

## 经聚多巴胺涂层的羟基磷灰石生物陶瓷具有亲水性与细胞黏附性

<https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.3234>何林<sup>1</sup>, 吴稀<sup>2</sup>, 何淞<sup>2</sup>, 杨森<sup>1</sup>

2095-4344.3234

投稿日期: 2020-07-10

送审日期: 2020-07-11

采用日期: 2020-08-11

在线日期: 2020-12-03

中图分类号:

R459.9; R318.08; R78

文章编号:

2095-4344(2021)22-03540-05

文献标识码: B

## 文章快速阅读:

## 文章特点一

△将取材更加容易的人根尖乳头干细胞与临床广泛应用的骨修复材料羟基磷灰石生物陶瓷, 通过生物安全性高的聚多巴胺涂层结合, 探讨新型骨移植材料的理化性能和细胞毒性。

羟基磷灰石

聚多巴胺涂层

聚多巴胺-羟基磷灰石

扫描电镜

光学接触角测量仪

激光共聚焦

CCK-8

平均孔径, 孔隙率

亲水性

人根尖乳头干细胞黏附力

细胞毒性

## 文题释义:

**聚多巴胺:** 可以通过多巴胺氧化自聚生成, 是一种天然黑色素, 具有良好的生物相容性, 不会引起免疫排斥反应, 而且其化学结构类似海洋贻贝分泌的黏蛋白, 其中的邻苯二酚基团具有超强的黏附性能, 可在多种材料表面甚至超疏水材料的表面进行超强黏附, 已被应用于改善金属、陶瓷、半导体、纤维等多种有机材料和无机材料的表面性能。

**人根尖乳头干细胞:** 为从人牙根尖尚未形成的第三磨牙根部牙乳头组织中分离出的成体干细胞, 是一种间充质干细胞, 与骨髓干细胞相比拥有更强的组织再生能力, 与其他间充质干细胞相比其取材较方便, 能变废为宝, 更有临床应用价值。

## 摘要

**背景:** 骨移植材料是目前研究的要点和难点, 羟基磷灰石具有良好的生物相容性与降解性, 但人工合成的羟基磷灰石机械性能差且缺乏骨诱导性能, 将根尖乳头干细胞与临床广泛应用的骨修复材料羟基磷灰石生物陶瓷结合更接近于临床运用。

**目的:** 观察羟基磷灰石生物陶瓷经聚多巴胺涂层后的理化性能和细胞毒性变化。

**方法:** 将羟基磷灰石生物陶瓷置于多巴胺-Tris缓冲液中制备聚多巴胺涂层羟基磷灰石生物陶瓷, 以未涂层羟基磷灰石生物陶瓷为对照, 检测两种陶瓷的平均孔径、孔隙率和水滴接触角。将第3代人根尖乳头干细胞分别接种于两种陶瓷表面, 培养15 min后, 倒置显微镜与激光共聚焦显微镜下观察细胞黏附情况; 培养1, 3, 5, 7 d后, 采用CCK-8法检测细胞毒性。

**结果与结论:** ①涂层前后羟基磷灰石生物陶瓷的平均孔径、孔隙率比较差异无显著性意义( $P > 0.05$ ), 经聚多巴胺涂层后生物陶瓷表面的颗粒更细, 表面更加平整; ②经聚多巴胺涂层生物陶瓷的接触角低于未涂层生物陶瓷( $P < 0.001$ ); ③倒置显微镜显示, 未涂层生物陶瓷的细胞爬片周围散在分布人根尖乳头干细胞, 聚多巴胺涂层的细胞爬片周围无散在细胞, 人根尖乳头干细胞均匀黏附在其表面; 激光共聚焦显微镜显示, 与未涂层生物陶瓷的细胞爬片相比, 聚多巴胺涂层细胞爬片表面的人根尖乳头干细胞体积更大、伸展更加充分, 细胞触角更加明显; ④两种陶瓷上培养不同时间点的人根尖乳头干细胞相对增殖率均在75%以上, 细胞毒性0-1级; ⑤结果表明与未涂层羟基磷灰石生物陶瓷相比, 经聚多巴胺涂层羟基磷灰石生物陶瓷具有更好的亲水性与细胞黏附性。

**关键词:** 材料; 口腔; 聚多巴胺; 羟基磷灰石; 生物陶瓷; 人根尖乳头干细胞; 细胞毒性; 亲水性; 黏附

## Hydrophilicity and cell adhesion of hydroxyapatite bioceramics after the coating of polydopamine

He Lin<sup>1</sup>, Wu Xi<sup>2</sup>, He Song<sup>2</sup>, Yang Sen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dental Center of Suining Central Hospital, Suining 629000, Sichuan Province, China; <sup>2</sup>Stomatological Hospital Affiliated to Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

