

# 多孔 Fe-Mn 合金表面微纳形貌调控及其生物相容性评价

陈智坤<sup>1,2</sup>, 袁波<sup>1,2</sup>, 聂涌<sup>3</sup>, 彭华备<sup>4</sup>, 朱向东<sup>1,2</sup>, 张兴栋<sup>1,2</sup>

(1. 国家生物医学材料工程技术研究中心, 四川 成都 610064)

(2. 四川大学 生物医学工程学院, 四川 成都 610064)

(3. 四川大学 华西医院, 四川 成都 610041)

(4. 四川大学 机械工程学院, 四川 成都 610064)

**摘要:** 铁基可降解金属因其良好的生物相容性和优异的机械性能, 在骨科植入物领域具有广阔的应用前景, 但必须突破其降解速率过慢的瓶颈问题。本研究通过电化学技术对 3D 打印多孔铁锰合金 (Fe-30Mn) 支架表面进行去合金化处理。通过扫描电镜观察发现, 以盐酸和氯化钠分别作为去合金化处理介质溶液, 可以在支架表面形成多微孔网络结构和片状纳米结构。接触角和粗糙度测试显示, 2 种微纳结构的构建均显著改善了 Fe-30Mn 支架表面亲水性, 并提升了其表面粗糙度, 多微孔网络结构更加粗糙并且亲水性更好。利用静态浸泡法和电化学耐腐蚀实验评估合金化处理前后支架的腐蚀速率, 发现表面微纳结构的形成可加速 Fe-30Mn 支架的降解。建立体外成骨细胞培养模型, 通过激光共聚焦观察及细胞增殖测试发现, 经合金化处理的 2 种支架均能支撑细胞的贴附和增殖, 具有良好的细胞相容性。结果表明, 经电化学去合金化处理后, Fe-30Mn 支架的降解速度得以增强, 同时保持了良好的生物相容性, 有望在骨修复领域得到较好应用。

**关键词:** Fe-30Mn 支架; 去合金化; 表面微纳结构; 降解性能; 生物相容性

中图分类号: TG145

文献标识码: A

文章编号: 1002-185X(2022)12-4705-09

因疾病、创伤和交通事故等引发的骨缺损已成为临床的常见疾病<sup>[1]</sup>。由于大部分的骨缺损修复均需要内植物的辅助<sup>[2,3]</sup>, 而作为金标准的自体骨因来源受限、二次手术等问题难以满足临床的需要, 所以推动了人工骨修复材料的快速发展<sup>[4-8]</sup>。众多人工骨修复材料中, 金属材料因其优异的机械性能占据着骨科植入材料市场的主导地位。然而, 传统金属材料如钛及其合金和不锈钢等, 过高的模量导致其进入体内后常引发应力遮挡效应, 且作为惰性材料长期存留于人体内会因磨损、腐蚀等造成有害金属离子和颗粒物的溶出, 从而引起骨质溶解, 并最终导致修复失败。因此, 寻求植入初期能够提供足够力学支撑, 而后可促进骨组织再生并最终被人体完全降解吸收的植入材料一直是当前骨修复领域内的研究重点和前沿焦点<sup>[9,10]</sup>。

近年来, 具有降低弹性模量和良好生物相容性的可降解金属包括镁 (Mg) 基、Fe 基、和锌 (Zn)

基合金在骨科植入物和心血管支架临床应用中展现出了较大潜力<sup>[11,12]</sup>。其中, Mg 基材料的相关研究最为广泛, 但其过快的降解和降解过程中产生过量氢气所形成的气腔严重影响了骨组织的愈合, 阻碍了镁基植入物的进一步临床应用<sup>[13-16]</sup>。此外, Zn 基材料的低强度和高脆性导致其很难应用于承重部位的缺损修复<sup>[17]</sup>。相较 Mg 基和 Zn 基材料, Fe 基材料具有更高的力学强度和较低的降解速率, 在承重部位及大段骨缺损修复中具有更加突出的临床应用潜力<sup>[11, 12, 18, 19]</sup>。然而, 前期的相关研究也指出当前 Fe 基材料的降解速率过低, 难以匹配新骨生成速率。因此, 为适应临床应用需求, 必须通过化学组成、宏观-微观结构设计来调控 Fe 基材料的降解速率。目前最为常见的方法即通过合金化处理降低合金晶粒尺寸, 下调纯 Fe 标准电势电极, 进而提高其腐蚀降解速率<sup>[20]</sup>。常用的合金化元素有 Mn、Si、

收稿日期: 2021-12-25

基金项目: 四川省科技计划项目 (2019JDTD0008, 2021YFS0020); 四川大学华西医学学科卓越发展 135 工程项目 (ZYJC21040)

作者简介: 陈智坤, 女, 1997 年生, 硕士生, 四川大学生物材料工程研究中心, 四川 成都 610064, 电话: 028-85470770, E-mail: 1432471627@qq.com

Al、Cu 等<sup>[20]</sup>，其中关于 Fe-Mn 合金的相关研究成为了该领域近期的研究热点。多个国内外的研究团队报道指出，适量 Mn 的添加能够保证合金强度的同时显著提高其腐蚀降解速率<sup>[21]</sup>。如 Hermawan 等人<sup>[22]</sup>结果表明，在含锰量为 20%~35% (质量分数) 的 Fe-Mn 合金中，Fe-30Mn 合金是保持对细胞的抑制作用和力学性能之间平衡的最佳成分。除了合金化处理外，近年来随着 3D 打印等快速成型技术的飞速发展，通过多孔结构设计调控 Fe 基材料降解速率和力学强度的相关研究也日渐增多<sup>[23]</sup>，且更快的降解并不会对植入材料的生物安全性产生影响。前期的相关研究表明，将 3D 打印多孔 Fe-30Mn 植入大鼠股骨髁 48 周后，对大鼠的肝、肾无损伤，且表现出良好的体内长期骨整合性能<sup>[24]</sup>。但与此同时，研究也发现，通过 Mn 的引入和多孔结构设计对 Fe-Mn 支架降解速率的提升程度仍较为有限(48 周时，植入体降解率为 10.1%~20.9%)<sup>[24]</sup>。

