%	P/%	Mn/%
nHA	63.96±2.55	21.38±1.24	14.67±1.22	—
5%Mn/nHA	69.41±3.15	17.05±1.74	12.36±1.24	1.18±0.15

一般而言,细胞只有在成骨分化过程中所分泌的基质内出现钙盐沉积后,才会与茜素红结合形成红色络合物^[27]。随着培养时间的延长,两种纳米涂层改性后的CF/PEEK表面沉淀物颜色逐渐加深,且区域也逐渐增大。共培养 14 d 后,对照组 SCF/PEEK 表面仍只出现少量橘红色沉淀,而 nHA-CF/PEEK 和 5%Mn/nHA-CF/PEEK 两组材料表面几乎已被深红色沉淀覆盖。对此进行定量处理后,发现尽管两组涂层改性材料表面的钙结节沉淀量远高于对照组,但两组改性材料之间并无明显差异,说明引入 Mn 并未显著增强 nHA 涂层对细胞矿化能力的提升。

细胞在成骨分化过程中的标志性事件除了分泌细胞外基质形成钙磷沉积盐外,更重要的是表达成骨相关基因。通过 RT-PCR 对 BMP、RUNX-2、OPG、OCN、ALP 和 BSP 等 6 个成骨相关基因在 BMSCs 中的表达量进行分析。结果如图 9 所示,对于 BMP 和 BSP 两个基因,nHA-CF/PEEK 和 5%Mn/nHA-CF/PEEK 两组材料均相较对照 CF/PEEK 表现出更高的表达量。更为重要的是,5%Mn/nHA-CF/PEEK 相比

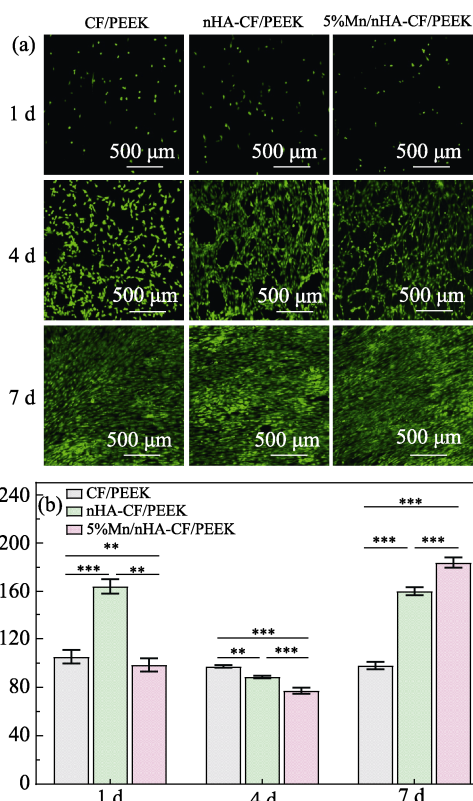


图 7 在 CF/PEEK、nHA-CF/PEEK 及 5%Mn/nHA-CF/PEEK 表面培养 1、4 和 7 d 的 BMSCs 增殖情况

Fig. 7 BMSCs growth and proliferation on CF/PEEK, nHA-CF/PEEK and 5%Mn/nHA-CF/PEEK after culturing for 1, 4 and 7 d

(a) CLSM images; (b) MTT analysis. Colorful figures are available on website

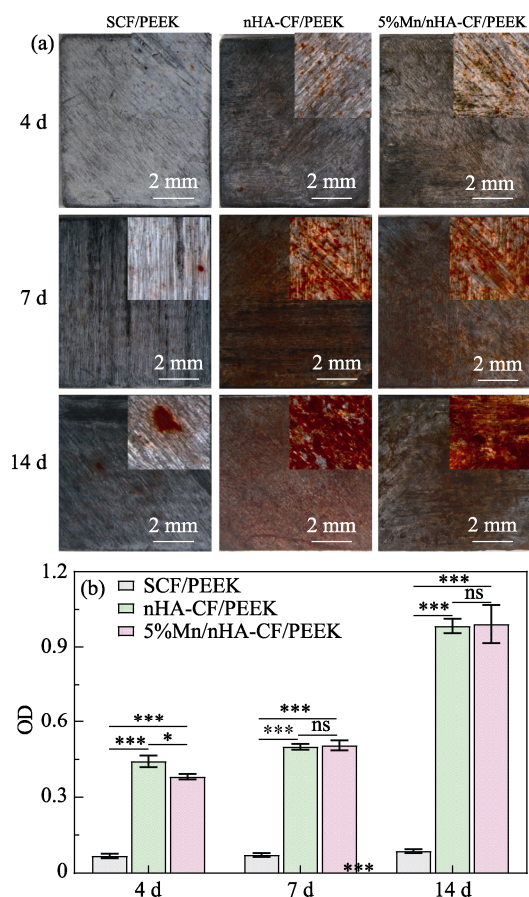


图 8 在 SCF/PEEK、nHA-CF/PEEK 及 5%Mn/nHA-CF/PEEK 表面培养 4、7 和 14 d 的 BMSCs 矿化能力
Fig. 8 BMSCs mineralization ability on SCF/PEEK, nHA-CF/PEEK and 5%Mn/nHA-CF/PEEK after culturing for 4, 7 and 14 d
(a) Alizarin red stained images; (b) Semi-quantitative analysis. Colorful figures are available on website