He Lin, Master, Physician, Dental Center of Suining Central Hospital, Suining 629000, Sichuan Province, China

**Corresponding author:** Yang Sen, MD, Master's supervisor, Associate chief physician, Dental Center of Suining Central Hospital, Suining 629000, Sichuan Province, China

<sup>1</sup>遂宁市中心医院口腔医学中心, 四川省遂宁市 629000; <sup>2</sup>西南医科大学附属口腔医院, 四川省泸州市 646000

**第一作者:** 何林, 女, 1993年生, 四川省会理县人, 汉族, 硕士, 医师, 主要从事口腔临床医学(口腔正畸学)研究。

**通讯作者:** 杨森, 博士, 硕士生导师, 副主任医师, 遂宁市中心医院口腔医学中心, 四川省遂宁市 629000

<https://orcid.org/0000-0003-0036-7550> (何林)

**基金资助:** 中华口腔医学会西部行口腔医学临床科研基金(CSA-W-2016-01), 项目负责人: 杨森; 四川惠民口腔健康推广中心(SCHMKQ-KF-002), 项目负责人: 杨森

**引用本文:** 何林, 吴稀, 何淞, 杨森. 经聚多巴胺涂层的羟基磷灰石生物陶瓷具有亲水性与细胞黏附性[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(22):3540-3544.



## Abstract

**BACKGROUND:** Bone graft materials are the key points and difficulties in current research. Hydroxyapatite has good biocompatibility and degradation. However, the mechanical properties of synthetic hydroxyapatite are poor and lack of osteoinductive properties. It is more close to clinical application to combine the more easily obtained apical papilla stem cells with hydroxyapatite bioceramics, which is widely used in clinical bone repair.

**OBJECTIVE:** To observe the physicochemical properties and cytotoxicity of hydroxyapatite bioceramics coated with polydopamine.

**METHODS:** Polydopamine-hydroxyapatite bioceramics were prepared by placing hydroxyapatite bioceramics in dopamine Tris buffer solution. Uncoated hydroxyapatite bioceramics were used as control. The average pore diameter, porosity and contact angle of water droplets of polydopamine coated hydroxyapatite bioceramics and uncoated hydroxyapatite bioceramics were measured. The third generation of human apical papilla stem cells was inoculated on the two kinds of ceramic surfaces respectively. After 15 minutes of culture, the cell adhesion was observed under inverted microscope and laser confocal microscope. After 1, 3, 5 and 7 days of culture, the cytotoxicity was detected by CCK-8 assay.

**RESULTS AND CONCLUSION:** (1) There was no significant difference in the average pore size and porosity of hydroxyapatite bioceramics before and after coating ( $P > 0.05$ ). The particles on the surface of polydopamine coated hydroxyapatite bioceramics were larger and the surface of polydopamine coated hydroxyapatite bioceramics was more flat. (2) The contact angle of polydopamine coated hydroxyapatite bioceramics was lower than that of uncoated hydroxyapatite bioceramics ( $P < 0.001$ ). (3) Inverted microscope showed that human apical papilla stem cells were scattered around the uncoated cell slides, but not around the coated cell slides; and uniformly adhered human root tip papilla stem cells were observed on the surface of polydopamine coated cell slides. Laser confocal microscopy showed that compared with uncoated cell slides, the volume of human apical papilla stem cells on the surface of polydopamine coated cell climbing tablets was larger, more fully extended, and cell antennae were more obvious. (4) The relative proliferation rates of human apical papilla stem cells cultured at different time points on the two scaffolds were above 75%, and the cytotoxicities were 0–1 grade. (5) The results showed that compared with uncoated hydroxyapatite bioceramics, polydopamine coated hydroxyapatite bioceramics had better hydrophilicity and cell adhesion.

**Key words:** materials; oral cavity; polydopamine; hydroxyapatite; bioceramics; human apical papilla stem cells; cytotoxicity; hydrophilicity; adhesion

**Funding:** the Clinical Research Fund of Stomatology in Western China of Chinese Stomatological Association, No. CSA-W-2016-01 (to YS); the Sichuan Huimin Oral Health Promotion Center, No. SCHMKQ-KF-002 (to YS)

**How to cite this article:** HE L, WU X, HE S, YANG S. Hydrophilicity and cell adhesion of hydroxyapatite bioceramics after the coating of polydopamine. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2021;25(22):3540-3544.