为此，针对当前 Fe 基材料降解速率与成骨速率不匹配难题，本研究拟在前期 3D 打印多孔 Fe-30Mn 支架基础上进一步探索。利用电化学方法进行支架的去合金化处理，清除支架表面 Mn 元素的同时，构筑多微孔网络的表面微纳结构，以改善其降解速率的同时提升其成骨活性。

## 1 实验

### 1.1 样品制备

按照先前研究制备 Fe-30Mn 平板样品(直径 10.0 mm × 2.0 mm) 和 3D 打印多孔支架(直径 10.0 mm × 3.0 mm)<sup>[23]</sup>，分别用于材料表征和体外研究。所有样品均依次用无水乙醇，丙酮和去离子水各超声清洗 15 min，室温干燥后用于后续表面处理。

电化学去合金化处理过程详述如下：选取 1.25% HCl 溶液和 0.1 mol/L NaCl 溶液(pH=3)作为 2 种去合金化介质溶液。利用电化学工作站 (PARSTAT2773, 普林斯顿应用研究公司, 美国)，多孔 Fe-30Mn 双相合金支架样品为工作电极，铂电极片作辅助电极，饱和甘汞电极 (SCE) 为参比电极。在标准三电极电解槽中进行开路电位测量 (OCPT)、动电位极化 (TAFEL) 分析和恒电位去合金化处理，试验参数分别为时间为 900 s、动电位极化扫描速率为  $1 \text{ mV s}^{-1}$  和 1.25% HCl 介质溶液 (-0.66 V、时间为 1200 s)、0.1 mol/L NaCl 介质溶液(pH=3、-0.56 V、时间为 1800 s)。电化学去合金化后用去离子水冲洗样品并干燥，得到电化学去合金化样品，命名为 Fe-30Mn/HCl 和 Fe-30Mn/NaCl。

### 1.2 材料表征

利用场发射扫描电子显微镜 (FE-SEM, S4800, Hitach, 日本) 观察不同电化学工艺处理样品的表面形貌特征，同时利用能谱 (EDS) 仪对样品表面元素进行分析。利用接触角测试仪 (IL4200, KRÜSS, 德国) 和原子力显微镜 (AFM Asylum Research, MFP 3D, 美国) 分别测试材料表面水接触角和粗糙度。利用电感耦合等离子体原子发射光谱仪 (ICP AES IRIS Adv Thermo Scientific, 美国) 定量评估多孔 Fe-30Mn 中  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{Mn}^{2+}$  在生理环境中的释放。

### 1.3 电化学耐腐蚀测试

通过电化学工作站 (PARSTAT2773, 普林斯顿应用研究公司, 美国) 测定未改性多孔 Fe-30Mn 支架和改性后多孔 Fe-30Mn 支架在体内模拟生理环境中的腐蚀行为。首先，以饱和甘汞电极 (SCE) 为参比电极，以铂片为辅助电极的三电极电池组进行电化学腐蚀试验。机械抛光后的样品在温度为  $37.4 \text{ }^\circ\text{C}$ 、pH=7.4 含碳酸氢钠 0.35 g/L 的 Hanks 平衡盐溶液 (HBSS H1387, Sigma Aldrich, Canada) 中进行开路电位测试。在 -1.2~-0.4 V 的电位范围内，以  $1.67 \text{ mV s}^{-1}$  的扫描速率获得 PDP 曲线。所有电位数据在饱和甘汞电极 (SCE) 上记录，所有的测试都独立进行 3 次，以获得平均值。

### 1.4 静态耐腐蚀测试

利用电感耦合等离子体原子发射光谱法 (ICP-AES (Leeman, Profile)) 进行静态耐腐蚀测试。将直径 10.0 mm × 3.0 mm 的多孔 Fe-30Mn 支架 ( $n=3$ ) 样品放入无菌 50 mL 离心管中，加入 45 mL SBF 溶液，放入  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  恒温箱培养 1、3、5 d。测定溶液中各元素的释放浓度。每组平均测量 3 次。

### 1.5 细胞培养与接种

将直径 10.0 mm × 3.0 mm 的多孔 Fe-30Mn 支架 ( $n=3$ ) 样品用无水乙醇超声清洗，风干，辐照灭菌，剂量为 25 kGy，作用时间为 2 h。每个样品的提取介质均按照 EN-ISO 标准 10933:12 配制。将样品放入 6 孔板中后，每孔加含  $\alpha$ -MEM, 10% 胎牛血清 (FBS) 和双抗体的完整培养基 6 mL。每个样品都完全浸泡在培养基中。然后将 6 孔板放入 5%  $\text{CO}_2$  和  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  的培养箱中培养 24 h。提取液收集后，将 100% 的提取液稀释成 50%、25% 和 10% 的提取介质，制成稀释浓缩提取液。提取液用  $0.2 \text{ }\mu\text{m}$  孔径的注射器过滤器无菌过滤，分配到 50 mL 离心管中， $4 \text{ }^\circ\text{C}$  保存。

采用小鼠胚胎成骨细胞前体细胞 (MC3T3-E1) 作为细胞培养模型，用于体外生物相容性试验评估。

将 MC3T3-E1 细胞以  $2 \times 10^4 \text{ cells/mL}$  的密度接种于 48 孔板中，每孔培养  $2 \times 10^4$  个细胞，每孔加入

