

面向椅旁应用的光响应细胞膜仿生涂层构建及其义齿基材防污改性研究

鲁道欢¹ 陈志宇² 强峰宾^{1,2} Ishihara Kazuhiko^{3,4} 汤静洁¹ 韩建民⁵ 高博韬¹

¹广东省科学院生物与医学工程研究所,广东省医用电子仪器及材料重点实验室,广州 510316; ²河北医科大学口腔医院口腔修复科,石家庄 050000; ³日本东京大学工学部材料工程系,东京 113-8656; ⁴日本大阪大学工学部材料生产科学系,大阪 565-0871; ⁵天津医科大学口腔医院,天津 300070

通信作者:高博韬,Email:gaobotao1984@outlook.com

【摘要】 目的 研究兼具细胞膜仿生磷酸胆碱基团与二苯甲酮(BP)光响应基团的聚合物涂层对聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)义齿基材表面的抗生物污染性能。**方法** 合成含BP基团的光反应单体4-(3-甲基丙烯酰氧基-2-羟丙氧基)二苯甲酮(MHPBP),将其与细胞膜仿生单体2-甲基丙烯酰氧乙基磷酸胆碱(MPC)通过自由基聚合,制备3种不同MPC/MHPBP物质的量比(9:1、8:2、7:3)的聚合物(简称PMH)。采用浸涂-紫外线照射法在PMMA表面构建亲水涂层。通过水接触角筛选最优配比(优选PMH82)。通过蛋白吸附、细胞黏附与细菌黏附实验评价涂层抗污性能,细胞计数(CCK-8)法和溶血实验评价其生物相容性。多组间比较采用单因素方差分析及Tukey检验,两组间比较采用独立样本 t 检验。**结果** 成功合成了MHPBP单体及PMH91、PMH82、PMH73聚合物。抗生物污染实验显示,PMMA裸片表面蛋白吸附量为 $(4.0 \pm 0.5) \mu\text{g}/\text{cm}^2$,PMH82涂层表面吸附量降低至 $(2.6 \pm 0.2) \mu\text{g}/\text{cm}^2$,差异具有统计学意义($t=4.8, P=0.008$)。金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)和大肠杆菌(*E. coli*)在PMMA裸片表面的黏附量分别为 $(4.2 \pm 0.9) \times 10^5$ 和 $(4.3 \pm 0.5) \times 10^5$ CFU/cm²,在PMH82涂层表面分别降至 $(2.2 \pm 0.2) \times 10^3$ 和 $(1.4 \pm 0.1) \times 10^3$ CFU/cm²,差异具有统计学意义($t_{S. aureus}=7.5, P_{S. aureus}=0.002; t_{E. coli}=13, P_{E. coli}<0.001$)。细胞黏附实验显示,PMH82涂层表面几乎无细胞附着。CCK-8实验共培养5 d后细胞存活率大于95%。涂层溶血率仅为 $(0.22 \pm 0.15)\%$ 。**结论** 聚合物涂层可显著抑制细胞、细菌黏附与蛋白吸附,且具有良好的细胞相容性和极低的溶血率,为PMMA义齿提供了一种简便、高效的椅旁防污改性策略,具有临床转化应用前景。

【关键词】 细胞膜仿生; 磷酸胆碱; 二苯甲酮; 涂层; 抗生物污染

基金项目:广东省科学院发展专项资金项目(2022GDASZH-2022010110、2023GDASZH-2023010102)

引用著录格式:鲁道欢,陈志宇,强峰宾,等.面向椅旁应用的光响应细胞膜仿生涂层构建及其义齿基材防污改性研究[J/OL].中华口腔医学研究杂志(电子版),2026,20(4):294-303.

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2026.04.006

Construction of photoreactive cell membrane-mimetic coatings for chairside application and their antifouling modification for denture base materials

Lu Daohuan¹, Chen Zhiyu², Qiang Fengbin^{1,2}, Ishihara Kazuhiko^{3,4}, Tang Jingjie¹, Han Jianmin⁵, Gao Botao¹

¹Institute of Biological and Medical Engineering, Guangdong Academy of Sciences, Guangdong Provincial Key Laboratory of Medical Electronic Instruments and Materials, Guangzhou 510316, China; ²Department of Prosthodontics, Hospital of Stomatological, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China; ³Department of Materials Engineering, School of Engineering, The University of Tokyo, Tokyo 113-8656, Japan; ⁴Division of Materials and Manufacturing Science, Graduate School of Engineering, Osaka University, Osaka 565-0871, Japan; ⁵Hospital of Stomatological, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Corresponding author: Gao Botao, Email: gaobotao1984@outlook.com

【Abstract】 Objective To investigate the anti-biofouling effect of a polymer coating that combines

