

光/磁热 $\text{Fe}_2\text{SiO}_4/\text{Fe}_3\text{O}_4$ 双相生物陶瓷及其 复合电纺丝膜制备及抗菌性能研究

盛丽丽^{1,2}, 常江^{1,2}

(1. 中国科学院 上海硅酸盐研究所 高性能陶瓷与超微结构国家重点实验室, 上海 200050; 2. 中国科学院大学 材料与光电研究中心, 北京 100049)

摘要: 兼具抗菌和组织修复活性的生物材料在再生医学领域具有广阔的应用前景。以光热和磁热为基础的热疗技术都具有抗菌作用, 但光的穿透能力有限, 磁热试剂的热转换效率较低, 限制了其在生物医学领域的应用。本研究合成了 $\text{Fe}_2\text{SiO}_4/\text{Fe}_3\text{O}_4$ 双相复合生物陶瓷粉体, 不仅同时具有良好的光热和磁热效应, 还能有效释放活性的铁和硅酸根离子。用陶瓷粉体与明胶/聚己内酯复合制备的电纺丝膜不仅具有良好的细胞相容性, 而且具有光热和磁热效应。复合膜在相对温和的条件下近红外光(808 nm , $0.36\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$)与交变磁场(506 kHz , $837\text{ A}\cdot\text{m}^{-1}$)同时处理 15 min 后, 与单独近红外光或磁场热处理相比, 具有更强的细菌抑制活性。因此, 这种集光热、磁热功能于一体且具有细胞相容性的 Fe-Si 基生物陶瓷及其复合材料在再生医学领域具有潜在的应用前景。

关键词: Fe; 硅酸盐; 双相生物陶瓷; 静电纺丝; 抗菌性能

中图分类号: TQ174 文献标志码: A

Photo/Magnetic Thermal $\text{Fe}_2\text{SiO}_4/\text{Fe}_3\text{O}_4$ Biphasic Bioceramic and Its Composite Electrospun Membrane: Preparation and Antibacterial

SHENG Lili^{1,2}, CHANG Jiang^{1,2}

(1. State Key Laboratory of High Performance Ceramics and Superfine Microstructure, Shanghai Institute of Ceramics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China; 2. Center of Materials Science and Optoelectronics Engineering, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Biomaterials with both antibacterial and tissue repair activity have promising applications in the field of regenerative medicine. Both photothermal and magnetothermal-based techniques have antimicrobial effects, but the limited penetration capacity of light and the low thermal conversion efficiency of magnetothermal reagents limit their applications in biomedical fields. Here, we synthesized $\text{Fe}_2\text{SiO}_4/\text{Fe}_3\text{O}_4$ biphasic composite bioceramic powders, which not only display good photothermal and magnetothermal effects, but also effectively release active Fe and silicate ions, and prepared electrospun membranes by combining ceramic powders with gelatin/polycaprolactone, which not only exhibit good cytocompatibility, but also, importantly, possess both photothermal and magnetothermal properties. The composite membranes, under conditions of being irradiated with near-infrared light (808 nm , $0.36\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$) and placed

收稿日期: 2021-10-25; 收到修改稿日期: 2021-12-24; 网络出版日期: 2022-01-24

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFC1100201); 上海市科学技术委员会项目(19441902300)

National Key Research and Development Program of China (2016YFC1100201); Funding of Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (19441902300)

作者简介: 盛丽丽(1992-), 女, 博士研究生. E-mail: lilissic@163.com

SHENG Lili (1992-), female, PhD candidate. E-mail: lilissic@163.com

通信作者: 常江, 研究员. E-mail: jchang@mail.sic.ac.cn

CHANG Jiang, professor. E-mail: jchang@mail.sic.ac.cn

in alternating magnetic field (506 kHz, $837 \text{ A}\cdot\text{m}^{-1}$) for 15 min simultaneously, are able to inhibit bacterial activity more effectively than the thermal treatment with near-infrared light or magnetic field alone. Therefore, this Fe-Si-based bioceramic and its composite material with photothermal, magnetothermal, antimicrobial, and biocompatible properties, have potential application in the field of regenerative medicine.

Key words: Fe; silicate; biphasic bioceramic; electrospun; antibacterial

组织缺损时由细菌引起的感染严重阻碍了组织修复的进程^[1-3], 给病人造成了极大痛苦。解决该问题的关键在于如何有效地抑制细菌增殖并促进组织再生^[4]。因此, 开发一种既具有优异的抗菌性能, 又具有组织修复活性的生物材料对感染型组织缺损的修复具有重要意义。

在众多抗菌策略中, 热疗作为一种直接、快速和有效的方法受到了广泛关注^[5-7]。由于光热材料可在近红外光的照射下产生局部表面等离子体共振效应将光能转换为热能, 磁热材料可在交变磁场 (AMF) 中通过 Néel-Brownian 弛豫效应将电磁能转换为热能。目前, 人们已开发了大量光热和磁热材料用于抗菌研究。例如, Wu 等^[8]合成了具有优异光热性能的 MoS_2 纳米颗粒, 可在 808 nm 近红外光照射下产生较高的温度, 破坏细菌壁的完整性、能量供应系统等, 从而起到高效杀菌作用。Chen 等^[9]报道 Fe_3O_4 纳米颗粒是性能优异的磁热材料, 并且 Li 等^[10]证明了其在交变磁场中对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有显著的抗菌效果。但具有光热和磁热效应的材料在应用中均各自存在优势和缺陷。在光热方面, 光热材料通常具有较高的光热效率, 但近红外光在穿透皮肤或脂肪组织时大部分会被反射或吸收, 在体内的穿透深度极为有限。磁场虽然具有优异的组织通透性, 但磁热材料的热转化效率相对较低, 且临床对磁场强度及磁热试剂的注射剂量都有限制^[11-13]。因此, 开发兼具优异光热性能(加热效率高)和良好磁热性能(组织穿透性强)的材料, 有可能起到更好的杀菌作用。