## 0 引言 Introduction

目前多种疾病如唇腭裂、炎症、创伤、颌骨囊肿、肿瘤等均会造成骨的缺损, 治疗不当会严重影响外观和功能, 骨移植材料是目前研究的要点和难点<sup>[1]</sup>。羟基磷灰石具有良好的生物相容性与降解性, 但人工合成的羟基磷灰石质脆、机械性能差且亲水性能有限, 细胞黏附能力和生物活性受限, 缺乏骨诱导性能<sup>[2]</sup>, 临床运用时常将其与自身骨混合使用, 但还是存在容易吸收或感染等问题。诸多学者通过将其纳米化<sup>[3]</sup>、或与有机物、无机物等结合起到取长补短的作用<sup>[4-6]</sup>, 是骨组织工程中的研究热点。聚多巴胺是一种天然黑色素, 具有良好的生物相容性, 不会引起免疫排斥反应<sup>[8-10]</sup>, 而且其化学结构类似海洋贻贝分泌的黏蛋白, 其中的邻苯二酚基团具有超强的黏附性能, 可在多种材料表面甚至超疏水材料表面进行超强黏附, 已被应用于改善金属、陶瓷、半导体、纤维等多种有机材料和无机材料的表面性能<sup>[11-13]</sup>。目前聚多巴胺涂层的应用多见于纤维和化学合成材料, 如甘氨酸乙酯、丙氨酸乙酯、聚乳酸等<sup>[14-16]</sup>。相关学者研究的干细胞主要集中在间充质干细胞、脂肪干细胞<sup>[11-13]</sup>。相比以往的研究, 此次实验采用人根尖乳头干细胞, 取材更加容易, 可以从患者第三磨牙中提取, 变废为宝, 更具有临床应用价值; 采用临床常用的骨修复材料——羟基磷灰石生物陶瓷, 更加接近于临床运用, 在羟基磷灰石生物陶瓷表面进行聚多巴胺涂层, 探讨涂层前后羟基磷灰石生物陶瓷的理化性能及细胞毒性变化, 以期聚多巴胺-羟基磷灰石支架在组织工程中的应用及后期聚多巴胺涂层作为中介黏附、缓释其他因子的体内外研究提供实验依据。

## 1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 体外观察性实验。

1.2 时间及地点 实验于2019年1月至2020年4月在西南医科大学中心实验室、遂宁市中心医院内科九楼基础实验室

完成。

1.3 材料 羟基磷灰石生物陶瓷(四川大学生物材料工程研究中心); Tris-HCl(pH=8.5, Beyotime); DEPC水(VICMED); 细胞爬片(靛宜); DAPI溶液、盐酸多巴胺、罗丹明标记鬼笔环肽(Solarbio); I型胶原酶、胰酶消化液(Gibco); Dispase II(SIGMA); 进口胎牛血清(Sciencell); 液体培养基 $\alpha$ -MEM(HyClone); CCK-8试剂盒(东仁化学科技); 超声波清洗器(宁波新芝); 临界点干燥仪K850(英国Quorum); 离子溅射装置E-1045(日本); 扫描电子显微镜Inspect(美国FEI公司); 光学接触角测量仪SDC-100(东莞市晟鼎精密仪器有限公司); 多功能酶标仪(德国BMG Labtech); 激光共聚焦显微镜(德国Leica)。

1.4 实验方法

1.4.1 聚多巴胺-羟基磷灰石生物陶瓷的制备 按2 g/L质量浓度配置多巴胺-Tris缓冲液, 将羟基磷灰石生物陶瓷(直径10 mm, 厚1 mm)高温高压灭菌后置于多巴胺-Tris缓冲液中, 缓冲液刚好淹没样品。在25℃、无光、常氧条件下震荡摇匀, 反应24 h后去离子水超声洗涤3次, 总共10 min, 吹干备用。

1.4.2 陶瓷平均孔径和孔隙率检测 将聚多巴胺涂层前后的羟基磷灰石生物陶瓷分别粘在导电胶上, 临界点干燥, 真空喷镀, 扫描电镜下随机选择5个位置, 分别在300, 1 000, 2 000倍下扫描拍照, 观测聚多巴胺涂层前后陶瓷的形态, 将放大300倍的扫描电镜图像进行二值化处理, 近似得到面孔隙率, 根据公式计算平均孔径: 平均孔径 = 面积 × 面孔隙率 / 面孔数, 取平均值。

1.4.3 陶瓷水滴接触角检测 将聚多巴胺涂层前后的羟基磷灰石支架分别静置于光学接触角测量仪SDC-100上, 滴4  $\mu$ L蒸馏水, 测量接触角, 分析涂层前后陶瓷的亲水性变化。