cell membrane - mimetic phosphorylcholine groups and benzophenone (BP) photoresponsive groups on polymethyl methacrylate (PMMA) denture base material. **Methods** A photoreactive monomer containing BP groups, 4-(3-methacryloyloxy-2-hydroxypropyloxy)benzophenone (MHPBP), was synthesized and copolymerized with cell membrane-mimetic 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) via free-radical polymerization to prepare photoreactive three PMH polymers with different MPC/MHPBP molar ratios (9:1, 8:2, 7:3). Coatings were constructed on PMMA surfaces by dip-coating followed by UV irradiation. The optimal formulation (PMH82) was selected based on water contact angle measurements. Anti-fouling performance was evaluated by protein adsorption, cell adhesion, and bacterial adhesion assays, and biocompatibility was assessed using CCK-8 and hemolysis tests. Multiple group comparisons were performed using one-way ANOVA with Tukey's test, while comparisons between two groups were performed using independent samples *t*-test. **Results** The MHPBP monomer and three polymers, PMH91, PMH82, and PMH73, were successfully synthesized. The protein adsorption amount on bare PMMA was $(4.0 \pm 0.5) \mu\text{g}/\text{cm}^2$, which was significantly reduced to $(2.6 \pm 0.2) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ on the PMH82-coated surface ($t = 4.8, P = 0.008$). The adhesion of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*) on bare PMMA was $(4.2 \pm 0.9) \times 10^5$ and $(4.3 \pm 0.5) \times 10^5$ CFU/cm², respectively, and these values decreased to $(2.2 \pm 0.2) \times 10^3$ and $(1.4 \pm 0.1) \times 10^3$ CFU/cm² on the PMH82-coated surface ($t_{S. aureus} = 7.5, P_{S. aureus} = 0.002; t_{E. coli} = 13, P_{E. coli} < 0.001$). Cell adhesion assays showed that almost no cells adhered to the PMH82 coating. After 5 days of co-culture, cell viability exceeded 95% in the CCK-8 assay. The hemolysis rate of the coating was only $(0.22 \pm 0.15)\%$. **Conclusions** The polymer coating significantly inhibits cell adhesion, bacterial adhesion, and protein adsorption, exhibits good cytocompatibility and an extremely low hemolysis rate, and provides a simple and efficient chairside anti-fouling modification strategy for PMMA denture bases, showing promising prospects for clinical translation.

【Key words】 Cell membrane - mimetic; Phosphorylcholine; Benzophenone; Coating; Anti-biofouling

Fund programs: GDAS Project of Sciences and Technology Development (2022GDASZH - 2022010110, 2023GDASZH-2023010102)

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2026.04.006

义齿是口腔修复的重要组成部分,其表面性能直接影响患者的使用体验与口腔健康。聚甲基丙烯酸甲酯(polymethyl methacrylate, PMMA)因其透光性佳、力学性能良好和加工便利,长期以来被广泛用作义齿基材及修复体材料等^[1-3]。然而,临床实践中部分患者对义齿表面的抗污性能有更高需求,例如易形成牙结石者及因年龄增长、维护习惯欠佳或行动不便而难以有效清洁义齿的老年群体^[4-5]。菌斑生物膜易在义齿疏水性PMMA表面形成,进而导致义齿着色,产生异味,甚至诱发义齿性口炎、龋病及牙周病等并发症^[6-7]。因此,开发适用于义齿表面的抗生物污染涂层具有重要临床意义。

生物污染通常始于蛋白质的非特异性吸附,进而介导细菌、细胞等的黏附与增殖^[8]。现有抗污策略主要包括引入抗菌剂与构建抗黏附表面^[9-11]。抗菌剂释放型涂层可短期杀灭微生物,但存在药效衰减、细胞毒性及诱发耐药性等风险^[12-13];抗黏附表面则通过物理屏障抑制初始附着,被认为更为安全、长效^[14-15]。其中,2-甲基丙烯酸酯氧乙基磷酸胆碱[2-

(methacryloyloxy) ethyl phosphorylcholine, MPC]聚合物的侧链带有与细胞膜外层结构相似的磷酸胆碱基团,能够与水分子紧密结合形成水化层,有效抑制非特异性蛋白质吸附,进而抑制细菌和细胞等黏附,具有良好的生物相容性和抗污性能^[16-17]。但MPC单体的合成十分复杂,日本东京大学Ishihara教授^[18]率先突破了MPC产业化的瓶颈,推动了MPC聚合物技术在人工关节、血管支架领域的转化应用。然而,将MPC聚合物接枝到基材表面通常需要无水、无氧等苛刻的工业条件^[19],难以在口腔诊室或患者家中便捷操作,极大地限制了临床普及应用。

鉴于光化学技术在牙科材料领域应用广泛,预先合成光响应性的MPC聚合物,通过光化学技术在义齿基材表面构建抗污涂层,是解决该问题的可行方案。而且该方法操作简便、条件温和、空间选择性高,是理想的表面改性途径^[20]。二苯甲酮(benzophenone, BP)类光引发剂在紫外线(通常波长范围250 ~ 365 nm)照射下能够夺取聚合物链上的氢原子,形成自由基,与材料表面的C—H键发生偶

联反应,实现共价键固定^[19,21]。基于此,本课题组在前期 MPC 聚合物膜材料成果基础上^[22],提出一种“预先合成、椅旁光照”策略,即通过化学合成手段,预先将光响应 BP 基团引入 MPC 聚合物主链,制备出兼具抗污与光反应活性的共聚物。在诊室环境下,仅需简单的浸涂与紫外线照射步骤,即可在义齿基材表面原位构建牢固的抗污涂层,简化操作流程。

基于此,本研究合成了一种含 BP 光反应基团的单体——4-(3-甲基丙烯酰氧基-2-羟丙氧基)二苯甲酮(3-methacryloyloxy-2-hydroxypropyl-4-oxybenzophenone, MHPBP),并采用自由基聚合将其与 MPC 单体共聚,制备了不同 MPC/MHPBP 物质的量比(9:1、8:2、7:3)的聚合物 poly(MPC-co-MHPBP),简称 PMH。通过简单的浸涂-紫外线照射方法在 PMMA 表面形成稳固的亲水涂层,考察 MPC 单元含量对 PMH 涂层亲水性的影响,确定最优单体投料比;系统评价了涂层的亲水性、抗蛋白吸附、抗细胞/细菌黏附性能及生物相容性,以期为 PMMA 义齿提供一种简便、高效、椅旁可即时实施的防污改性新策略。