另外, 组织修复活性是组织缺损修复材料的一个重要性能。然而, 目前大多数光热或磁热材料都不具有这一活性。已有大量研究证明硅酸盐生物活性玻璃/陶瓷释放的活性离子(如硅酸根离子)不仅能促进相关细胞的增殖、分化^[14], 还能促进骨组织或软组织的修复^[15-16]。例如, Mao 等^[17]证明硅酸盐生物陶瓷释放的锶和硅酸根离子可有效促进成骨和成血管, 可显著促进骨组织再生。Gao 等^[18]证明含硅酸盐生物玻璃的复合水凝胶可作为创面敷料, 有效促进血管形成和组织再生。为结合抗菌和组织修复性能, 本研究将探索合成兼具光热/磁热性能的硅酸

盐生物陶瓷。

铁元素作为功能元素, 在不同状态下展现了不同的功能。大多数含铁材料都具有光热性能^[13], 其中 Fe_3O_4 等还具有磁性^[10]。此外, 铁元素作为人体内含量最多的微量元素, 不仅是血红蛋白的重要组成部分, 还可促进胶原的合成^[19]。铁橄榄石(Fe_2SiO_4)已被证明具有良好的生物活性, 能显著促进慢性创面愈合^[20]。这些研究显示, 铁元素有可能赋予硅酸盐材料良好的磁性、光热性和生物相容性。

基于上述进展, 本研究通过控制煅烧气氛合成了不同相组成的 Fe/Si 生物陶瓷, 研究了 Fe/Si 双相陶瓷粉体($\text{Fe}_2\text{SiO}_4/\text{Fe}_3\text{O}_4$)的磁热、光热性能以及离子释放性能。在此基础上, 进一步制备了 Fe/Si 双相陶瓷粉体与聚己内酯/明胶复合的电纺丝膜。并通过体外细胞实验和抗菌实验, 进一步研究了该复合膜材料的细胞相容性及光磁热抗菌效果。

1 实验方法

1.1 实验试剂

研究所采用的试剂正硅酸四乙酯($(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_4\text{Si}$, TEOS)、硝酸(HNO_3)、乙二醇($(\text{CH}_2\text{OH})_2$)、聚己内酯 (PCL)、明胶(Gelatin)均购自国药集团上海化学试剂有限公司; 醋酸铁(II)($\text{Fe}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$)购自阿拉丁公司; CCK-8 检测试剂盒购自碧云天生物技术(中国)公司。所有市售试剂和溶剂均直接使用, 未经进一步纯化。

1.2 材料合成

1.2.1 陶瓷粉体制备

首先, 将 TEOS 加入 2 mol/L 的 HNO_3 去离子水溶液中搅拌 30 min, 使 TEOS 被催化水解。其中 TEOS、水和 HNO_3 的摩尔比为 1 : 8 : 0.16。将醋酸铁(II)和乙二醇以摩尔比 1 : 20 的比例混合, 搅拌 30 min 以充分溶解。随后, 将醋酸铁(II)乙二醇溶液加入 TEOS 混合液中进一步反应(其中 TEOS 与 $\text{Fe}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ 摩尔比为 1 : 2)。在 Ar 气氛保护下, 将混合反应物在室温下搅拌 5 h, 得到溶胶。然后, 在 Ar 气保护下密封溶胶, 并在 60 °C 下保温 24 h, 形成湿凝胶, 再

在真空烘箱中 120 °C 干燥 24 h, 得到干凝胶。将该干凝胶研磨, 在不同气氛下置于管式炉中 800 °C 煅烧 3 h。将煅烧后的粉末进行研磨、筛分。通过充入氩气排除空气, 降低炉内的氧气含量以达到控制煅烧气氛的目的。没有氩气充入的条件记为条件 1; 充入氩气至炉内, 使气压达到 10、25、>25 kPa 的条件下, 分别记为条件 2、3、4。(图 2)。在气氛条件 1、2、3、4 下煅烧得到的粉体(FF)产物分别记为 FF-1、FF-2、FF-3、FF-4。

1.2.2 复合电纺丝膜制备

对粉体性能进行测试和分析后, 选用光热、磁热和离子释放性能都良好的 FF-2 粉体制备复合静电纺丝膜。首先, 分别将 0、0.1、0.2、0.3 和 0.4 g 的 FF-2 粉体与 0.5 g PCL 和 0.5 g 明胶混合加入 10 mL 的 1,1,1,3,3,3-六氟-2-丙醇中, 通过超声以及磁力搅拌 12 h, 使粉体在混合液体中均匀分散。将混合液装入 10 mL 注射器中作静电纺丝(流速 0.02 mL·min⁻¹, 电压 8~10 KV, 固定接受距离为 15 cm), 在静电纺丝的过程中使喷头匀速左右来回移动, 使纤维丝在接收器表面均匀沉积。得到粉体复合量为 0、10%、20%、30% 和 40% 的电纺丝膜, 分别标记为 FG-0、FG-10、FG-20、FG-30、FG-40。使用直径为 10 mm 的打孔器将静电纺丝复合膜制备成直径为 10 mm 的圆形薄膜以备后续实验使用。

1.3 材料的性能表征

使用热重分析仪(TG-DTA, Netzsch STA 449C)对凝胶粉体在不同气氛下的热稳定性及相转变温度进行表征。采用 XRD(Rigaku D/Max-2550V)分析所有 FF 粉体的物相组成; 用振动探针式磁强计(MPMS XL5)测试各种 FF 粉体的磁性; 利用红外热像仪对所有 FF 粉体的光热和磁热升温性能进行表征; 将粉体浸入 ECM 培养基中(0.2 g·mL⁻¹), 置于 37 °C 恒温摇床(120 r·min⁻¹), 24 h 后取上清液, 采用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES, Varian 715-ES, Agilent)检测所有粉体释放铁和硅酸根离子的性能。根据磁热、光热以及离子释放性能结果分析, 选取光热、磁热和离子释放性能都良好的 FF-2 粉体作进一步实验。用激光粒度仪(Bettersize2600)对 FF-2 粉体的粒径进行测试; 采用透射电镜(TEM, Tecnai G2 F20, FEI Electron Optics)对 FF-2 粉体作高分辨观察和分析; 利用红外热像仪对静电纺丝复合膜的光热和磁热升温性能进行表征; 使用场发射电子扫描电子显微镜(SEM, S-4800, Hitachi)观察 FF-2 粉体和静电纺丝复合膜的表面微观形貌。将直径为 10 mm 的静电纺丝复合膜圆片放入 ECM 培养液中, 放入恒