1.4.4 人根尖乳头干细胞的分离培养 废弃的第三磨牙来自14–18岁健康的青少年, 牙根还未彻底形成, 无牙体牙髓、牙周损坏, 供者及其家属签署了实验知情同意书。采用

改良组织块法培养根尖乳头干细胞，方法为：将牙乳头剪成 1 mm×1 mm×1 mm 大小，采用 3 g/L I 型胶原酶和 4 g/L Dispase 酶按 1 : 1 消化处理半小时，70 μm 滤网过滤，离心、培养、换液，待细胞长到 80%–90% 时传代。取第 3 代根尖乳头干细胞进行流式细胞表面抗原检测鉴定，检测 STRO-1、CD90、CD146、CD34、CD45 的表达，该检测已在前期研究中进行并证实了分离的细胞为干细胞<sup>[17]</sup>。

**1.4.5 聚多巴胺涂层对细胞黏附力的影响** 第 3 代人根尖乳头干细胞以  $1 \times 10^5/\text{mm}^3$  的密度接种于未涂层陶瓷与聚多巴胺涂层的细胞爬片上，15 min 后，倒置显微镜下察看细胞爬片及周围人根尖乳头干细胞的黏附、聚集情况；鬼笔环肽红染细胞骨架，激光共聚焦显微镜下观察细胞形态及其伸展情况；DAPI 蓝染细胞核，200 倍下随机记录每组各 5 个镜下数目，取平均值。

**1.4.6 聚多巴胺涂层的细胞毒性检测** 将羟基磷灰石陶瓷、聚多巴胺-羟基磷灰石陶瓷置于 96 孔板底，随后接种第 3 代人根尖乳头干细胞，接种密度为  $1 \times 10^4$ /孔，以单纯培养的细胞为空白组，每组 7 个样本。α-MEM 培养基培养 1, 3, 5, 7 d 后去除培养液，PBS 洗涤 3 次，每孔中各加入 100 μL 培养基，避光加入 10 μL CCK-8 液，37 °C 避光处理 1 h，静置，小心吸取出培养基，转移至新 96 孔板，以空白孔 (培养基) 调零，放置于酶标仪中测量 450 nm 处的 A 值，按公式计算细胞相对增殖率，细胞相对增殖率 = 实验组平均 A 值 / 空白组平均 A 值 × 100%，计算得到每组的相对增殖率。

按照相对增殖率所对应的毒性分为：100% 为 0 级，75%–99% 为 1 级，50%–74% 为 2 级，25%–49% 为 3 级，1%–24% 为 4 级，0% 为 5 级。如果最终测得的毒性为 0 或 1 级，说明材料的细胞毒性低，生物相容性良好；如果最终测得的毒性为 2 级，则需要配合观察分析细胞的形态判断；如果最终测得的毒性为 3–5 级，说明材料的细胞毒性高，生物相容性差。

**1.5 主要观察指标** 羟基磷灰石生物陶瓷经聚多巴胺涂层后的理化性能和细胞毒性变化。

**1.6 统计学分析** 数据的分析和处理均使用统计分析软件 SPSS 17.0，两者对比用 t 检验， $P < 0.05$  代表差异有显著性意义。

## 2 结果 Results

**2.1 涂层前后陶瓷的微观形貌** 经聚多巴胺涂层后羟基磷灰石生物陶瓷由白色变为棕褐色。涂层前后的羟基磷灰石生物陶瓷表面均凹凸不平，疏松多孔成蜂窝状，但羟基磷灰石生物陶瓷经聚多巴胺涂层后其表面的细屑颗粒更大，表面更加平整，详见图 1。未涂层陶瓷的平均孔径为  $(183.27 \pm 15.50) \mu\text{m}$ ，孔隙率为  $(58.92 \pm 2.41)\%$ ；经聚多巴胺涂层后陶瓷的平均孔径为  $(182.58 \pm 17.25) \mu\text{m}$ ，孔隙率为  $(57.27 \pm 2.19)\%$ ，陶瓷涂层前后的平均孔径、孔隙率比较差异均无显著性意义 ( $P > 0.05$ )。