材料与方法

一、实验材料与仪器

1. 材料: MPC、荧光素二乙酸酯(fluorescein diacetate, FDA; Sigma, 美国); 4-羟基二苯甲酮(hydroxybenzophenone, 4-HBP)、甲基丙烯酸缩水甘油酯(glycidyl methacrylate, GMA)、四甲基氯化铵(tetramethylammonium chloride, TMAC)、2,2'-偶氮二异丁腈(2,2'-azobisisobutyronitrile, AIBN)、牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)、十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)、曲拉通 X-100(上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 乙醚、氯仿、二氯甲烷、NaOH(广州化学试剂厂); PMMA 片材(东莞市惊鸿塑胶有限公司); 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*, ATCC 6538)、大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*, ATCC 8739; 广东环凯微生物科技有限公司); 3T3 小鼠成纤维细胞(中国科学院细胞库); 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、DMEM 细胞培养基、磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS; Gibco, 美国); 细胞计数试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8; 上海碧云天生物技术有限公司); Micro BCA 蛋白检测试剂盒(Thermo, 美国)。

2. 主要仪器: 接触角测量仪(DSA25, Krüss, 德国)、酶标仪(Spark, Tecan, 奥地利)、核磁共振波谱

仪(500 MHz, Bruker, 德国)、凝胶渗透色谱仪(Waters 1515, Waters, 美国)、紫外固化灯(UVB, 上海森慧电气有限公司)、离心机(JW1024, 安徽嘉文仪器装备有限公司)和细胞培养箱(MCO-170AICUVL-PC, Sanyo, 日本)、倒置荧光显微镜(DMi8, Leica, 德国)。

二、光反应单体的合成

称取 GMA (14.2 g)、4-HBP (21.8 g) 和 TMAC (1wt%) 加入圆底烧瓶中, 于 85 °C 油浴中搅拌反应 5 h。反应结束后, 加入 100 mL 二氯甲烷溶解产物, 用 0.1 mol/L NaOH 溶液萃取洗涤, 收集有机相, 减压旋蒸除去二氯甲烷, 得到淡黄色黏稠液体 MHPBP。通过核磁共振氢谱(proton nuclear magnetic resonance spectroscopy, ¹H NMR) 和紫外吸收光谱对产物进行表征。

三、不同单体比例聚合物的合成

采用自由基聚合合法合成不同单体配比的 PMH 聚合物。按 MPC 与 MHPBP 的物质的量比(9:1、8:2、7:3)配制总浓度 0.5 mol/L 的乙醇溶液, AIBN 为引发剂(5.0 mmol/L)。通氮气除氧 30 min 后, 于 60 °C 油浴中反应 5 h 至溶液变黏稠, 结束反应。将反应液倒入乙醚/氯仿(90/10, v/v)中, 收集沉淀, 真空干燥后将产物于去离子水中透析 3 d(截留相对分子质量 3 500), 冻干得到 PMH 聚合物。按照单体投料比将聚合物分别命名为 PMH91、PMH82 和 PMH73。采用 ¹H NMR 和紫外吸收光谱进行结构表征, 凝胶渗透色谱(gel permeation chromatography, GPC)测定重均分子量(weight-average molecular weight, *M_w*)和分散指数(polydispersity index, PDI)。

四、涂层的制备

将 PMMA 基材切割成 1 cm×1 cm 大小, 依次用乙醇和去离子水清洗, 氮气吹干。将 PMH 聚合物溶于乙醇中配成 0.2wt% 溶液。将 PMMA 基材浸入溶液中, 静置 1 min 后缓慢取出, 室温干燥, 于 295 nm 紫外线照射下固定。最后, 用去离子水冲洗去除未结合的聚合物。

五、涂层亲水性表征

采用接触角测量仪评价不同 PMH 涂层的亲水性。首先测试不同紫外线照射时间(1、2 min)对涂层亲水性的影响。其次采用座滴法测量涂层水接触角, 将 2 μL 去离子水滴于样品表面, 接触角测量仪记录图像并计算接触角值。每组样品至少测量 15 个不同位置。以未涂层的 PMMA 为对照组。为评估涂层在水环境中的稳定性, 将所有样品浸泡于

去离子水中24 h,其间多次换水冲洗,空气中干燥后再次测量水接触角。综合各涂层亲水性测试结果,筛选出最优的PMH配比用于后续实验。

六、聚合物细胞毒性实验

采用3T3小鼠成纤维细胞评估聚合物的细胞毒性。细胞培养于含10% FBS的DMEM完全培养基中,置于37℃、5% CO₂培养箱中。用DMEM完全培养基配制0.2wt%聚合物溶液。将3T3细胞以5×10³个/孔接种于96孔板,加入上述溶液,分别培养1、3和5 d。于各时间点,每孔加入10 μL CCK-8溶液,37℃孵育2 h后于450 nm测吸光度(A₄₅₀)值。以完全培养基组为阴性对照,以不接种细胞组为空白对照。细胞存活率按以下公式计算

$$\text{细胞存活率} = \frac{A_{\text{实验组}} - A_{\text{空白组}}}{A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}} \times 100\%。$$

培养1、3和5 d后,用FDA对细胞进行染色。染色后用PBS洗涤3次,于倒置荧光显微镜下观察。

七、细胞黏附实验

预先在24孔板中制备PMH82涂层,3T3细胞以6×10⁴个/孔的密度接种,每孔加入1 mL培养基,置于37℃、5% CO₂培养箱中培养24 h。然后,用PBS轻柔漂洗3次去除未黏附细胞,于显微镜下观察细胞黏附形态。对照组未涂层。

八、蛋白吸附测试

采用BCA(bicinchoninic acid)法测定涂层表面吸附的蛋白量。以BSA为模型蛋白,将未涂层的PMMA裸片和PMH82涂层片分别置于24孔板中,加入1 mg/mL的BSA溶液,37℃孵育3.5 h。孵育结束后,取出样品,PBS洗涤3次后转移至新孔板中,加入1% SDS溶液,超声洗脱表面吸附的蛋白。使用Micro BCA蛋白检测试剂盒进行测量,计算单位面积蛋白吸附量。