500  $\mu\text{L}$  完全培养基。每组设 3 孔( $n=3$ )。细胞在 5%  $\text{CO}_2$  和 37  $^\circ\text{C}$  孵箱中培养 24 h 贴壁后, 每组用 500  $\mu\text{L}$  提取液替代完整培养液, 每隔 1 d 换一次。

### 1.6 细胞毒性测试

通过 CCK-8 法进行细胞毒性评估。3 种材料的 4 种浓度梯度浸提液与细胞培养 1、3 和 5 d 后, 吸干孔板中培养基, 加入 1 mL PBS 清洗并每孔中加入 1 mL 10% 的 CCK-8 溶液。在 37  $^\circ\text{C}$  下避光孵育 2 h 后, 在每个孔中取 100  $\mu\text{L}$  ( $n=3$ ) 上清液转移至 96 孔板中, 通过酶标仪检测在 450 nm 波长下测量吸光度。OD 值表示溶液在每孔中的吸光度。重复检测 3 次, 计算平均 OD 值。OD 值高代表细胞增殖水平相对较高。

### 1.7 细胞生长和铺展

使用 CLSM (Leica TCS SP5 德国) 观察共培养中的 MC3T3-E1 细胞形态。培养 1、3 和 5 d 后, 用 PBS 洗涤孔板底部 2 次, 然后依次加入 0.5 mL 0.1% 的 FDA 和 PI 染液进行细胞活死染色, 避光条件下分别染 1 min。染色完成后加入 1 mL PBS 溶液保持样品湿润以维持细胞形态, 随后放入显微镜进行观察。通过 CLSM 观察培养 MC3T3-E1 细胞的铺展情况。

在培养的 1、3 和 5 d 时, 首先将孔板底部用 PBS 洗涤 3 次后, 加入 4% 多聚甲醛固定 15 min, 吸弃固定液后用 PBS 溶液清洗, 然后每孔中加入 1 mL 5 U/mL 提前配置好的罗丹明-鬼笔环肽液染液, 室温下染色 20 min, 该染液可以将细胞骨架染成红色。吸去染液后每孔中加入 1 mL 的 DAPI 染液, 该染液可以将细胞核染成蓝色。染色完成后用 PBS 反复清洗 3 次在显微镜下进行

观察。使用 Image Pro Plus6.0 软件定量分析 1 d 时样品上 MC3T3-E1 细胞的扩散面积。对于每个样本, 选择大约 6 个随机的非重叠段进行分析。

### 1.8 统计学分析

本工作中所有数据统计学分析均采用 SPSS11.0 软件, 每项检测至少 3 个平行样。统计学显著性差异采用单因素方差分析,  $P^* < 0.05$  被认为具有统计学意义。

## 2 结果与讨论

### 2.1 形貌和相成分分析

利用 SEM 和 EDS 对不同介质溶液以及电化学条件处理多孔 Fe-30Mn 支架样品的表面形貌和 EDS 成分进行表征分析。如图 1a 所示, 未处理的 Fe-30Mn 表面为光滑面。经过 HCl 去合金化处理后, 支架表面出现了 1~10  $\mu\text{m}$  的多微孔网络结构 (图 1b)。而与此不同的是, 经过 NaCl 去合金化处理后的支架, 先经过点蚀形成腐蚀坑, 后在腐蚀坑表面形成了纳米片状结构 (图 1c)。前期诸多研究已经表明, 去合金化电解质对活泼原子的溶解速率和惰性原子的扩散速率影响很大<sup>[21, 25]</sup>。在一定范围内改变腐蚀介质的种类和浓度可调控结构形貌及尺寸<sup>[26, 27]</sup>。去合金化电解质中卤素离子( $\text{Cl}^-$ ) 的加入, 使得电流密度增大, 临界电位降低, 优先会溶解晶界。所以在 1.25% HCl 电解质溶液中, 观察到晶界被外部以任意间隔形成各种较大的孔洞, 这可能是由于缺陷位置的局部刻蚀所致。而在 0.1 mol/L NaCl 电解质溶液中, 合金的基本铸造组织本质上是树枝状<sup>[28]</sup>, 腐蚀会沿着铸造组织, 从而形成纳米片状结构。进一步通过 EDS 对 3 种 Fe-30Mn

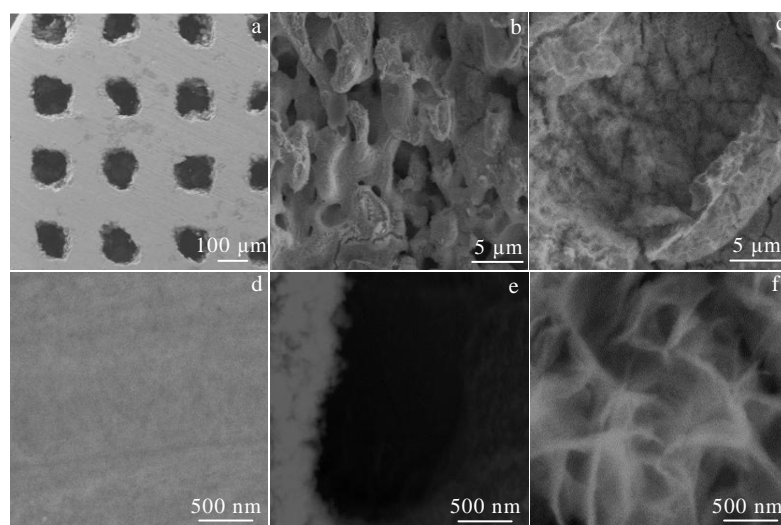


图 1 Fe-30Mn 试样在不同介质溶液中去合金化处理后表面 SEM 形貌

Fig.1 Surface SEM morphologies of Fe-30Mn alloy sample after dealloying in different medium solutions: (a, d) Fe-30Mn; (b, e) Fe-30Mn/HCl; (c, f) Fe-30Mn/NaCl