温摇床, 24 h 后取上清液, 检测复合膜释放铁和硅酸根离子的性能。

1.4 光热和磁热性能测试

在干燥环境下, 将 FF 粉体置于直径为 10 mm 的专用容器中研究其光热/磁热效应。首先, 取 0.05 g 粉体在波长为 808 nm 的近红外激光(VLSM-808-B, 上海瀚宇光纤通信技术有限公司)照射下, 通过热像仪(A325sc, FLIR)实时监测和记录粉体的温度变化, 以评估其光热特性。同样, 在交变磁场中(高频感应加热设备 SPG800K2-10(A)B, 深圳市双平电源技术有限公司)记录粉体的温度变化, 以评估其磁热特性。为研究复合电纺丝膜的光热与磁热性能, 将直径为 10 mm 的圆形复合薄膜放入 48 孔细胞培养板中, 并加入 0.3 mL 去离子水, 然后用 808 nm 近红外激光或者交变磁场评估其光磁热性能。本实验所用的激光功率密度均为 0.36 W·cm⁻², 交变磁场频率为 506 kHz、强度为 837 A·m⁻¹。激光和交变磁场的处理时间均为 10 min。统一用红外热成像系统实时记录温度, 并用 FLIR 软件导出时间-温度曲线数据。

1.5 细胞粘附

实验选用人脐静脉内皮细胞(Human Umbilical Vein Endothelial Cell, HUVEC)研究 FG-30 静电纺丝复合膜对细胞的黏附及形态的影响。

a)采用直径为 10 mm 的打孔器将 FG-0 和 FG-30 静电纺丝复合膜制备成直径为 10 mm 的圆形膜片, 放入 48 孔细胞培养板中, 用钛环固定。最后放入紫外交叉仪中紫外灭菌 4 h。

b)在灭菌后的静电纺丝复合膜上种植 HUVEC, 每孔接种 5×10⁴ 个细胞。在 37 °C、5% CO₂ 浓度的恒温细胞培养箱中培养 24 h 后, 选用 4% 的多聚甲醛溶液固定细胞, PBS 洗涤 3 次后, 采用梯度浓度酒精(30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、100%)和六甲基二硅氮烷(HDMS)脱水, 然后放入通风橱中过夜干燥。最后利用 SEM 观察静电纺丝复合膜上粘附的细胞形貌。

1.6 细胞增殖

实验共设置 3 组, 分别为空白对照组(Blank)、加 FG-0 膜组(FG-0)和 FG-30 膜组(FG-30)。将细胞以 2.0×10³ 个/孔的密度接种于 48 孔细胞培养板中, 待细胞贴壁后, 将灭菌后的 FG-0 膜和 FG-30 膜小心放置于细胞的上方, 每组 4 个平行样, 隔天换液。到达预设的时间点(1、3 和 5 d)时, 加入 10% 的 CCK-8 试剂, 再置于培养箱内孵育 1.5 h 后, 用酶标仪(Epoch, BIO-TEK)检测 450 nm 处吸光度。

1.7 抗菌实验

实验采用菌落计数法研究了光热、磁热及光-磁热联合治疗对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) 的抑制效果。

设置空白对照组 (Blank)、FG-0 膜对照组, 设置 FG-30 膜、FG-30 膜加光热 (FG-30(PTT))、FG-30 膜加磁热 (FG-30(MTT))、FG-30 膜加光热和磁热 (FG-30(PTT+MTT)) 为实验组。激光和交变磁场的处理时间均为 15 min。每孔加入 0.1 mL OD (Optical Density, 600 nm) 值为 0.01 的 *S. aureus* 细菌悬浮液共培养 12 h; 将共培养后菌液用 PBS 缓冲液稀释 10^4 倍后取 25 μL 均匀涂于琼脂培养板, 每组做 3 个平行样。培养 16 h 后对细菌培养板进行拍照, 统计菌落个数, 并根据以下公式计算抑菌率 (I)。

$$I = (1 - N / N_0) \times 100\%$$

其中, N_0 是 Blank 组的菌落数量, N 是实验组的菌落数量。

2 结果与讨论

2.1 FF 生物陶瓷粉体的制备及性能表征

用热分析法 TG-DTA 探索气氛对凝胶粉体的热稳定性及相转变温度的影响, 发现在空气氛围下 320 $^{\circ}\text{C}$ 左右 DTA 曲线有 1 个明显的放热峰, DTG 曲线上对应的位置也有一个正的峰值 (图 1(a)), 说明此温度下发生了重量增加的放热反应。由此推断在此温度下发生氧化反应, 结合 XRD 的结果 (图 2) 可以推断在有氧气存在的情况下 320 $^{\circ}\text{C}$ 左右, Fe^{2+} 被氧化成 Fe^{3+} 并生成 Fe_3O_4 。从图 1(b) 的 DTA 曲线可以看出在氩气气氛下 600 $^{\circ}\text{C}$ 左右有个宽的放热峰, 而从 DTG 曲线来看没有质量的变化, 说明此处发生了相变。结合 XRD 结果 (图 2), 可以推断出在氩气气氛下 600 $^{\circ}\text{C}$ 左右开始生成 Fe_2SiO_4 相。

本实验通过控制氩气的充入量改变煅烧气氛, 从而得到不同物相组成的样品。从煅烧产物的 XRD 分析结果 (图 2) 可以看出, 产物中出现了 Fe_2SiO_4 和 Fe_3O_4 两种晶相组成。并且通入氩气的量越多, 产物中 Fe_2SiO_4 含量越多, Fe_3O_4 含量越少。根据 XRD 图谱中的峰面积对结晶相中 Fe_3O_4 含量进行半定量计算分析, 发现 FF-1、FF-2、FF-3、FF-4 粉体中 Fe_3O_4 含量分别为 100%、45%、10%、0。