九、细菌黏附测试

采用平板菌落计数法评价涂层的抗细菌黏附性能。选取*S. aureus*(ATCC 6538)和*E. coli*(ATCC 8739)为测试菌株。将菌液浓度调节至2×10⁶ CFU/mL,将未涂层的PMMA裸片和PMH82涂层片置于48孔板中,每孔中加入0.8 mL菌液,37℃培养3 h。培养结束后,取出样品,用PBS轻轻漂洗3次去除未黏附的细菌。将样品置于装有1 mL PBS的离心管中,超声洗脱表面黏附的细菌,取适当稀释后的洗脱液涂布于LB琼脂平板上,37℃过夜培养后进行菌落计数。

十、溶血实验

采用含有抗凝剂的一次性真空采血管采集大鼠新鲜血液,1 000 r/min离心10 min(离心半径10 cm),分离得到红细胞,用0.9%氯化钠溶液配制成2%红细胞悬液。将未涂层的PMMA裸片和PMH82涂层片置于24孔板中,每孔加入1 mL红细胞悬液,于37℃孵育3 h。以0.9%氯化钠溶液为阴性对照,0.1%曲拉通X-100为阳性对照。孵育后将液体离心(3 000 r/min,离心半径10 cm)5 min,取上清液测定A₅₄₅值。溶血率按以下公式计算^[23]

$$\text{溶血率} = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{阴性}}}{A_{\text{阳性}} - A_{\text{阴性}}} \times 100\%。$$

十一、统计学处理方法

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和Tukey检验,两组间比较采用独立样本*t*检验。*P* < 0.05表示差异具有统计学意义。数据分析均使用Origin 8.5软件。

结 果

一、光反应单体的合成与表征

本研究合成了含BP基团的光反应单体MHPBP。合成路线见图1A,GMA的环氧基团与4-HBP的酚羟基发生开环加成反应。通过¹H NMR确认了MHPBP的化学结构,化学位移5.63和6.16 ppm处为双键端质子峰(=CH₂),证实了MHPBP中成功引入双键(图1B)。通过紫外吸收光谱验证了MHPBP的光敏特性。如图所示,MHPBP与4-HBP在290 nm处呈现出相似的特征吸收峰(图1C),证明了BP基团的成功引入,为后续光反应提供了基础。

二、不同单体比例聚合物的合成与表征

通过自由基聚合法合成了3种具有不同MPC与MHPBP物质的量比的PMH聚合物,其仿生细胞膜结构与分子结构示意图见图2A。其中,MPC单元中的侧链(蓝色区域)模拟了细胞膜表面的磷脂酰胆碱结构;而MHPBP单元引入的BP基团(红色虚线框)则赋予聚合物光响应性。聚合物结构通过¹H NMR确认(图2B)。化学位移3.34 ppm处的强峰归属于MPC单元的三甲基铵基[-N⁺(CH₃)₃],化学位移6.9~8.0 ppm处的多重峰归属于MHPBP单元的苯环质子。通过特征峰积分面积计算实际共聚组成,结果与投料比相近(表1)。GPC测定结果显示(表1),3种PMH聚合物的*M_w*为2.0×10⁴~3.5×10⁴,PDI均小于2.0,符合常规自由基聚合的特征。所有聚合物均可溶于乙醇

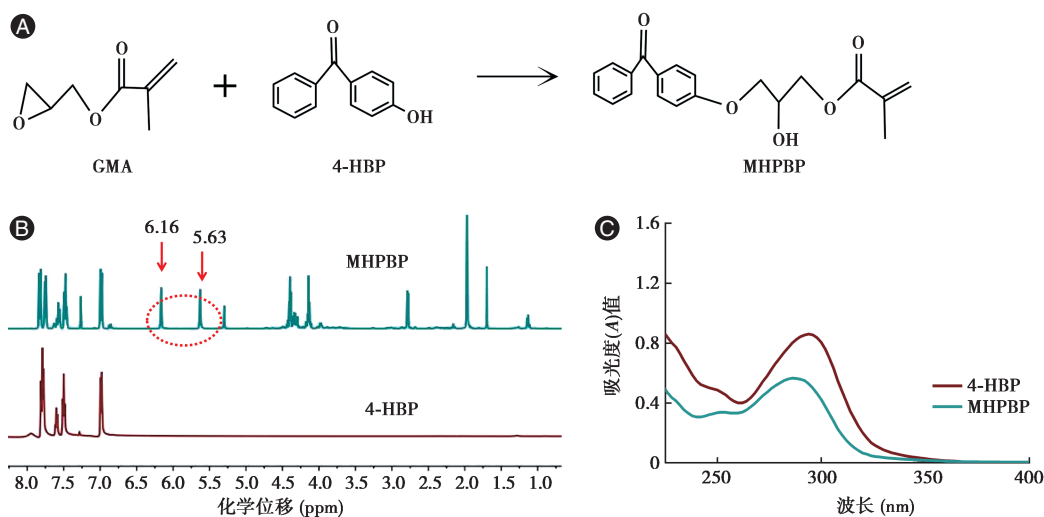


图1 4-羟基二苯甲酮(4-HBP)与甲基丙烯酸缩水甘油酯(GMA)合成光反应单体4-(3-甲基丙烯酰氧基-2-羟丙氧基)二苯甲酮(MHPBP)及其表征 A:4-HBP与GMA反应生成MHPBP;B:4-HBP和MHPBP的核磁共振氢谱(^1H NMR)图,红色虚线圈为双键特征峰;C:4-HBP与MHPBP的紫外吸收光谱图。