支架表面 EDS 元素成分进行分析，其结果如图 2 所示。经过去合金化处理后，2 种支架表面的 Mn 元素含量相较于对照组均有降低，而 Fe 元素含量随之上升，表明通过电化学处理能够成功实现 Fe-30Mn 支架表面的去合金化。此外，研究还发现，在 NaCl 电解质溶液中，锰元素含量下降较为明显，说明其去合金化程度更高。结合 SEM 分析表明，更程度的脱锰更利于多孔结构的形成。

### 2.2 亲疏水性分析

材料表面亲疏水性是影响其生物活性及生物学性能的重要因素之一。前期诸多研究已经证实，材料表面亲水性的改善有助于细胞在其表面的粘附和铺展，并一定程度上增强植入物的骨整合能力<sup>[26-29]</sup>。本研究中，利用水接触角测试仪分析 Fe-30Mn 支架微纳表面形貌构建对支架表面亲疏水性的影响，其结果如图 3 所示，纯 Fe-30Mn 支架表面呈现一定程度的疏水性，而经去合金化处理后，2 种改性 Fe-30Mn 支架表面亲水性都得到了显著改善，其中具有多微孔网络结构的 Fe-Mn/HCl 支架表面亲水性的提升程度更加明显。

### 2.3 粗糙度分析

为了评估表面纳米形貌对 Fe-30Mn 支架表面的影响，本研究通过 AFM 对其进行定量的分析和评估，其中不同去合金化 Fe-30Mn 支架 2D 和 3D 高度形貌如图 4 所示。可以观察到，与未处理 Fe-30Mn 支架的光滑表面相比，Fe-30Mn/HCl 和 Fe-30Mn/NaCl 的表面呈现了梯度和更复杂的微纳形貌结构。进一步对其表面粗糙度进行定量分析发现（图 4），经去合金化处理后，材料表面的粗糙度平均值均有明显的增加。

### 2.4 ICP 定量分析

为了评估表面纳米形貌对 Fe-30Mn 支架降解速率的影响，本研究通过 ICP 对其进行定量的分析和

评估（图 5）。可以观察到，与未处理 Fe-30Mn 支架相比，在第 5 d 时，经去合金化处理的支架释放 Fe 和 Mn 离子的量明显增加。

### 2.5 体外电化学耐腐蚀性测试

图 6a 显示了 3 种样品（Fe-30Mn、Fe-30Mn/HCl 和 Fe-30Mn/NaCl）暴露在 PBS 溶液中的开路电位图。

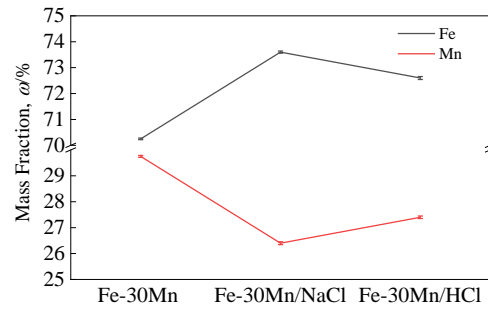


图 2 Fe-30Mn 试样在不同介质溶液中去合金化处理后表面的 EDS 成分分析

Fig.2 EDS analysis results of Fe-30Mn alloy samples after dealloying in different medium solutions

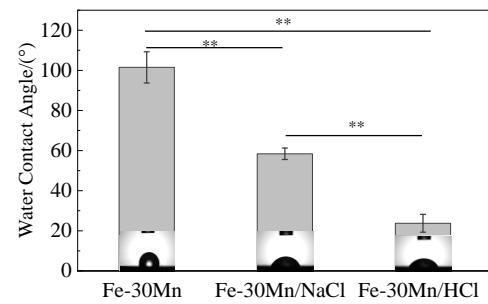


图 3 Fe-30Mn 试样在不同介质溶液中去合金化处理后接触角测定

Fig.3 Water contact angle of Fe-30Mn samples after dealloying in different medium solutions

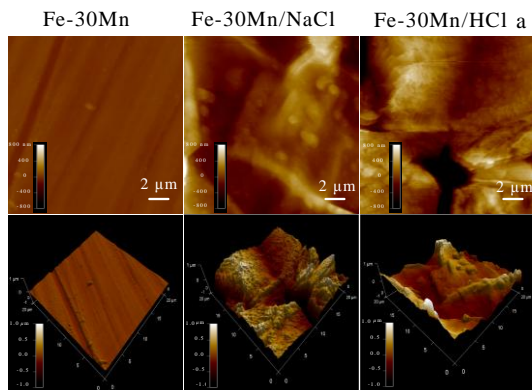
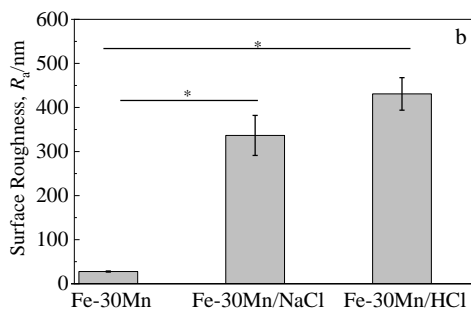


图 4 Fe-30Mn 试样在不同介质溶液中去合金化处理后 AFM 分析

Fig.4 AFM analysis of Fe-30Mn alloy samples after dealloying in different medium solutions: (a) surface topography and (b) surface roughness