**2.2 涂层前后陶瓷的亲水性** 未涂层陶瓷的接触角为  $21.708^\circ$ ，经聚多巴胺涂层后陶瓷的接触角为  $7.561^\circ$ ，见图 2，可见涂层后陶瓷的亲水性明显增加，表现出超强亲水性。

**2.3 涂层前后陶瓷的细胞黏附** 普通倒置显微镜下可见，未涂层陶瓷的细胞爬片周围散在分布人根尖乳头干细胞，聚多巴胺涂层的细胞爬片上人根尖乳头干细胞较聚集，爬片周围几乎无人根尖乳头干细胞，见图 3；聚多巴胺涂层的细胞爬片上人根尖乳头干细胞较未涂层陶瓷细胞爬片上的体积更大、更加充分伸展，细胞触角更加明显，见图 4；聚多巴胺涂层细胞爬片上的细胞数明显高于未涂层组  $(28.96 \pm 1.78, 11.94 \pm 2.67, P < 0.001)$ 。

**2.4 涂层前后陶瓷的细胞毒性** 在两种陶瓷上培养 1, 3, 5, 7 d 时，人根尖乳头干细胞的相对增殖率均在 75%–100% 之间，可见聚多巴胺涂层前后陶瓷均为 1 级毒性，见表 1，并且羟基磷灰石陶瓷组和聚多巴胺-羟基磷灰石陶瓷组不同时间点的 A 值比较差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ )，见图 5。

表 1 | 各组细胞的 A 值与相对增殖度

Table 1   Absorbance value and relative proliferation of cells in each group		A 值 ( $\bar{x} \pm s$ )	细胞增殖度 (%)	毒性分级
1 d	空白组	0.42±0.03	100	0
	羟基磷灰石组	0.34±0.03	80.04	1
	聚多巴胺-羟基磷灰石组	0.33±0.03	78.30	1
3 d	空白组	0.76±0.10	100	0
	羟基磷灰石组	0.64±0.12	83.27	1
	聚多巴胺-羟基磷灰石组	0.62±0.12	81.50	1
5 d	空白组	1.60±0.21	100	0
	羟基磷灰石组	1.42±0.25	88.76	1
	聚多巴胺-羟基磷灰石组	1.40±0.31	87.25	1
7 d	空白组	1.97±0.42	100	0
	羟基磷灰石组	1.82±0.46	92.04	1
	聚多巴胺-羟基磷灰石组	1.85±0.44	93.62	1

## 3 讨论 Discussion

聚多巴胺是一种天然的黑色素，所以聚多巴胺涂层使羟基磷灰石陶瓷由白色变为棕褐色，与以往的研究相一致<sup>[18-21]</sup>。聚多巴胺涂层后的细胞爬片周围几乎无散在细胞，细胞均黏附于爬片上，且其上细胞数目明显多于未涂层组，说明聚多巴胺涂层能明显提高细胞的黏附能力，这应与聚多巴胺的化学结构中所含的邻苯二酚基团相关，但这种促进细胞附着聚集的现象是否与相关因子信号方面有关还需要后续进一步的研究。虽然大多学者研究认为聚多巴胺涂层较稳定，但有学者用高效液相色谱法检测惊奇地发现，羟基磷灰石硅胶酸钙会释放出多巴胺到周围的组织液中<sup>[22]</sup>；而且有研究发现，多巴胺能够通过 D2 受体抑制破骨相关基因、促炎因子表达，达到明显抑制破骨细胞的作用<sup>[23]</sup>。有研究发现，小鼠胚胎成骨细胞前体细胞会表达多巴胺 D1、D2、D3、D4、D5 受体的 mRNA 和蛋白，且 D1、D3、D5 受体抑制剂能抑制成骨基因的表达，可见聚多巴胺并不是生物惰性的<sup>[24]</sup>。

羟基磷灰石支架经聚多巴胺涂层后其孔隙间隔、孔隙内的颗粒细屑更大，表面更加平整，可能因为聚多巴胺涂层使颗粒细屑黏合变大，使陶瓷表面粗糙度降低，从而增加了陶瓷的亲水性能，有利于提高陶瓷的生物相容性。虽然陶瓷经聚多巴胺涂层后孔径仍偏大，但聚多巴胺涂层后可解决孔径过大不利于细胞长入支架内部的难题<sup>[25-26]</sup>，且提供了更广泛

的三维立体生长空间,供干细胞黏附、生长并有利于细胞代谢废物与细胞所需营养物质的运输,利于细胞的生长。

在两种陶瓷上培养 1, 3, 5, 7 d 后,人根尖乳头干细胞细胞的增殖度均较高,细胞毒性实验结果均表明:羟基磷灰石生物陶瓷涂层前后的细胞毒性无明显变化,均为 1 级毒性,可能是因为刚开始培养细胞期间陶瓷会释放出一些偏碱性离子,相较空白组不利于细胞生长,但还是可认为聚多巴胺涂层前后陶瓷均有良好生物安全性<sup>[27]</sup>,随着在 37 °C、体积分数 5%CO<sub>2</sub> 环境下培养中和碱性加上细胞培养基的替换,后面可看出细胞在陶瓷上的增殖有上升趋势。作者认为仅聚多巴胺涂层不能促细胞增殖,但目前有学者在其他材料上通过聚多巴胺涂层间接黏附其他生长因子以促进细胞的增殖、分化<sup>[28]</sup>。后期实验可通过 3D 打印方式使细胞按照相应骨缺损处的形态生长,更好地满足个体化骨缺损的需求;通过聚多巴胺涂层间接黏附相关生长因子,进一步提高材料的生物性能;结合动物实验进一步检查材料的生物安全性及生物性能。