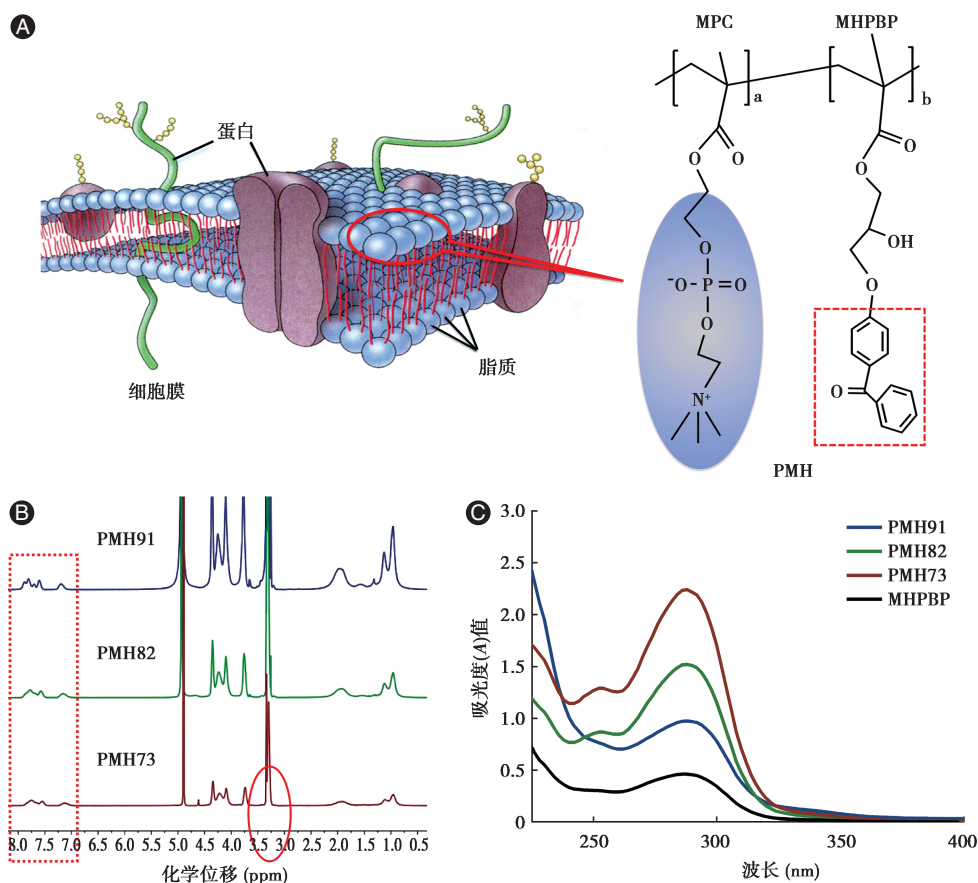


图2 具有仿生细胞膜结构的PMH聚合物的分子结构示意图及其不同组分产物的表征 A:2-甲基丙烯酰氧乙基磷酸胆碱(MPC)仿生细胞膜结构与PMH聚合物的分子结构示意图;B:PMH聚合物的核磁共振氢谱(^1H NMR)图,红色虚线框(化学位移6.9~8.0 ppm)对应MHPBP单元中苯环上芳香质子的特征峰,红色实线圈(化学位移3.34 ppm)对应MPC单元中 $[-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]$ 上质子的特征峰;C:4-(3-甲基丙烯酰氧基-2-羟丙氧基)二苯甲酮(MHPBP)和PMH聚合物的紫外吸收光谱图。PMH:以MPC与MHPBP为共聚单体的聚合物,按照单体投料物质的量比 $[n(\text{MPC}):n(\text{MHPBP})=9:1, 8:2, 7:3]$ 将聚合物分别命名为PMH91、PMH82和PMH73。

和水,便于进行涂层制备。紫外吸收光谱(图2C)显示,PMH聚合物在290 nm附近均保留了BP基团的特征吸收峰,且吸收强度与MHPBP含量正相关。

三、不同聚合物涂层的亲水性

为探究涂层制备条件,首先测试了不同紫外线照射时间对涂层亲水性的影响。如图3A所示,延长

表1 不同单体投料比下PMH聚合物的组成、重均分子量(M_w)及多分散性(PDI)表征

PMH 聚合物	投料比 (MPC:MHPBP)	共聚物组成 ^a (MPC:MHPBP)	M_w ($\times 10^4$)	PDI
PMH91	90:10	89.3:10.7	3.1	1.88
PMH82	80:20	81.5:18.5	2.9	1.79
PMH73	70:30	76:24	2.0	1.96

注:PMH为以MPC和MHPBP为共聚单体的聚合物;MPC:MHPBP为2-甲基丙烯酸酐氧乙基磷酸胆碱(MPC)与4-(3-甲基丙烯酰氧基-2-羟丙氧基)二苯甲酮(MHPBP)在聚合时的投料物质的量比;^a由¹H NMR特征峰积分面积计算。

紫外线照射时间对涂层水接触角几乎无影响,因此后续涂层制备均采用光照1 min。接着,对不同配比涂层的亲水性及稳定性进行测试,结果如图3B~3C所示。未涂层的PMMA裸片水接触角为 $82.6^\circ \pm 3.5^\circ$,呈疏水性;经PMH涂层修饰后,水接触角显著降低:PMH91为 $53.6^\circ \pm 8.1^\circ$,PMH82为 $45.3^\circ \pm 4.2^\circ$,PMH73为 $54.5^\circ \pm 4.0^\circ$,差异具有统计学意义($F=145$, $P<0.001$)。其中PMH82涂层的水接触角最小,亲水性

最佳。浸入水中24 h后,PMH91涂层的水接触角升高至 $57.8^\circ \pm 5.8^\circ$,而PMH82和PMH73涂层的水接触角无明显改变,表明涂层与基材结合更牢固。综上,后续实验选用PMH82涂层。