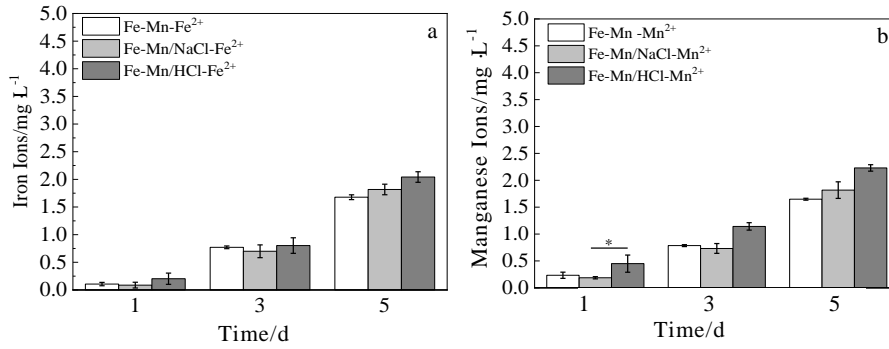


图 5 Fe-30Mn、Fe-30Mn/NaCl 和 Fe-30Mn/HCl 样品的离子释放

Fig.5 Release of iron ions (a) and manganese ions (b) from Fe-30Mn, Fe-30Mn/NaCl and Fe-30Mn/HCl samples

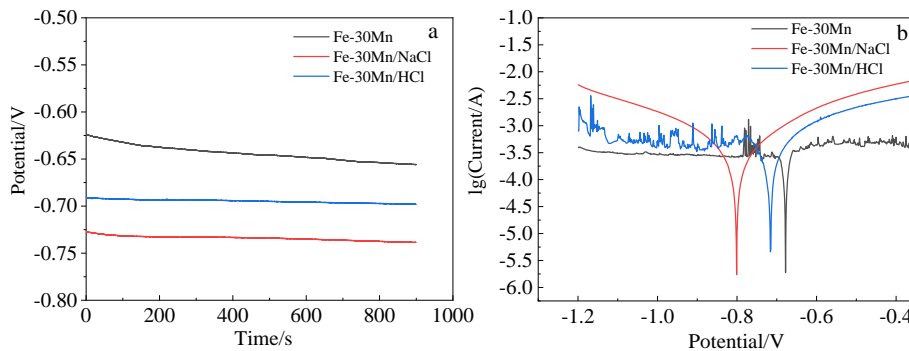


图 6 Fe-30Mn Alloy、Fe-30Mn/NaCl 和 Fe-30Mn/HCl 样品的开路电位和极化曲线

Fig.6 Open circuit potential (a) and polarization curves (b) of Fe-30Mn, Fe-30Mn/NaCl and Fe-30Mn/HCl samples

3 种样品在浸泡 PBS 溶液 1800 s 后, OCPT 均达到相对稳定状态, 但 Fe-30Mn/HCl 和 Fe-30Mn/NaCl 的 OCPT 值明显低于 Fe-30Mn 合金, 表明改性处理后的 Fe-30Mn Alloy 合金具有较低的电化学稳定性和更高的腐蚀倾向。图 6b 显示了 3 种样品在 PBS 溶液中的典型动电位极化曲线。可以看出 3 种样品的极化曲线都呈现出类似的变化趋势, 表明其在电化学测试期间具有相似的腐蚀行为。为进一步定量分析其差异, 本研究利用阴极极化曲线的塔菲尔外推法计算了包括腐蚀电位 ( $E_{\text{corr}}$ ) 和腐蚀电流密度 ( $i_{\text{corr}}$ ) 在内的极化参数。Fe-30Mn 和 Fe 理论密度分别为 7.67、7.87  $\text{g}/\text{cm}^3$ <sup>[22]</sup>, 本研究材料 Fe-30Mn 的密度为 7.62  $\text{g}/\text{cm}^3$ <sup>[24]</sup>。腐蚀速率 ( $C_{\text{re}}$ ) 由 ASTM G59-97 中的公式确定:

$$C_{\text{re}} = 3.27 \times 10^{-3} I_{\text{corr}} EW / \rho \quad (1)$$

其中,  $EW$  为当量质量,  $\rho$  为试样密度。基于反应  $\text{Fe} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ ,  $EW$  为 27.9 g/eq。

表 1 为 3 种样品在 37  $^{\circ}\text{C}$  下的 PBS 溶液中的动态电位极化腐蚀参数。如表 1 所示, Fe-30Mn、Fe-30Mn/NaCl 和 Fe-30Mn/HCl 样品的  $E_{\text{corr}}$  分别为 -0.66、-0.81

和 -0.71 V, 而三者的  $i_{\text{corr}}$  则分别为 11.4、20.7 和 16.3  $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。结果说明, 相较于 Fe-30Mn 样品, Fe-30Mn/NaCl 和 Fe-30Mn/HCl 的  $E_{\text{corr}}$  都有所降低,  $i_{\text{corr}}$  都有所增加。上述的电化学耐腐蚀性测试结果表明, 在 37.4  $^{\circ}\text{C}$ 、pH=7.4 的 HBSS 中, Fe-30Mn/NaCl 和 Fe-30Mn/HCl 相较 Fe-30Mn 而言具有更低的耐蚀性。Schinhammer 等人<sup>[27]</sup>所报道的研究表明烧结合金的多孔性质会通过增加金属的有效暴露表面积来提高腐蚀速率。与之类似, 在本研究中发现表面微纳结构的构建对铁基体的降解起到了明显的促进作用。这主要是因为微纳结构的构建能够显著增加支架表面的粗糙度和比表面积, 加大其与周边溶液的接触面积, 进而促进基体材料更快降解。其次, 去合金化处理过程对基体表面惰性氧化膜的破坏可能也是其耐蚀性降低的原因之一。先前的研究表明, 由于铁和锰氧化物膜之间的结构不匹配, 锰的加入可以进一步改变氧化物层的介电行为, 允许更大的传输通过氧化物层, 从而增加表面腐蚀速率<sup>[30]</sup>。