不同条件下制备的 FF 粉体的离子释放量见表 1。所有粉体产物都释放铁和硅酸根离子, 24 h 内从 FF-1 粉体释放铁离子 $43.96 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、硅酸根离子 $70.12 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 从 FF-4 粉体释放 Fe 离子 $5.76 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、硅酸根离子 $12.68 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。此结果显示随着产物中 Fe_2SiO_4 含量的增加, 离子释放速率显著减小, 说明控制产物相组成可控制离子释放的规律。考虑到 XRD 结果显示 FF-1 粉体中只有 Fe_3O_4 相并没有出现含硅的结晶相 (图 2), 但离子释放实验显示样品有硅的释放, 说明 FF-1 粉体中硅以非晶态形式存在。磁性分析结果进一步显示 (图 3(a)), 随着充入氩气量的增加, 产物的磁性越来越弱, 可能是因为产物中的 Fe_3O_4 为主要磁性成分, 而 Fe_2SiO_4 没有磁性。产物的磁热性能如图 3(b) 所示, 其磁热性能结果趋势与磁性结果类似, 都是随着产物中 Fe_3O_4 含量的降低而减弱。而产物的光热性能如图 3(c) 所示, 所有粉体产物都有较好的光热性能, 说明产物的相组成对其光热性能并没有显著的影响。综合考虑, 本实验选择了光热和磁热性能以及离子释放性能都较好的 FF-2 粉体 (充入氩气至炉内气压 10 kPa 的条件下 800 $^{\circ}\text{C}$ 煅烧 3 h) 作后续研究。

如图 4 所示, 对 FF-2 粉体的粒度进行表征分析, 结果显示粉体的粒径主要分布在 1~45 μm 之间。为了进一步分析 FF-2 粉体以及表面形貌与成分组成, 利用 SEM 和 TEM 对其进行观察 (图 5(a, b))。粉体表面粗糙有细小孔隙。粉体的 TEM 高分辨照片

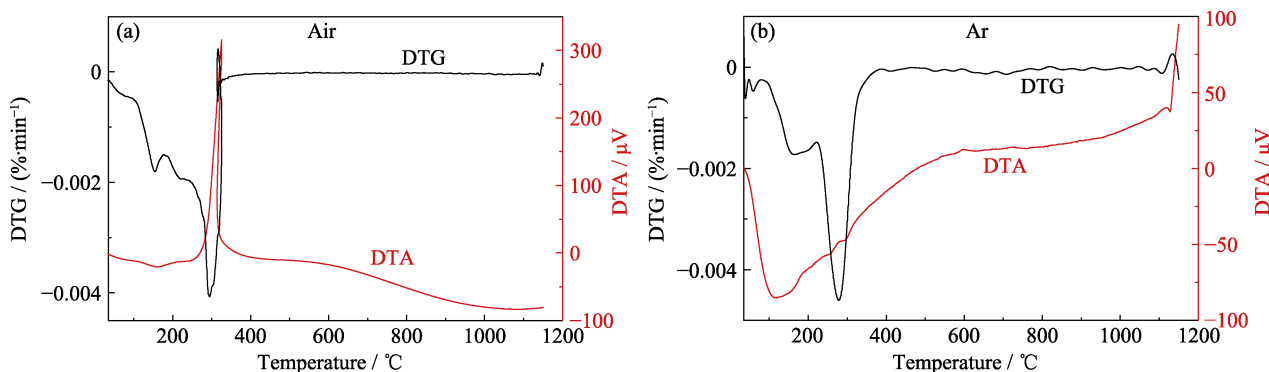


图 1 (a)空气气氛和(b)氩气气氛中凝胶粉体的 TG-DTA 曲线

Fig. 1 TG-DTA curves of gel powders tested in (a) air and (b) argon atmosphere

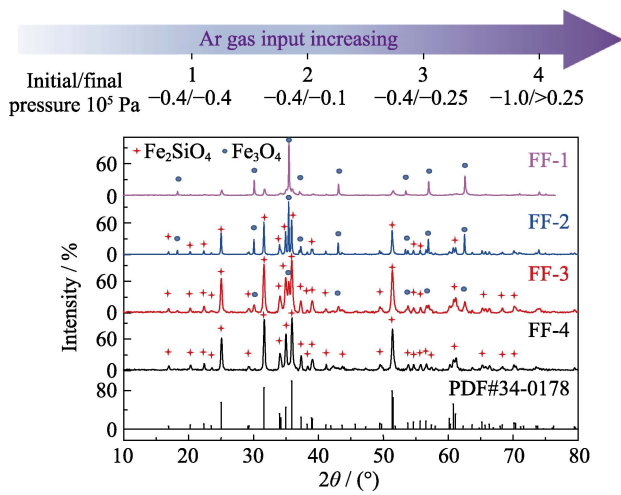


图 2 800 °C 不同气氛条件下 FF 煅烧产物的 XRD 图谱
Fig. 2 XRD patterns of FF products calcined at 800 °C in different atmospheres

FF-1: the product obtained by calcining without argon gas; FF-2–FF-4: the product obtained by calcining with argon gas at 10, 25 and >25 kPa in the furnace, respectively.

表 1 不同条件下粉体产物在 ECM 中 24 h 的离子释放量

Table 1 Ion release of powders prepared under different conditions after 24 h being submersed in cell culture medium ECM

Powder	Fe ion/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Silicate ion/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
FF-1	43.96	70.12
FF-2	28.37	40.23
FF-3	13.62	27.16
FF-4	5.76	12.68

(图 5(c))中出现了三种取向的晶格条纹, 通过计算晶格间距并与标准卡片进行对比, 确定这三种晶格条纹分别为 Fe₃O₄ 的(011)和(020)晶面, 以及 Fe₂SiO₄ 的(111)晶面。另外, 电子衍射图像(图 5(c)插图)中出现了非晶衍射晕, 推测 FF-2 中有部分硅以非晶形式存在。

2.2 复合膜的形貌及离子释放性能

图 6(a)为不同 FF-2 粉体含量(0、10%、20%、30%、40%)的复合静电纺丝纤维膜光学照片。随着粉体含量增大, 静电纺丝膜的颜色逐渐加深。SEM 的结果(图 6(b))也可以看出越来越多的粉体颗粒掺入纺丝纤维中。

不同 FF-2 粉体含量的复合静电纺丝纤维膜的离子释放结果如表 2 所示。结果显示, 含有粉体的复合膜也能释放出铁和硅酸根离子。且随着粉体含量增大, 复合膜的离子释放量也逐渐增加。从结果来看, 不含粉体的电纺丝膜不释放铁和硅酸根离子, 而粉体含量 40% 的复合膜 24 h 内释放铁离子达 0.61 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和硅酸根离子达 5.98 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。该结果证实控制粉体复合量可以有效控制复合膜的离子释放。粉体复合量 30% 的复合膜释放的铁和硅酸根离子浓度分别为 0.32 和 2.76 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 与文献报道的铁和硅酸根离子活性浓度相近^[21-22]。