四、涂层抗生物污染性能

为评估PMH82聚合物涂层的抗生物污染性能,本研究依次开展了抗细胞黏附、抗蛋白吸附及抗菌黏附实验。首先,通过3T3细胞黏附实验评价了PMH82涂层的抗细胞黏附性能。结果显示(图4A~4B),未涂层的空白孔表面黏附了大量细胞且形态伸展良好;相比之下,PMH82涂层表面几乎未观察到细胞黏附。进一步以BSA作为模型蛋白进行抗蛋白吸附实验。如图4C所示,PMMA裸片对BSA吸附量较高[(4.0 ± 0.5) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$],PMH82涂层样品的BSA吸附量则显著降低至(2.6 ± 0.2) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$,差异具有统计学意义($t=4.8$, $P=0.008$)。最后,采用平板菌落计数法评价了PMH82涂层对*S. aureus*和*E. coli*两种代表性病原菌的黏附抑制效果。如图4E所示,PMMA裸片表

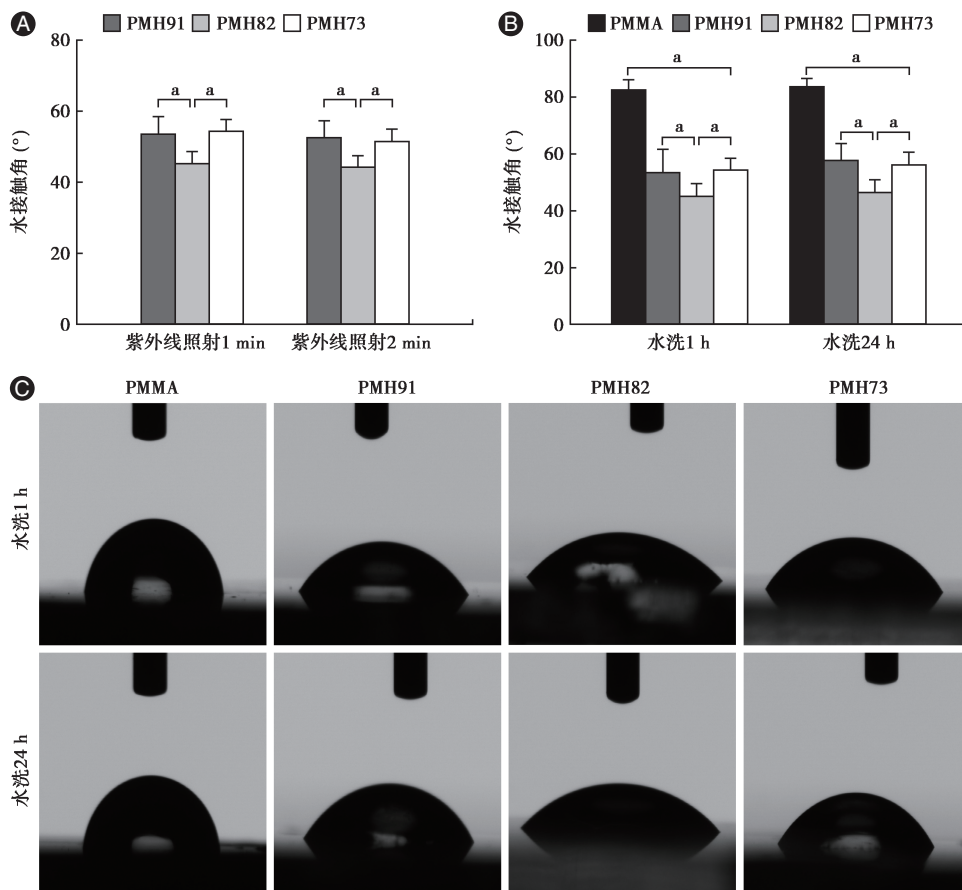


图3 不同PMH聚合物涂层经紫外线照射及水洗后的接触角变化 A:紫外线分别照射1和2 min,不同PMH涂层的水接触角;B~C:未涂层的聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)裸片和不同PMH涂层样品浸入水中1和24 h后的水接触角及代表性图像。PMH:以2-甲基丙烯酸酐氧乙基磷酸胆碱(MPC)与4-(3-甲基丙烯酰氧基-2-羟丙氧基)二苯甲酮(MHPBP)为共聚单体的聚合物,按照单体投料物质的量比[n(MPC):n(MHPBP)=9:1,8:2,7:3]将聚合物分别命名为PMH91、PMH82和PMH73。组间比较差异具有统计学意义(* $P<0.05$)。