综上所述,聚多巴胺涂层可改善羟基磷灰石的理化性能,使其表面更加平整、光滑,增加其亲水性能及细胞黏附能力,保持良好生物相容性,具有较好的运用价值。

**作者贡献:** 何林、杨森进行实验设计,实验实施为何林,实验评估为何林、何焘,资料收集为何林、吴稀,何林成文,杨森审核。

**经费支持:** 该文章接受了“中华口腔医学会西部行口腔医学临床科研基金(CSA-W-2016-01)及四川惠民口腔健康推广中心(SCHMKQ-KF-002)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

**利益冲突:** 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**写作指南:** 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

**文章查重:** 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

**文章外审:** 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

**生物统计学声明:** 该文统计学方法已经遂宁市中心医院生物统计学专家——朱小凤博士审核。

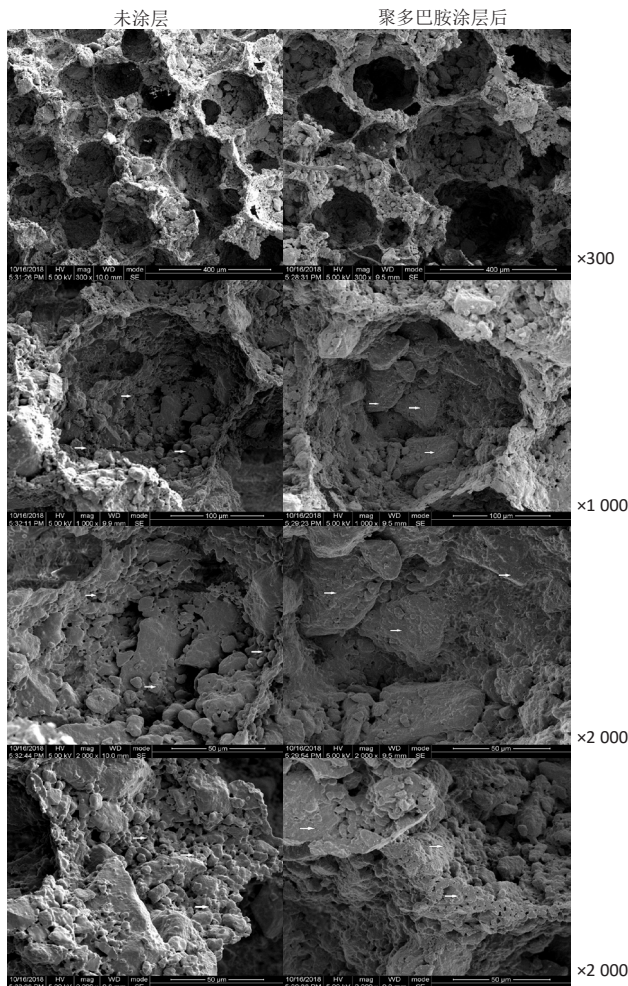
**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

#### 4 参考文献 References

- [1] 秦宇星,任前贵,沈佩锋.组织工程骨技术治疗骨缺损的优越性[J].中国组织工程研究,2020,24(24):3877-3882.
- [2] 赵灿灿.微纳米结构羟基磷灰石对骨髓间充质干细胞成骨分化的调控研究[D].北京:中国科学院大学(中国科学院上海硅酸盐研究所),2018.
- [3] ATAK BH, BUYUK B, HUYSAL M, et al. Preparation and characterization of amine functional nano-hydroxyapatite/chitosan bionanocomposite for bone tissue engineering applications. Carbohydr Polym. 2017;164: 200-213.