2.3 复合膜的光热、磁热性能

复合膜的光热及磁热性能表征结果(图 7)显示, 在固定功率密度为 0.36 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的激光照射下, 粉体复合量为 0 的电纺丝膜的表面温度维持在 26 °C 左右, 而粉体复合量为 40% 的复合膜表面温度可升高到 55 °C 左右。从(图 7(a))结果可以看出在相同功率密度激光照射下, 随着粉体含量增加, 复合膜表面最高温度逐渐升高, 证明复合膜的光热性能随着粉体含量的增加而增强。磁热实验也有相似的结果(图 7(b)), 在固定的交变磁场中(506 kHz, 837 $\text{A}\cdot\text{m}^{-1}$), 随着粉体含量增加, 处于交变磁场中的复合膜表面最高温度也逐渐升高, 不含 FF-2 粉体的纤维膜的表面温度维持在 23 °C 左右, FF-2 粉体复合量为 40% 的复合膜表面最高温度能升高到 46 °C。证实复合膜的磁热性能随着粉体含量增加而增强。另外,

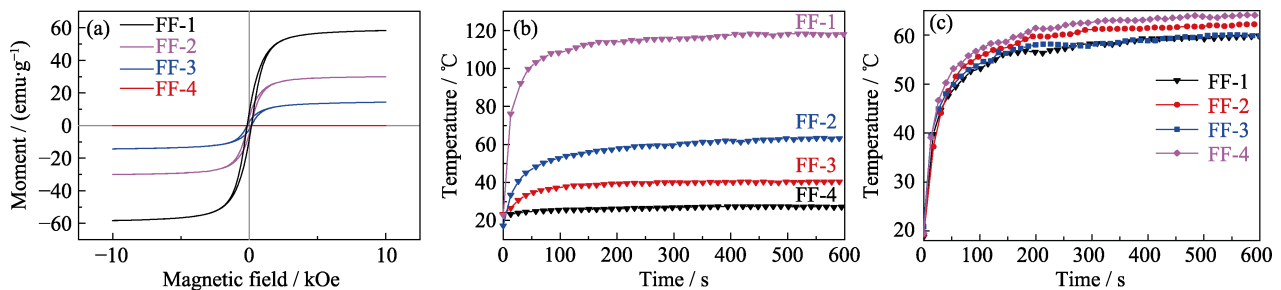


图 3 不同煅烧条件制备的粉体产物的磁热和光热性能

Fig. 3 Magnetothermal and photothermal properties of powder products after being calcined under different conditions

(a) Magnetic analysis results; (b) Results of thermal performance of different powders under alternating magnetic field intensity of 506 kHz at 837 $\text{A}\cdot\text{m}^{-1}$; (c) Photothermal performance of different powders under 808 nm near-infrared

light irradiation at a density of 0.36 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$. FF-1: the product obtained by calcining without argon gas; FF-2–FF-4: the product obtained by calcining with argon gas at 10, 25 and >25 kPa in the furnace, respectively. 1 emu=10³ $\text{A}\cdot\text{m}^{-1}$, 1 Oe=1000/4 π A/m

Colorful figures are available on website

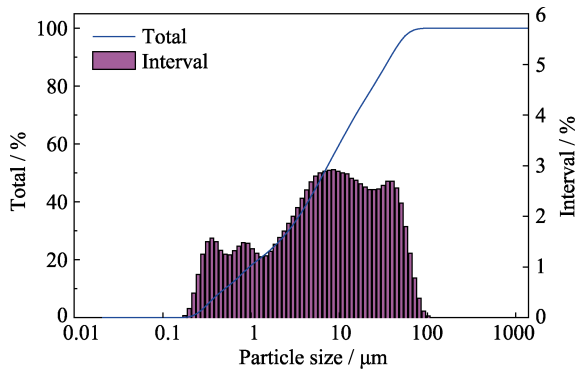


图 4 FF-2 粉体的粒度表征
Fig. 4 Particle size characterization of FF-2 powders

表 2 不同粉体含量的复合电纺丝膜的离子释放性能
Table 2 Ion release properties of composite electrospun films with different powder contents in cell culture medium ECM

Powder content/%	Fe ion/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Silicate ion/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
0	0	0
10	0.05	0.27
20	0.13	1.45
30	0.32	2.76
40	0.61	5.98

从图 7(a, b)的结果可以看出, 30%粉体含量的复合膜在本实验所使用的激光($0.36\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$)和交变磁场(506 kHz , $837\text{ A}\cdot\text{m}^{-1}$)条件下可分别升温至 42 和 $48\text{ }^\circ\text{C}$ 左右。而在激光和交变磁场叠加的情况下, 30%粉体含量的复合膜可以升温至 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 左右(图 7(c))。该结果证明, 温和强度下的激光和磁场叠加可以协同使材料发挥更强的热效应。因此本研究对粉体含量为 30%的复合膜(记为 FG-30)进行细胞相容性和抗菌性能的研究。

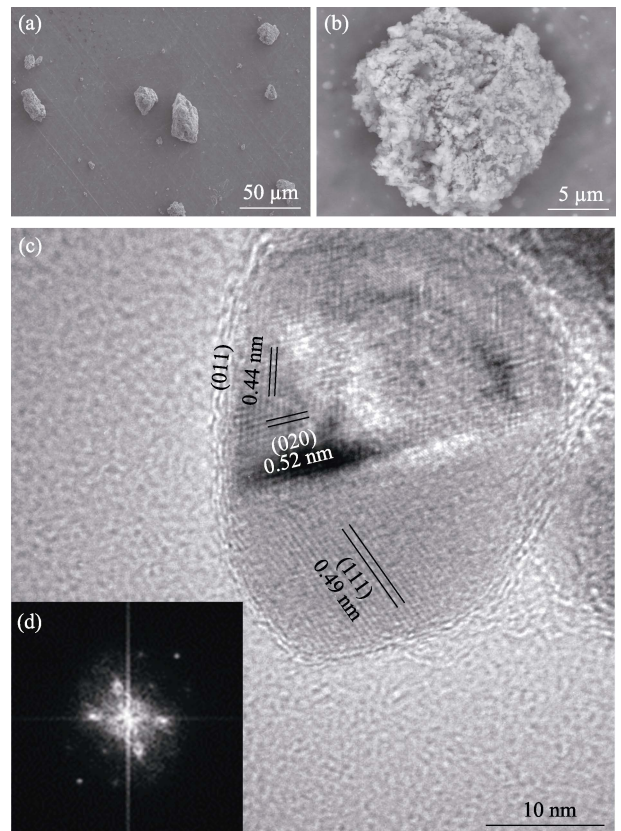


图 5 FF-2 粉体的 SEM 和 TEM 照片。
Fig. 5 SEM and TEM images of FF-2 powders (a, b) SEM images at low (a) and high (b) magnification; (c) TEM high-resolution image of the powder with inset showing electron diffraction pattern of the powder