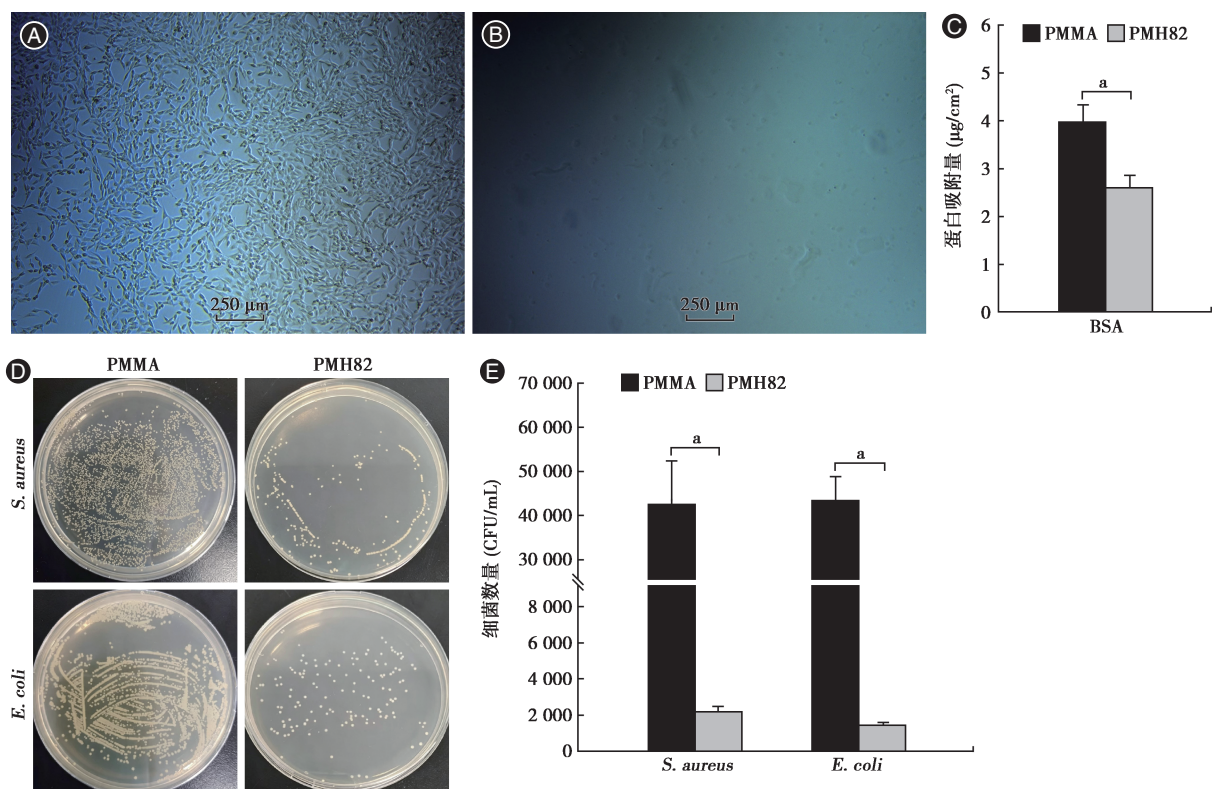


图4 PMH82涂层的抗细胞黏附、抗蛋白吸附及抗菌性能表征 A~B:细胞培养1 d后空白孔和PMH82涂层表面细胞黏附图像;C:聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)裸片和PMH82涂层样品牛血清白蛋白(BSA)吸附量;D~E:PMMA裸片和PMH82涂层样品与金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)和大肠杆菌(*E. coli*)共培养后的涂布结果。PMH82系由2-甲基丙烯酰氧乙基磷酸胆碱(MPC)与4-(3-甲基丙烯酰氧基-2-羟丙氧基)二苯甲酮(MHPBP)按投料摩尔比8:2共聚制得的聚合物。组间比较差异具有统计学意义(* $P < 0.05$)。

面 *S. aureus* 和 *E. coli* 的黏附量分别为 $(4.2 \pm 0.9) \times 10^5$ 和 $(4.3 \pm 0.5) \times 10^5$ CFU/cm²; PMH82 涂层表面细菌黏附量显著减少, 分别降至 $(2.2 \pm 0.2) \times 10^3$ 和 $(1.4 \pm 0.1) \times 10^3$ CFU/cm², 差异具有统计学意义($t_{S. aureus} = 7.5$, $P_{S. aureus} = 0.002$; $t_{E. coli} = 13$, $P_{E. coli} < 0.001$)。综合以上结果表明, PMH82 涂层具有优异的抗生物污染性能。

五、聚合物细胞毒性与溶血性

为评估 PMH82 作为义齿涂层材料的生物安全性, 分别通过 CCK-8 实验和溶血实验考察了其细胞毒性与血液相容性。活细胞荧光染色结果(图 5A ~ 5C)显示, 随着培养时间延长, 细胞数量逐渐增多, 且细胞形态正常。进一步的细胞存活率实验(图 5D)结果表明, 3T3 细胞与 PMH82 共培养 1、3 和 5 d 后, 细胞存活率均高于 90%, 其中第 3 天、第 5 天的细胞存活率均大于 95%。上述结果表明 PMH82 聚合物无细胞毒性。溶血实验结果(图 5E ~ 5F)显示, PMH82 涂层组的溶血率仅为 $(0.22 \pm 0.15)\%$, 远低于 ISO 10993-4 标准规定的 5% 及临床要求的 2%。综上所述, PMH82 聚合物具有良好的细胞相容性和血液相容性, 满足生物医用材料的安全性要求。

讨论

本研究成功合成了一系列含光响应性二苯甲酮基团与细胞膜仿生磷酸胆碱基团的 PMH 聚合物, 并通过简单的浸涂-紫外线照射法在 PMMA 表面构建了亲水抗污涂层。该策略的核心优势在于, 将工业化的复杂接枝过程前移至聚合物合成阶段, 临床仅需椅旁涂布与光照即可完成义齿表面的抗污改性, 操作简便, 无需特殊无水无氧环境, 契合口腔诊室的现实条件。

在分子设计上, 光响应聚合物 PMH 由 MPC 单元与 MHPBP 单元组成, 二者协同可赋予涂层良好的抗污性和稳定性。一方面, MPC 单元中的磷酸胆碱基团与水分子紧密结合形成水合层, 这不仅是抵抗蛋白质非特异性吸附、进而阻断微生物黏附级联反应的关键^[24-25], 而且在界面处产生润滑作用, 能够有效降低摩擦系数, 赋予涂层优异的耐磨性。大量研究已证实, MPC 聚合物涂层在体内可长期稳定存在^[26]。例如, 在冠状动脉支架中, MPC 聚合物涂层在植入 6 个月后仍能稳定存在; 表面接枝 MPC 聚合