## 2.6 细胞实验

为评估 3 种支架的细胞相容性, 首先考察细胞在

不同支架 100%浸提液的增殖情况。如图 7 所示，3 种 Fe-30Mn 支架材料不同梯度浸提液中细胞都有增殖趋势，显示细胞生长活力状态良好。但是相对于空白对照，其增殖要小于对照组。可能是因为 Fe-30Mn 支架降解，产生  $Fe^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ ，并且局部离子浓度高，对细胞产生影响。

为进一步评估细胞相容性，观察细胞状态，利用 FDA/PI 染液将活/死细胞分别浸染后通过 CLSM 进行观察拍照，其中活细胞呈绿色，死细胞呈红色。进而即可通过活细胞密度和死细胞数量定性评估不同支架 100%浸提液细胞的生长状态是否良好。如图 8 所示，整个培养期间，细胞在 3 种支架浸提液生长状况良好，较少观察到死细胞（红色），间接表明 Fe-30Mn、Fe-30Mn/HCl 和 Fe-30Mn/NaCl 均具有良好的生物相容性。随着培养时间的延长，所有支架 100%浸提液里细胞密度随之增加，且细胞也逐渐铺展，呈现多边形或纤维状。利用鬼笔环肽和 DAPI 染色通过 CLSM 观察培养在 3 种 Fe-30Mn 支架 100%浸提液中 MC3T3-E1 细胞的铺展。如图 9 所示，3 种 Fe-30Mn 支架都表现出良好的铺展，细胞有更多的胞质扩展，丝状伪足扩展和圆形或椭圆形核，表现出更好的细胞扩散状态。

综合以上结果可知，尽管去合金化处理显著提升了 Fe 基支架的降解速度，促使其离子释放速度加剧，

但并未影响到 Fe 基支架的生物相容性。此外，去合金化处理后的支架表面所具备的复杂微纳结构和高粗糙度，将更有益于干细胞和成骨细胞在其表面的成骨分化，进而促进支架植入体内的新骨长入和快速骨整合。Yang 等人<sup>[31]</sup>的研究就曾指出，喷砂和酸蚀处理后的粗糙钛表面能够通过促进骨髓间充质干细胞的成骨分化显著改善其与宿主骨之间的骨整合性能。此外，Li 等人<sup>[32]</sup>的研究也发现，钛基底表面粗糙度的增加能够调控巨噬细胞的免疫响应促进成骨细胞的增殖和分化。由此可知，经去合金化处理后的 Fe 基支架具备较高的促成骨分化潜力，植入体内后有望获得较好的成骨修复效果。在下一步研究工作中，本研究团队将对其进行深入的体内外实验评价及验证。

表 1 3 种样品在 37 °C 下的 PBS 溶液中的动态电位极化腐蚀参数

Table 1 Dynamic potential polarization corrosion parameters of three samples in PBS solution at 37 °C

Sample	$E_{corr}/V$	$i_{corr}/\mu A \cdot cm^{-2}$	Corrosion rate/ $mm a^{-1}$
Fe-30Mn	-0.66	11.4	0.136
Fe-30Mn/NaCl	-0.81	20.7	0.247
Fe-30Mn/HCl	-0.71	16.3	0.195

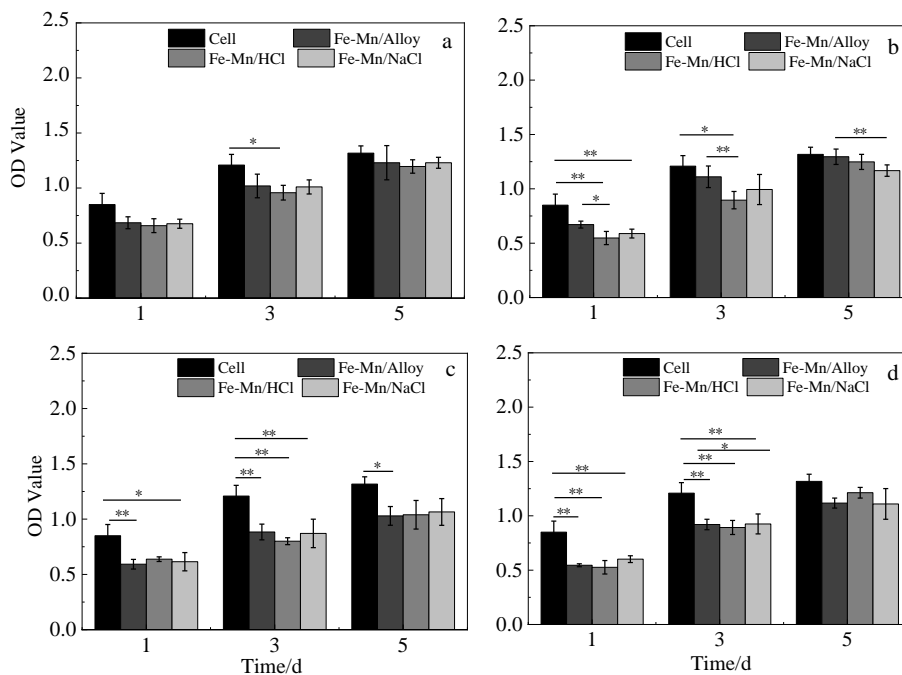


图 7 MC3T3-E1 细胞在不同 Fe-30Mn 支架梯度浸提液培养 1、3、5 d 后的 CCK-8 增殖情况

Fig.7 CCK-8 analysis of MC3T3-E1 cells cultured on different Fe-30Mn scaffold gradient extraction solutions for 1, 3, and 5 d: (a) 10%, (b) 25%, (c) 50%, and (d) 100%