2.4 FG-30 复合膜的细胞相容性

为了研究静电纺丝复合膜的生物性能, 采用 HUVEC 研究了 FG-30 复合膜对细胞粘附和增殖的影响(图 8)。与 FG-0 组相比, FG-30 复合电纺丝膜上的 HUVEC 粘附更多, 并铺展良好, 细胞伪足伸展更为明显。这说明与未复合粉体的 FG-0 膜相比, 有粉

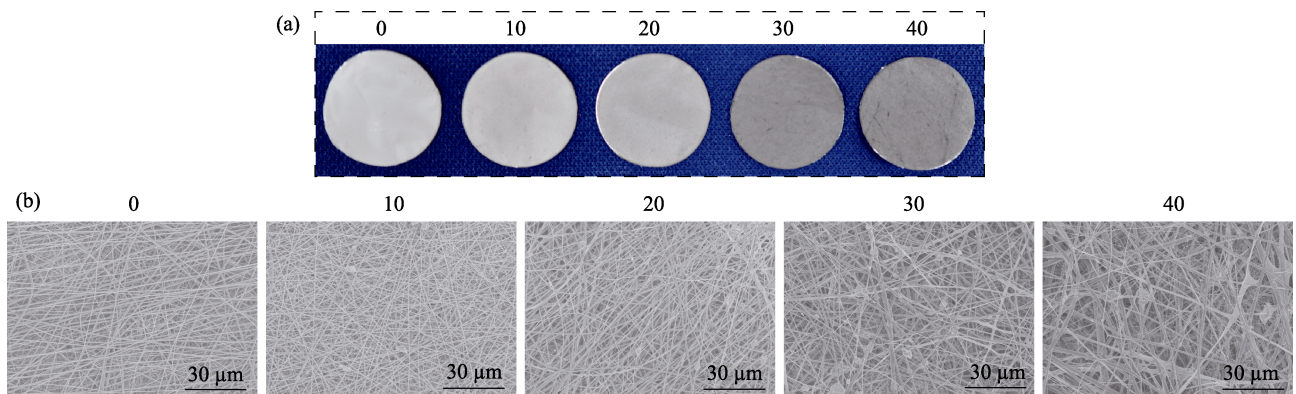


图 6 不同 FF-2 粉体含量的复合电纺丝膜的形貌
Fig. 6 Morphologies of composite electrospun membranes with different FF-2 powder compositing amounts (a) Optical photos; (b) SEM images. 0, 10, 20, 30, and 40 in the figures represent composite membranes with powder contents of 0, 10%, 20%, 30%, and 40%, respectively

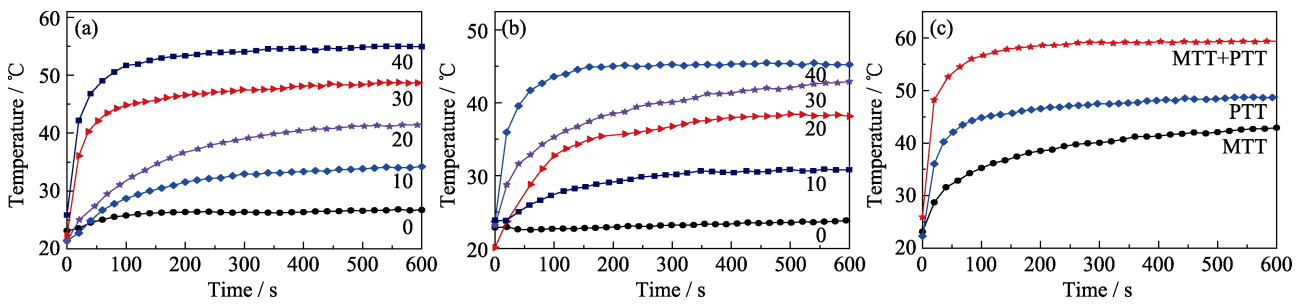


图7 不同粉体含量的复合膜的光热和磁热性能

Fig. 7 Photothermal and magnetothermal properties of composite membranes with different powder contents
 (a) Under NIR light ($0.36 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$) irradiation at a wavelength of 808 nm; (b) In an alternating magnetic field (506 kHz , $837 \text{ A}\cdot\text{m}^{-1}$);
 (c) Composite film with 30% powder content under laser, alternating magnetic field and laser in combination with alternating magnetic field, respectively. 0, 10, 20, 30, and 40 in the figures represent composite membranes with powder contents of 0, 10%, 20%, 30%, and 40%, respectively. MTT: magnetothermal; PTT: photothermal; MTT+PTT: combined photothermal and magnetothermal