另外两组材料明显上调了几乎所有成骨相关基因的表达水平, 说明引入 Mn 能更显著地增强 nHA 对 BMSCs 成骨分化的促进作用。

综上所述, nHA 和 Mn/nHA 两种涂层均能极大促进 BMSCs 在 CF/PEEK 表面的增殖和成骨分化, 但后者作用效果更为显著, 究其原因可以归为两个方面。首先是纳米涂层的构建对改变了 CF/PEEK 表面的微观形貌和亲疏水性。既往许多研究都表明, 增加材料表面粗糙度能够为细胞黏附提供更多锚点的同时激活整合素-黏着斑激酶等信号通路传递机械信号, 促进细胞外基质形成和钙磷盐沉积^[28]。而且, 还可以通过促进蛋白质吸附和细胞铺展来提升细胞增殖能力和分化潜力, 进而提升亲水性^[29]。除了微观形貌和亲疏水性的影响, nHA 和 Mn/nHA 涂层释放的钙、磷和锰等离子也对 BMSCs 功能起到了重要的调节作用。其中, 钙和磷离子主要通过促进矿化、调控 BMP 信号通路等途径诱导细胞表达高水平成骨相关基因^[30]。在本研究中, nHA-CF/PEEK 和 5%Mn/nHA-CF/PEEK 两组材料表现出较高分化的促细胞矿化能力, 但后者促成骨基因表达能力更为显著。根据 Yang 等^[31]的报道, 锰能够激活 BMP/Smad 信号通路, 显著上调 RUNX-2、ALP 和 OCN 的表达, 进而促进 BMSC 的成骨分化。与此类似, 本研究结果显示, 在 nHA 涂层中引入锰后, 5%Mn/nHA-CF/PEEK 显著上调了包括 RUNX-2、ALP 和 OCN 在内的 6 个成骨相关基因的表达。据此可知, 引入锰能够协同 nHA 促进 BMSCs 在