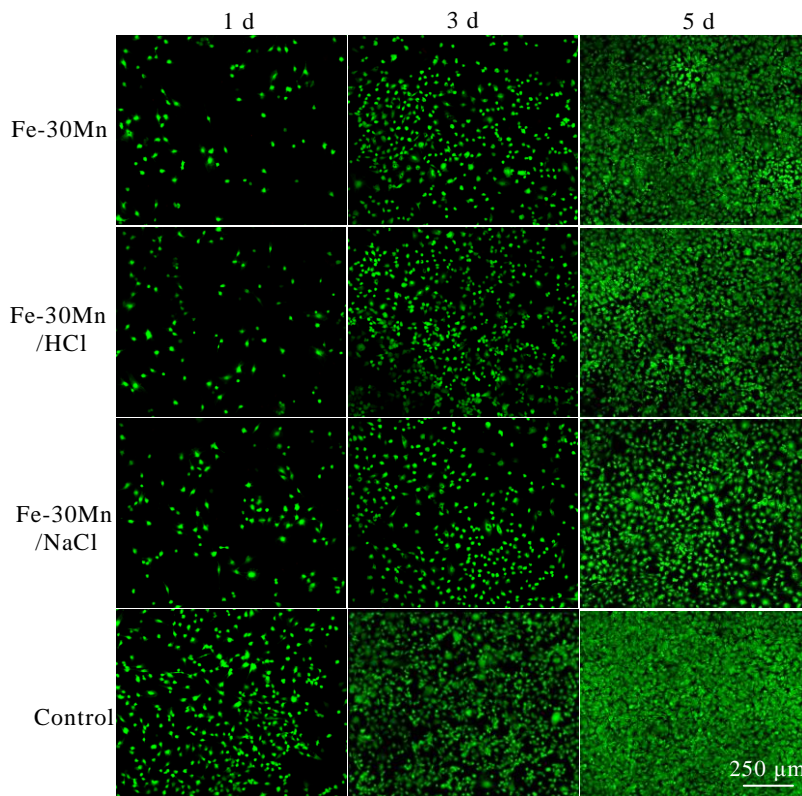


图 8 MC3T3-E1 细胞在不同 Fe-30Mn 支架 100% 浸提液培养 1、3、5 d 后的形貌

Fig.8 Morphologies of MC3T3-E1 cells cultured on different Fe-30Mn scaffold 100% extraction solution for 1, 3, and 5 d (green: live cells; red: dead cells)

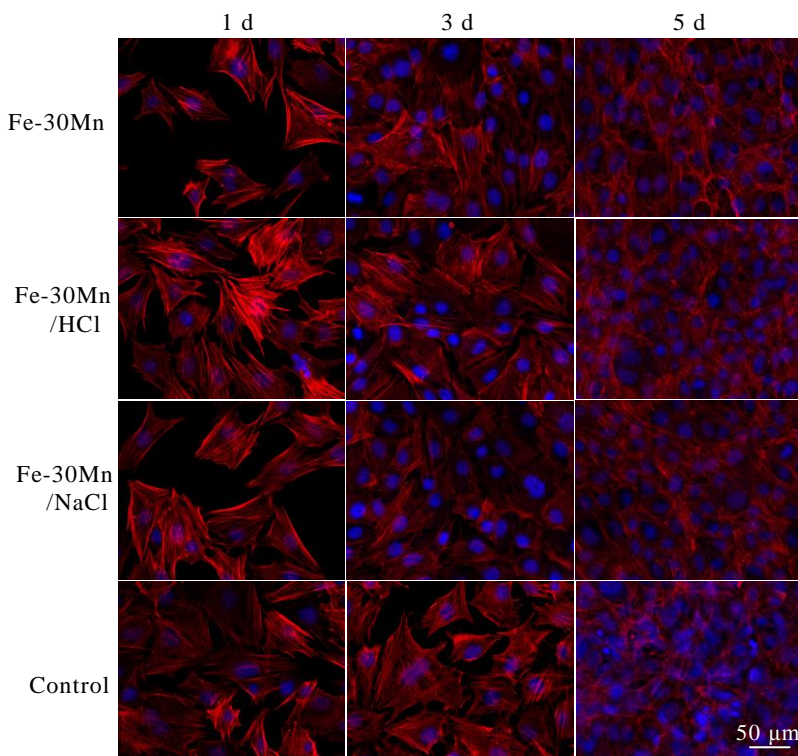


图 9 MC3T3-E1 细胞在不同 Fe-30Mn 支架 100% 浸提液培养 1、3、5 d 后的形貌

Fig.9 Morphologies of MC3T3-E1 cells cultured on different Fe-30Mn scaffold 100% extraction solution for 1, 3, and 5 d (blue: cell nucleus; red: cytoskeleton)

### 3 结 论

1) 本研究通过电化学技术在 Fe-30Mn 支架表面成功实现了 Mn 的去合金化处理。通过不同介质溶液的选择,能够在支架表面形成多微孔网络结构和纳米片状结构,显著改善支架表面亲水性,增大其表面粗糙度,并降低其耐蚀性。其中,具多微孔网络结构的表面更为粗糙,且亲水性更好。