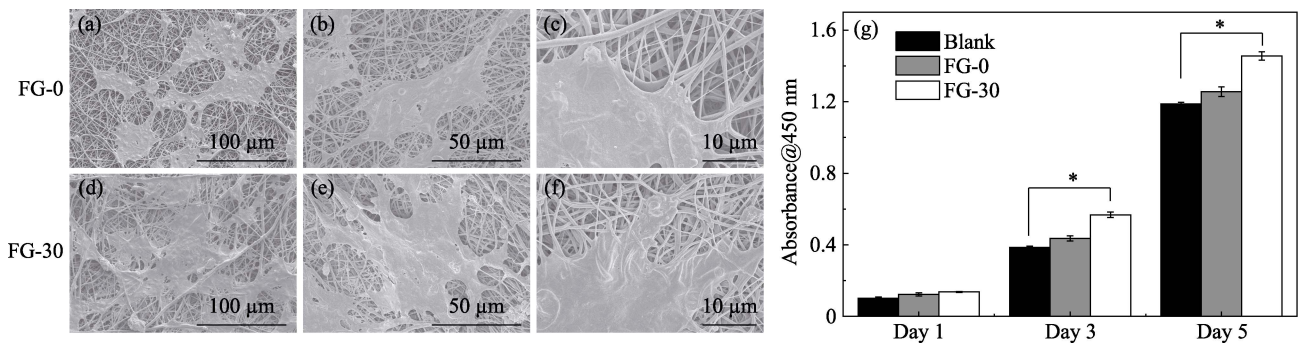


图8 FG-30 复合电纺丝膜的细胞相容性

Fig. 8 Cytocompatibility of FG-30 composite electrospun membranes

(a-f) SEM images of cell adhesion on FG-0 membrane (a-c) and FG-30 composite membrane (d-f) after 24 h of HUVEC culture, respectively;
 (g) Effect of composite membrane on HUVECs proliferation. Blank, FG-0, and FG-30 in the figures indicate blank control group, FG-0 electrospun membrane group, and FG-30 composite electrospun membrane group, respectively.

* indicates $p < 0.05$ which means significant difference between groups

体复合的 FG-30 复合膜具有更优异的促细胞粘附作用(图 8(d~f))。从增殖实验的结果(图 8(g))可以看出, 与对照组相比, FG-30 复合膜能明显促进内皮细胞增殖。Xing 等^[23]证实硅酸根离子对细胞周期有刺激作用, 促进细胞 S 和 G2/M 期, 使其具有更高的增殖活性。Zhang 等^[24]也证实铁离子可以促进内皮细胞增殖。考虑到本研究已经证实复合膜具有离子释放性能, 可以有效释放铁和硅酸根离子, 因此, 可以推知 FG-30 静电纺丝复合膜具有良好的细胞相容性是其通过释放活性铁和硅酸根离子促进了细胞的粘附和增殖^[21-22]。为进一步证明静电纺丝复合膜在组织损伤修复方面的应用, 后续还需进行深入的生物学评价, 包括细胞成血管基因表达及体内动物创伤模型实验验证。

2.5 FG-30 复合膜光-磁热抗菌性能表征

为了研究复合膜的光/磁热抗菌性能, 选用 *S. aureus* 作为实验菌种, 并根据上述实验结果选用 FF-2 粉体复合的 FG-30 复合膜为研究对象。设置了

空白对照、FG-0 膜、FG-30 膜、FG-30 膜加磁热、FG-30 膜加光热、FG-30 膜加光/磁热六组。从实验结果可以看出(图 9), 在温和强度的交变磁场中 (506 kHz , $837 \text{ A}\cdot\text{m}^{-1}$), 复合膜没有明显的抑菌作用。温和的激光($0.36 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$)照射下复合膜的抑菌能力也很微弱。而在温和的交变磁场与激光联合作用下, 复合膜表现出显著的抗菌作用, 其抑菌效果远大于温和的激光与交变磁场单独作用的效果。这可能是因为温和的交变磁场和激光单独作用时, 只能使复合膜升温至 42 和 $48 \text{ }^\circ\text{C}$ 左右, 该温度下细菌在短时间(15 min)内并不会产生有效的杀菌效果; 而在交变磁场与激光联合作用下, 能使温度升高至 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 左右, 这个温度足以抑制细菌增殖^[25]。研究发现, 温度升高不仅导致细菌细胞膜渗透性增加、蛋白质合成降低, 还会增加自溶和菌壁损伤, 从而起到抗菌作用^[26]。可见, 光热与磁热联合作用可使复合膜在温和的激光和较低交变磁场强度下展现出显著的抗菌效果。

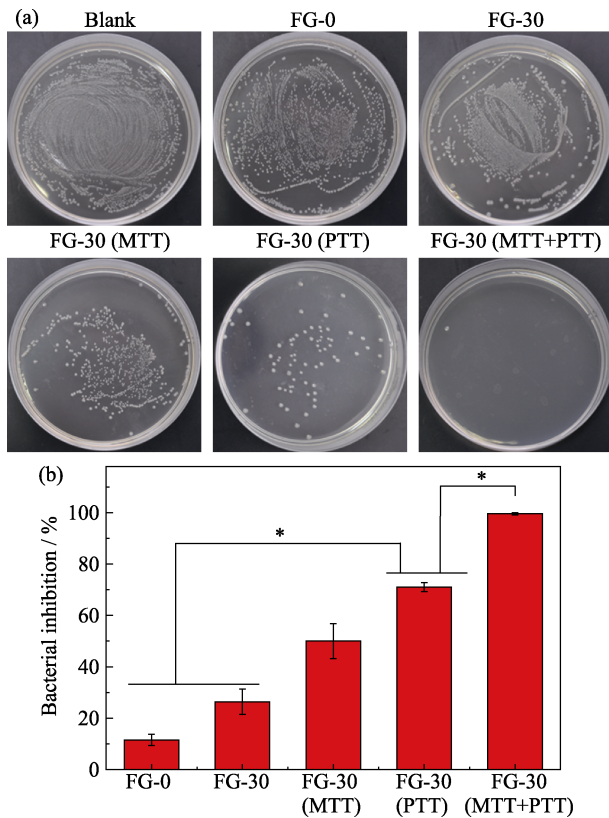


图9 FG-30 复合膜对金黄色葡萄球菌的光/磁热联合抑制作用
Fig. 9 Combined photo/magneto-thermal inhibition of *S. aureus* by FG-30 composite membrane

(a) Optical photographs of colony coated plates; (b) Statistical results of inhibition rate. Blank, FG-0, FG-30, FG-30 (MTT), FG-30 (PTT), and FG-30 (MTT+PTT) denote blank control, FG-0 membrane, FG-30 membrane, FG-30 membrane with magnetothermal, FG-30 membrane with photothermal, FG-30 membrane with combined photothermal and magnetothermal, respectively. * indicates $p < 0.05$ which means significant difference between groups