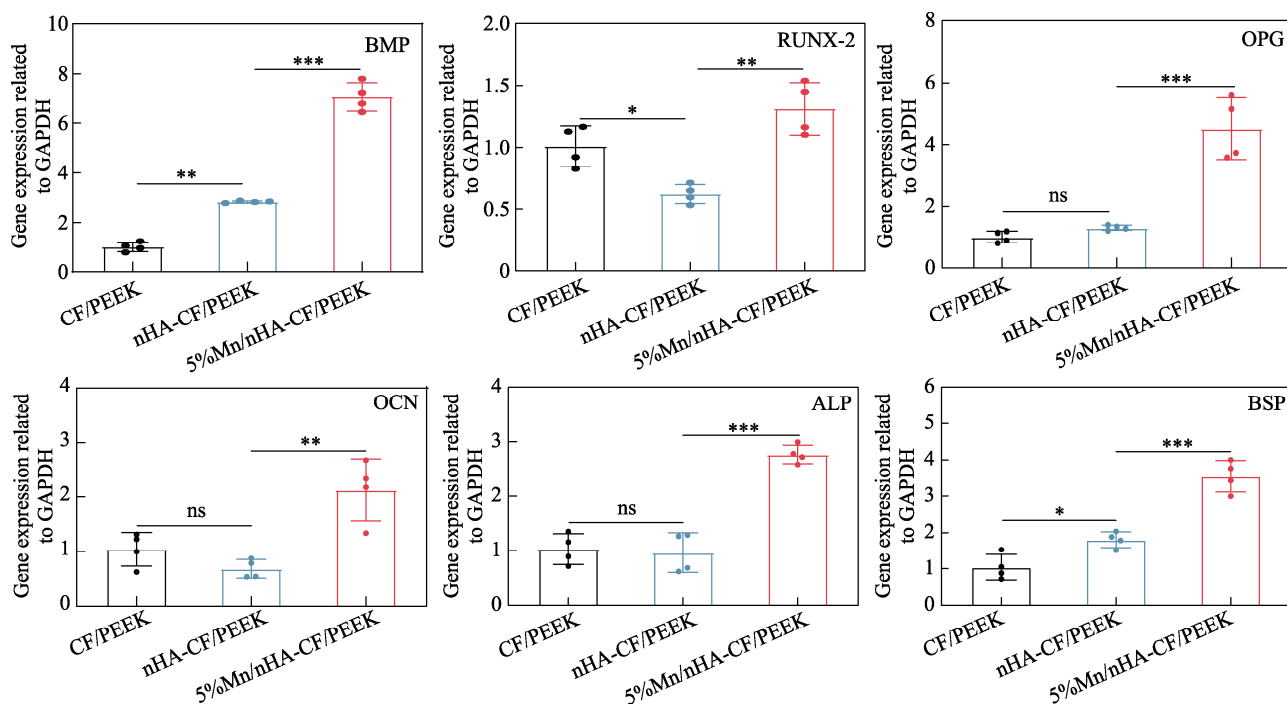


图 9 BMSCs 在 CF/PEEK、nHA-CF/PEEK 及 5%Mn/nHA-CF/PEEK 表面培养 4 d 的成骨相关基因表达
Fig. 9 Osteogenic gene expressions of BMSCs cultured on CF/PEEK, nHA-CF/PEEK and 5%Mn/nHA-CF/PEEK for 4 d

CF/PEEK 表面的成骨分化。大量先前研究也已证实,提升促矿化能力和成骨分化潜能对改善植入体骨整合性能至关重要,其不仅能够通过形成更多新生骨来增加骨接触面积,还能进一步强化新骨形成质量,协同提升骨整合强度^[32-33]。