- [4] SALGADO CL, GRENHO L, FERNANDES MH, et al. Biodegradation, biocompatibility, and osteoconduction evaluation of collagen-nanohydroxyapatite cryogels for bone tissue regeneration. J Biomed Mater Res A. 2016;104(1):57-70.
- [5] KAMALI A, ORYAN A, HOSSEINI S, et al. Cannabidiol-loaded microspheres incorporated into osteoconductive scaffold enhance mesenchymal stem cell recruitment and regeneration of critical-sized bone defects. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2019;101:64-75.
- [6] SHEN X, ZHANG Y, GU Y, et al. Sequential and sustained release of SDF-1 and BMP-2 from silk fibroin-nanohydroxyapatite scaffold for the enhancement of bone regeneration. Biomaterials. 2016;106: 205-216.
- [7] AMJADIAN S, SEYEDJAFARI E, ZEYNALI B, et al. The synergistic effect of nano-hydroxyapatite and dexamethasone in the fibrous delivery system of gelatin and poly(L-lactide) on the osteogenesis of mesenchymal stem cells. Int J Pharm. 2016;507(1-2):1-11.
- [8] SIMON JD, PELES DN. The red and the black. Accounts Chem Res. 2010; 43(11):1452.
- [9] WATT AAR, BOTHMA JP, MEREDITH P. The supramolecular structure of melanin. Soft Matter. 2009;5(19):3754.
- [10] LIU YL, AI KL, LIU JH, et al. Dopamine-melanin colloidal nanospheres: An efficient near-infrared photothermal therapeutic agent for in vivo cancer therapy. Adv Mater. 2013;25(9):1353.
- [11] LUO RF, TANG LL, WANG J, et al. Improved immobilization of biomolecules to quinone-rich polydopamine for efficient surface functionalization. Colloids Surf B Biointerfaces. 2013;106:66.
- [12] CHO HJ, PERIKAMANA SK, LEE JH, et al. Effective immobilization of BMP-2 mediated by polydopamine coating on biodegradable nanofibers for enhanced in vivo bone formation. ACS Appl Mater Interfaces. 2016;6(14):11225.
- [13] LEE JS, LEE K, MOON SH, et al. Mussel-inspired cell-adhesion peptide modification for enhanced endothelialization of decellularized blood vessels. Macromol Biosci. 2014;14(8):1181.
- [14] 李琰.基于生物粘附分子表面改性的组织修复材料研究[D].北京:北京化工大学,2013.
- [15] RIM NG, KIM SJ, SHIN YM, et al. Mussel-inspired surface modification of poly(L-lactide) electrospun fibers for modulation of osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. Colloids Surf B Biointerfaces. 2012;91:189-197.
- [16] KAO CT, LIN CC, CHEN YW, et al. Poly (dopamine) coating of 3D printed poly (lactic acid) scaffolds for bone tissue engineering. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2015;56:165-173.
- [17] 何林,何焘,吴稀,等.人根尖乳头干细胞在羟基磷灰石和聚多巴胺-羟基磷灰石上的粘附、增殖及成骨分化[J].口腔医学研究,2020,36(6):523-526.
- [18] 王振兴.基于多巴胺的聚偏氟乙烯膜表面亲水化改性及性能研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2017.
- [19] 奚江波.高性能负载型钨基纳米催化剂的制备及其应用[D].武汉:华中科技大学,2015.
- [20] 高军凯.新型吸附材料的制备及其对溶液中铀的净化研究[D].天津:天津大学,2015.
- [21] 陈丽娟.抗蛋白质吸附聚合物接枝聚多巴胺涂层的设计及其应用[D].合肥:中国科学技术大学,2013.
- [22] KO CC, WANG Z, TSENG HC, et al. Design, synthesis, and evaluation of polydopamine-laced gelatinous hydroxyapatite nanocomposites for orthopedic applications. Advances in Bioceramics and Biotechnologies II: Ceramic Transactions. 2014:135-148.



图注：涂层前后的羟基磷灰石生物陶瓷表面均凹凸不平，疏松多孔成蜂窝状，但羟基磷灰石生物陶瓷经聚多巴胺涂层后其表面的细屑颗粒更大，表面更加平整，箭头所指为陶瓷表面颗粒

图 1 | 涂层前后羟基磷灰石生物陶瓷的微观结构 (扫描电镜)

Figure 1 | Microstructure of hydroxyapatite bioceramics before and after coating (scanning electron microscope)

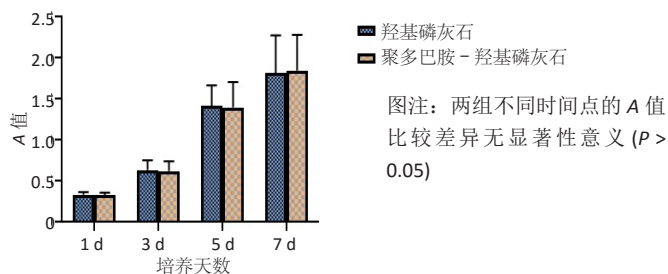
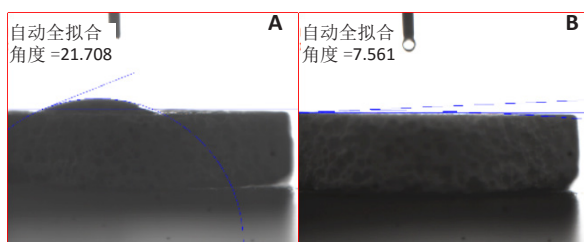