3 结论

本研究通过控制煅烧气氛成功制备了既有光热又有磁热性能且离子释放性能可控的 $\text{Fe}_2\text{SiO}_4/\text{Fe}_3\text{O}_4$ 双相复合陶瓷粉体。在此基础上, 采用 PCL 和明胶与双相复合陶瓷粉体复合, 成功制备了陶瓷粉体复合的电纺丝膜, 并证实该复合膜兼具光热和磁热特性, 而且通过调节粉体的复合量可有效调节复合膜的光热、磁热性能以及离子释放性能。粉体复合量为 30% 的 FG-30 复合膜具有良好的细胞相容性, 且在温和的激光与交变磁场联合作用下具有显著的抑菌效果。因此, $\text{Fe}_2\text{SiO}_4/\text{Fe}_3\text{O}_4$ 双相生物陶瓷及其复合材料在光/磁热抗菌、促进生物组织修复方面具有潜在应用前景。

参考文献:

- [1] BELKAID Y, TAMOUTOUNOUR S. The influence of skin microorganisms on cutaneous immunity. *Nature Reviews Immunology*, 2016, **16**(6): 353–366.
- [2] FALANGA V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *Lancet*, 2005, **366**(9498): 1736–1743.
- [3] ROBSON M. Wound infection - a failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria. *Surgical Clinics of North America*, 1997, **77**(3): 637–650.
- [4] LI P L, HAN F X, CAO W W, *et al.* Carbon quantum dots derived from lysine and arginine simultaneously scavenge bacteria and promote tissue repair. *Applied Materials Today*, 2020, **19**(1): 100601.
- [5] XIE X, WU J R, CAI X J, *et al.* Photothermal/pH response B-CuS-DOX nanodrugs for chemo-photothermal synergistic therapy of tumor. *Journal of Inorganic Materials*, 2020, **36**(1): 81–87.
- [6] ZENG Y L, CHEN J J, TIAN Z F, *et al.* Preparation of mesoporous organosilica-based nanosystem for *in vitro* synergistic chemo-and photothermal therapy. *Journal of Inorganic Materials*, 2020, **35**(12): 1365–1372.
- [7] ZHAO L Y, LIU Y M, XING R R, *et al.* Supramolecular photothermal effects: a promising mechanism for efficient thermal conversion. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, **59**(10): 3793–3801.
- [8] WU G Z, WU Z Y, LIU L, *et al.* NIR light responsive MoS_2 nanomaterials for rapid sterilization: optimum photothermal effect via sulfur vacancy modulation. *Chemical Engineering Journal*, 2022, **427**(1): 132007.
- [9] CHEN R, ROMERO G, CHRISTIANSEN M G, *et al.* Wireless magnetothermal deep brain stimulation. *Science*, 2015, **347**(6229): 1477–1480.
- [10] LI W, WEI W Y, WU X P, *et al.* The antibacterial and antibiofilm activities of mesoporous hollow Fe_3O_4 nanoparticles in an alternating magnetic field. *Biomaterials Science*, 2020, **8**(16): 4492–4507.
- [11] ZHUANG H, LIN R C, LIU Y Q, *et al.* 3D-printed bioceramic scaffolds with osteogenic activity for simultaneous photo-magneto-thermal therapy of bone tumor. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 2019, **5**(12): 6725–6734.
- [12] FU D P, LIU J L, REN Q L, *et al.* Magnetic iron sulfide nanoparticles as thrombolytic agents for magnetocaloric therapy and photothermal therapy of thrombosis. *Frontiers in Materials*, 2019, **6**(1): 316.
- [13] LIU J C, GUO X, ZHAO Z, *et al.* Fe_3S_4 nanoparticles for arterial inflammation therapy: integration of magnetic hyperthermia and photothermal treatment. *Applied Materials Today*, 2020, **18**(1): 100457.
- [14] LI H Y, CHANG J. Stimulation of proangiogenesis by calcium silicate bioactive ceramic. *Acta Biomaterialia*, 2013, **9**(2): 5379–5389.
- [15] ZHAI W Y, LU H X, CHEN L, *et al.* Silicate bioceramics induce angiogenesis during bone regeneration. *Acta Biomaterialia*, 2012, **8**(1): 341–349.
- [16] YU Q Q, CHANG J, WU C. Silicate bioceramics: from soft tissue regeneration to tumor therapy. *Journal of Material Chemistry B*, 2019, **7**(36): 5449–5460.
- [17] MAO L X, XIA L G, CHANG J, *et al.* The synergistic effects of Sr and Si bioactive ions on osteogenesis, osteoclastogenesis and angiogenesis for osteoporotic bone regeneration. *Acta Biomaterialia*, 2017, **61**(1): 217–232.
- [18] GAO L, ZHOU Y L, PENG J L, *et al.* A novel dual-adhesive and bioactive hydrogel activated by bioglass for wound healing. *NPG Asia Materials*, 2019, **11**: 66.
- [19] WEINTRAUB L R, GORAL A, GRASSO J, *et al.* Collagen biosynthesis in iron overload. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1988, **526**(1): 179–184.
- [20] SHENG L, ZHANG Z, ZHANG Y, *et al.* A novel “hot spring”-mimetic hydrogel with excellent angiogenic properties for chronic wound healing. *Biomaterials*, 2020, **264**(1): 120414.
- [21] XING M, HUAN Z G, LI Q, *et al.* Containerless processing of Ca-Sr-Si system bioactive materials: thermophysical properties and ion release behaviors. *Ceramics International*, 2017, **43**(6): 5156–5163.
- [22] LI H Y, CHANG J. Bioactive silicate materials stimulate angiogenesis in fibroblast and endothelial cell co-culture system through paracrine effect. *Acta Biomaterialia*, 2013, **9**(6): 6981–6991.
- [23] XING M, WANG X Y, WANG E D, *et al.* Bone tissue engineering strategy based on the synergistic effects of silicon and strontium ions. *Acta Biomaterialia*, 2018, **72**(1): 381–395.
- [24] ZHANG J, SHI H S, LIU J Q, *et al.* Good hydration and cell-biological performances of superparamagnetic calcium phosphate cement with concentration-dependent osteogenesis and angiogenesis induced by ferric iron. *Journal of Materials Chemistry B*, 2015, **3**(45): 8782–8795.
- [25] WU M, DEOKAR A R, LIAO J, *et al.* Graphene-based photothermal agent for rapid and effective killing of bacteria. *ACS Nano*, 2013, **7**(2): 1281–1290.
- [26] IBELLI T, TEMPLETON S, LEVI-POLYACHENKO N. Progress on utilizing hyperthermia for mitigating bacterial infections. *International Journal of Hyperthermia*, 2018, **34**(2): 144–156.