3 结论

本研究通过液相化学处理和纳米粒子自组装策略,在 CF/PEEK 表面成功构建了 Mn/nHA 纳米涂层,赋予其更高粗糙度和亲水性。研究结果证实, Mn/nHA 纳米涂层不仅能够促进 BMSCs 在 CF/PEEK 表面的铺展和增殖,还能提升其促细胞矿化和成骨分化能力。本研究提出的无机纳米活性涂层构建策略为解决 CF/PEEK 生物活性不足和骨整合性不佳的难题提供了新的途径,具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] ZHENG W, WU D, ZHANG Y, *et al.* Multifunctional modifications of polyetheretherketone implants for bone repair: a comprehensive review. *Biomaterials Advances*, 2023, **154**: 213607.
- [2] CHEN J, CAO G, LI L, *et al.* Modification of polyether ether ketone for the repairing of bone defects. *Biomedical Materials*, 2022, **17**(4): 042001.
- [3] LONG J R, KALANI M A, GOULDING K A, *et al.* Carbon-fiber-reinforced polyetheretherketone orthopedic implants in musculoskeletal and spinal tumors: imaging and clinical features. *Skeletal Radiology*, 2023, **52**(3): 393.
- [4] ZHAO S, DONG W, WANG Y, *et al.* Chemical modification strategy to improve biological activity of carbon fiber-reinforced poly(ether ether ketone) implants. *ACS Applied Polymer Materials*, 2023, **5**(8): 6607.
- [5] YAMANE Y, YABUTSUKA T, TAKAOKA Y, *et al.* Surface modification of carbon fiber-polyetheretherketone composite to impart bioactivity by using apatite nuclei. *Materials*, 2021, **14**(21): 6691.
- [6] UEMATSU H, ARATAMA T, YAMAGUCHI A, *et al.* Influence of polyetheretherketone radicals on interfacial interaction with carbon fiber and crystal formation of polyetheretherketone at the interphase. *Surfaces and Interfaces*, 2024, **49**: 104409.
- [7] HASSAN E A M, ELAGIB T H H, MEMON H, *et al.* Surface modification of carbon fibers by grafting PEEK-NH₂ for improving interfacial adhesion with polyetheretherketone. *Materials*, 2019, **12**(5): 778.
- [8] LEE S, JEON I S, JHO J Y. Mechanical properties of polyetheretherketone composites with surface-modified hydroxyapatite nanofibers and carbon fibers. *Macromolecular Research*, 2022, **30**(4): 261.
- [9] HA S W, ECKERT K L, WINTERMANTEL E, *et al.* NaOH treatment of vacuum-plasma-sprayed titanium on carbon fibre-reinforced poly(etheretherketone). *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 1997, **8**(12): 881.
- [10] KONTOGIANI G I, COELHO C, GAUTHIER R, *et al.* Osteogenic potential of nano-hydroxyapatite and strontium-substituted nano-hydroxyapatite. *Nanomaterials*, 2023, **13**(12): 1881.
- [11] WAN Z, BAI X, WANG X, *et al.* MGP high-expressing MSCs orchestrate the osteoimmune microenvironment of collagen/nanohydroxyapatite-mediated bone regeneration. *Advanced Science*, 2024, **11**(23): e2308986.
- [12] HUANG Z, JIANG X, ZHANG L, *et al.* Multifunctional manganese-based nanogels catalyze immune energy metabolism to promote bone repair. *Composites Part B: Engineering*, 2025, **291**: 112005.
- [13] TASKOZHINA G, BATYROVA G, UMAROVA G, *et al.* The manganese-bone connection: investigating the role of manganese in bone health. *Journal of Clinical Medicine*, 2024, **13**(16): 4679.
- [14] PARK J W, TSUTSUMI Y, PARK E K. Osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells modulated by surface manganese chemistry in SLA titanium implants. *BioMed Research International*, 2022, **2022**(1): 5339090.
- [15] SETTLE E A, MRAZ F R, DOUGLAS C R, *et al.* Effect of diet and manganese level on growth, perosis and ⁵⁴Mn uptake in chicks. *The Journal of Nutrition*, 1969, **97**(1): 141.
- [16] ZHANG K, QI C, CAI K. Manganese-based tumor immunotherapy. *Advanced Materials*, 2023, **35**(19): e2205409.
- [17] HAASE H. Innate immune cells speak manganese. *Immunity*, 2018, **48**(4): 616.
- [18] WANG C, GUAN Y, LV M, *et al.* Manganese increases the sensitivity of the cGAS-STING pathway for double-stranded DNA and is required for the host defense against DNA viruses. *Immunity*, 2018, **48**(4): 675.
- [19] ZHANG R, WANG C, GUAN Y, *et al.* Manganese salts function as potent adjuvants. *Cellular & Molecular Immunology*, 2021, **18**(5): 1222.
- [20] LUN W, WANG H, LI M, *et al.* Fabrication of MnO₂-modified decellularized tendon membrane for enhancing tendon repair. *Advanced Healthcare Materials*, 2025, **14**(1): e2402584.
- [21] RAY S, YAXLEY G M, MILLER L A, *et al.* Monazite saturation in carbonatite melts at crustal and upper mantle conditions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2025, **393**: 1.
- [22] SILINGARDI F, SALAMANNA F, ESPAÑOL M, *et al.* Regulation of osteogenesis and angiogenesis by cobalt, manganese and strontium doped apatitic materials for functional bone tissue regeneration. *Biomaterials Advances*, 2024, **163**: 213968.
- [23] GUO Y, SUN Q, WU F G, *et al.* Polyphenol-containing nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic delivery. *Advanced Materials*, 2021, **33**(22): 2007356.
- [24] ZUO W, HUANG M R, SCHMITZ F, *et al.* Probing electrostatic and hydrophobic associative interactions in cells. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2024, **128**(44): 10861.
- [25] NAGAR H, SHARMA S. Role of surface functional groups in the adsorption behavior of microcystin-LR on graphene surfaces. *Chemosphere*, 2025, **374**: 144169.
- [26] ZHOU Z, ZHANG L, LI J, *et al.* Polyelectrolyte-calcium complexes as a pre-precursor induce biomimetic mineralization of collagen. *Nanoscale*, 2021, **13**(2): 953.
- [27] PAN P, HU Y, WANG C, *et al.* Abalone shells bioenhanced carboxymethyl chitosan/collagen/PLGA bionic hybrid scaffolds achieving biomineralization and osteogenesis for bone regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, **279**: 135018.
- [28] AVERY D, MORANDINI L, SHEAKLEY L S, *et al.* Canonical Wnt signaling enhances pro-inflammatory response to titanium by macrophages. *Biomaterials*, 2022, **289**: 121797.
- [29] VROMAN L. Effect of absorbed proteins on the wettability of hydrophilic and hydrophobic solids. *Nature*, 1962, **196**(4583): 476.
- [30] NGUYEN T T, JANG Y S, KIM Y K, *et al.* Osteogenesis-related gene expression and guided bone regeneration of a strontium-doped calcium-phosphate-coated titanium mesh. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2019, **5**(12): 6715.
- [31] YANG S, NING G, HOU Y, *et al.* Myoneurin regulates BMP signaling by competing with Ppmla for Smad binding. *iScience*, 2022, **25**(6): 104495.
- [32] YANG X, ZHANG D, LIU G, *et al.* Bioinspired from mussel and salivary acquired pellicle: a universal dual-functional polypeptide coating for implant materials. *Materials Today Chemistry*, 2019, **14**: 100205.
- [33] WANG H, LIN C C, ZHANG X R, *et al.* Mussel-inspired polydopamine coating: a general strategy to enhance osteogenic differentiation and osseointegration for diverse implants. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, **11**(7): 7615.