图 5 | 人根尖乳头干细胞在羟基磷灰石和聚多巴胺-羟基磷灰石陶瓷上的增殖

Figure 5 | Proliferation of human apical papilla stem cells on hydroxyapatite and polydopamine hydroxyapatite ceramics

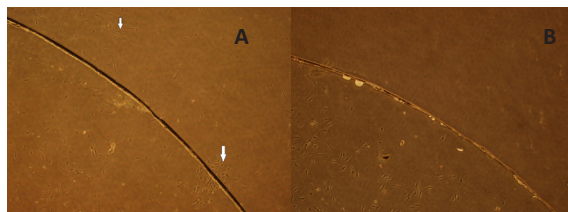
[23] YANG H, XU Y, ZHU M, et al. Inhibition of titanium-particle-induced inflammatory osteolysis after local administration of dopamine and suppression of osteoclastogenesis via D2-like receptor signaling pathway. *Biomaterials*. 2016;80: 1-10.

[24] LEE DJ, TSENG HC, WONG SW, et al. Dopaminergic effects on in vitro osteogenesis. *Bone Res*. 2015;3: 15020.



图注：A 为未涂层陶瓷的接触角，B 为经聚多巴胺涂层陶瓷的接触角

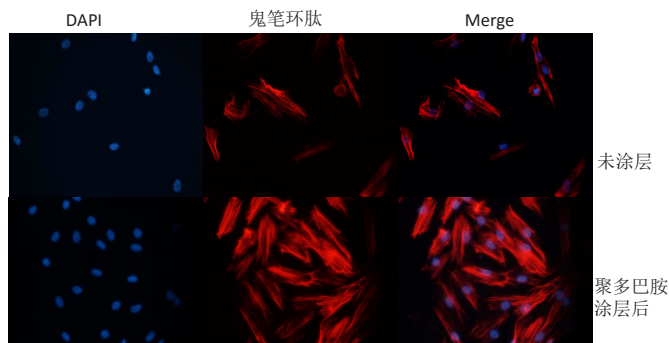
图 2 | 涂层前后羟基磷灰石生物陶瓷的接触角



图注：A 为未涂层陶瓷的细胞爬片，周围散在分布人根尖乳头干细胞，见箭头示；B 为聚多巴胺涂层的细胞爬片，人根尖乳头干细胞较聚集，爬片周围几乎无人根尖乳头干细胞

图 3 | 人根尖乳头干细胞在涂层前后羟基磷灰石生物陶瓷表面的黏附 (光镜,  $\times 40$ )

Figure 3 | Adhesion of human apical papilla stem cells to hydroxyapatite bioceramics before and after coating (light microscope,  $\times 40$ )



图注：聚多巴胺涂层的细胞爬片上的人根尖乳头干细胞较未涂层陶瓷细胞爬片上的体积更大、更加充分伸展，细胞触角更加明显

图 4 | 人根尖乳头干细胞在涂层前后羟基磷灰石生物陶瓷表面的黏附 (荧光染色,  $\times 200$ )

Figure 4 | Adhesion of human apical papilla stem cells on the surface of hydroxyapatite bioceramics before and after coating (fluorescent staining,  $\times 200$ )

[25] BUIZIER AT, VELDTHUIZEN AG, BULSTRA SK, et al. Static versus vacuum cell seeding on high and low porosity ceramic scaffolds. *Biomater Appl*. 2014;29(1):3-13.

[26] 聂姗姗, 刘佳, 张瑞涵, 等. 牙髓干细胞 MHC 分子表达与体外混合淋巴细胞的增殖 [J]. *中国组织工程研究*, 2014,18(50):8162-8167.

[27] 任俊臣. 多孔羟基磷灰石支架表面微纳米结构的构建及其表征 [D]. 成都: 西南交通大学, 2016.

[28] TU MG, HO CC, HSU TT, et al. Mineral Trioxide Aggregate with Mussel-inspired Surface Nanolayers for Stimulating Odontogenic Differentiation of Dental Pulp Cells. *J Endod*. 2018;44(6):963-970.

(责任编辑: GW, ZN, DL)