2) 经去合金化处理后的支架,释放离子速度增加,但其离子浓度对细胞不产生明显毒性,可支持细胞的贴附、生长和增殖,具有良好的生物相容性。

3) 本研究针对当前铁基合金生理条件下降解速度与新骨生成速度不匹配难题,提供了一种可供选择的表面改性方法,在临床骨科领域有着较好的应用潜力。

#### 参考文献 References

- [1] Nagels J, Stokdijk M, Rozing P M. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*[J], 2003, 12(1): 35
- [2] Schemitsch E H. *Journal of Orthopaedic Trauma*[J], 2017, 31(5): 20
- [3] Schmitz J P, Hollinger J O. *Clinical Orthopaedics and Related Research*[J], 1986, 205: 299
- [4] Chou D T, Wells , Hong D *et al. Acta Biomaterialia*[J], 2013, 9(10): 8593
- [5] Fishman J A, Greenwald M A, Grossi P A. *Clinical Infectious Diseases*[J], 2012, 55(5): 720
- [6] Hannink G, Arts J J C. *Injury*[J], 2011, 42: 22
- [7] Roberts T T, Rosenbaum A J. *Organogenesis*[J], 2012. 8(4): 114
- [8] Wang W, Yeung K. *Bioactive Materials*[J], 2017, 2(4): 224
- [9] Jacobs J J, Hallab N J, Skipor A K *et al. Clinical Orthopaedics and Related Research*[J], 2003, 417: 139
- [10] Wang J Y, Wicklund B H, Gustilo R B *et al. Biomaterials*[J], 1996, 17(23): 2233
- [11] Cockerill I, Su Y, Sinha S *et al. Materials Science and Engineering C*[J], 2020, 110: 110 738
- [12] Yusop A H, Bakir A A, Shaharom N A *et al. International Journal of Biomaterials*[J], 2012, 2012: 641 430
- [13] Wang Yong(王 勇), Liao Zhidong(廖治东), Song Changjiang(宋长江) *et al. Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与工程)[J], 2013, 42(4): 661
- [14] Peng Xiaodong(彭晓东), Li Junchen(李俊辰), Li Wenjuan(李文娟) *et al. Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与工程)[J], 2013, 42(10): 1993
- [15] Li Ying(李 英), Ning Chengyun(宁成云), Li Honglong(李红龙) *et al. Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与工程)[J], 2015, 44(10): 2566
- [16] Song Yuwei(宋玉玮), Qiao Yang(乔 阳). *Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与工程)[J], 2021, 50(4): 10
- [17] Cheng J, Liu B, Wu Y H *et al. Journal of Materials Science & Technology*[J], 2013, 29(7): 619
- [18] Dehghan-Manshadi A, Stjohn D H, Dargusch M S. *Materials*[J], 2019, 12(10): 1572
- [19] Zheng Y F, Gu X N, F Witte. *Materials Science and Engineering R*[J], 2014, 77: 1
- [20] Venezuela J, Dargusch M S. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*[J], 2020, 24(3): 100 822
- [21] Liu W B, Zhang S C, Li N *et al. Journal of the Electrochemical Society*[J], 2012, 159(1): S3
- [22] Hermawan H, Purnama A, Dube D *et al. Acta Biomaterialia*[J], 2010, 6(5): 1852
- [23] Sharma P, Jain K G, Pandey P M *et al. Materials Science and Engineering C*[J], 2020, 106: 1852
- [24] Nie Y, Chen G, Peng H B *et al. Acta Biomaterialia*[J], 2021, 121: 724
- [25] Wang X G, Qi Z, Zhao C C *et al. The Journal of Physical Chemistry C*[J], 2009, 113(30): 13 139
- [26] Rupp F, Scheideler L, Olshanska N *et al. Journal of Biomedical Materials Research Part A*[J], 2006, 76(2): 323
- [27] Schinhammer M, H änzi A C, L öffler J F *et al. Acta Biomaterialia*[J], 2010, 6(5): 1705
- [28] Heiden M, Johnson D, Stanciu L. *Acta Materialia*[J], 2016, 103: 115
- [29] Ludovica P, Benedetta G, Massimiliano G B *et al. Materials Science and Engineering C*[J], 2020, 117: 111 307
- [30] Krauss G. *Steels Processing, Structure, and Performance*[M]. Ohio: ASM International Materials Park, 2005
- [31] Yang W E, Huang H H. *Journal of Dental Research*[J], 2021, 100(4): 002 203 452 110 010
- [32] Li X Z, Huang Q L, Elkhooly T A *et al. Biomedical Materials*[J], 2018, 13(4): 045 013



## Regulation of Surface Micro-Nano Structure of Porous Fe-Mn Alloy and Evaluation on Its Biological Performance

Chen Zhikun<sup>1,2</sup>, Yuan Bo<sup>1,2</sup>, Nie Yong<sup>3</sup>, Peng Huabei<sup>4</sup>, Zhu Xiangdong<sup>1,2</sup>, Zhang Xingdong<sup>1,2</sup>

(1. National Biomedical Materials Engineering and Technology Research Center, Chengdu 610064, China)

(2. College of Biomedical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

(3. West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

(4. College of Mechanical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

**Abstract:** Fe-based biodegradable metals having good biocompatibility and excellent mechanical property exhibit great promise for applications in orthopedic implants, while the slow degradation rate is a major bottleneck. In this study, the surface of the porous Fe-30Mn scaffold was dealloyed by electrochemical technology. When using hydrochloric acid and sodium chloride as medium solution in dealloying treatment, micro-nano porous network and sheet-like structures were formed on the surface of the scaffolds, respectively. The contact angle and surface roughness tests show that the two micro-nano structure significantly improves the hydrophilicity of the Fe-30Mn scaffold and enhances its roughness. The Fe-30Mn with micro-nano porous network exhibits higher roughness and hydrophilicity than that of the Fe-30Mn with sheet-like structures. The degradation rate of the scaffolds before and after alloying were evaluated by the static immersion method and electrochemical corrosion test. The results show that the construction of surface micro-nano structure can accelerate the degradation of the scaffold. The in vitro cell culture using MC3T3-E1 cells shows that all porous Fe-30Mn scaffolds has good cytocompatibility. The above results confirm that the Fe-30Mn scaffold has a suitable degradation rate and good biocompatibility after electrochemical dealloying treatment, suggesting its great clinical application prospect in the fields of bone repair.

**Key words:** porous Fe-Mn scaffold; dealloying; surface micro-nano structure; degradation performance; biological effect

---

Corresponding authors: Yuan Bo, Ph. D., Associate Professor, National Engineering Research Center for Biomaterials, Sichuan University, Chengdu 610064, P. R. China, Tel: 0086-28-85407987, E-mail: scuyb@scu.edu.cn