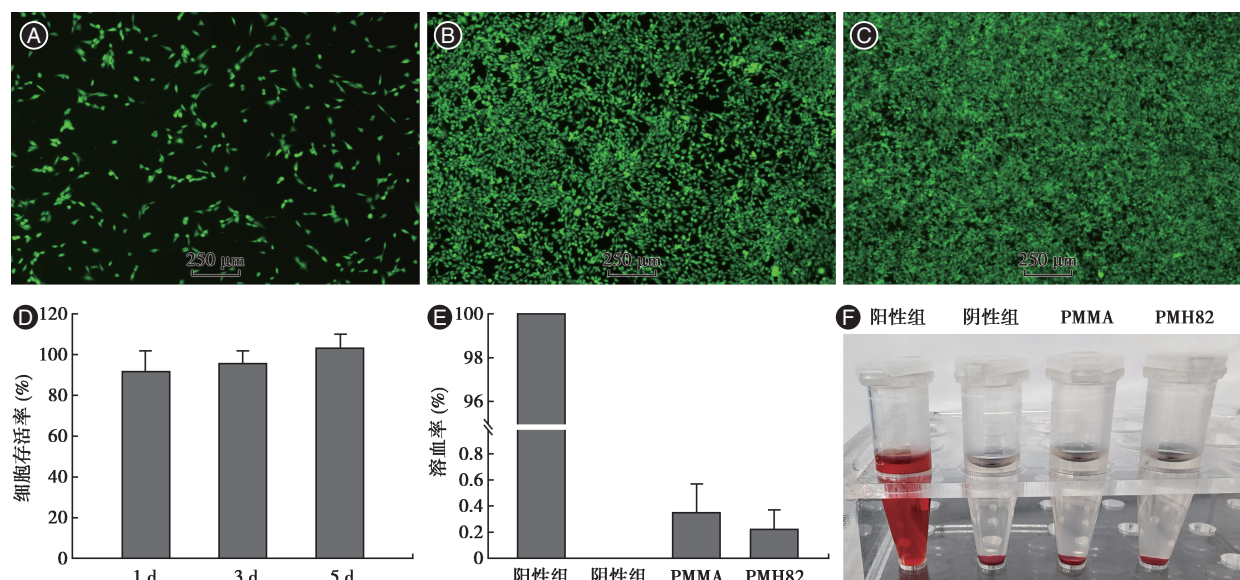


图5 PMH82涂层的体外细胞相容性与溶血性评估 A~C:3T3细胞与PMH82分别共培养1、3、5 d后活细胞荧光染色图;D:3T3细胞与PMH82分别共培养1、3、5 d后细胞存活率柱图;E~F:聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)裸片和PMH82涂层样品的溶血率定量检测结果和溶血实验照片。PMH82系由2-甲基丙烯酸酐氧乙基磷酸胆碱(MPC)与4-(3-甲基丙烯酸酐氧基-2-羟丙氧基)二苯甲酮(MHPBP)按投料物质的量比8:2共聚制得的聚合物。

物的超高相对分子质量聚乙烯(ultra-high molecular weight polyethylene, UHMWPE)衬垫经2 000万次滑动循环后,产生的磨损颗粒数量不足未处理UHMWPE的1%。另一方面,MHPBP单元中的BP基团,其光响应吸收峰约为290 nm。本研究采用295 nm紫外线照射,该波长处于BP基团的高效激发区间,能够有效促使BP从PMMA基材表面及PMH聚合物链上夺取氢原子,生成大量自由基,实现涂层与基材的原位共价锚定,赋予涂层优异的界面稳定性,从而解决传统物理涂覆易脱落的问题。文献研究表明,基于BP光化学固定方法所构建的涂层在含水及摩擦环境中表现出优异的稳定性的稳定性。例如,Nakano等^[27]将MPC与少量含BP基团的单体MBPP通过紫外线照射交联于聚醚醚酮表面,所形成的涂层在1 000次连续摩擦测试后仍保持极低摩擦系数且表面无划痕;Yuan等^[28]将BP-PEG通过紫外光固定于聚氨酯表面,在 9×10^4 次循环拉伸后仍保持优异的抗血小板黏附性能;Koc等^[29]制备的含二苯甲酮衍生物的光交联共聚物涂层在特殊配制盐水中浸泡7 d后,厚度保持率 $\geq 96\%$ 。尽管上述研究证实了BP光固化涂层良好的稳定性,但口腔内长期食物摩擦及日常刷洗所造成的长期磨损仍不容忽视。对此,本研究构建的“光照固定”方法不仅操作简便,更赋予了涂层独特的椅旁“可维护性”:当涂层因长期使用出现局部脱落时,医师在患者复诊时即可快速重新涂布并光照固化,使抗污功能得以恢复。此外,295 nm

紫外光自身还具有直接杀菌能力^[30-31],可在涂层固化改性的同时抑制或杀灭口腔常见致病菌,实现光照改性、同步抗菌的双重效果。相较于常规单一光交联改性方案,这种集共价锚定、可维护性与同步杀菌于一体的设计,进一步提升了义齿表面的生物污染防控能力,是本技术的重要创新优势。

水接触角测试结果表明,PMH82中MPC与MHPBP的比例(80:20)实现了亲水性与稳定性的最佳平衡。PMH91虽MPC含量最高,但MHPBP含量仅10%,紫外线照射后可能因锚定位点不足,导致部分聚合物在清洗过程中被洗脱,因此亲水性改善有限且水中浸泡24 h后接触角升高(图3B~3C)。PMH73中MHPBP比例升高,引入了更多疏水苯环结构,导致整体的亲水性降低。PMH82则兼具足够的锚定密度和较高的MPC含量,实现了二者的最优平衡。上述结果与文献中关于MPC/疏水单体比例平衡影响涂层亲水性的报道一致^[32-33]。除了亲水性能,涂层的厚度也是决定其临床适用性的关键因素。值得指出的是,本研究制备的PMH82涂层厚度处于纳米级。据文献报道,溶剂蒸发法制备的MPC聚合物涂层通常为纳米级,在0.1wt%~1.0wt%的聚合物浓度下,涂层厚度为20~100 nm^[34]。Koc等^[29]通过AFM测得由二苯甲酮衍生物BPEMA光交联形成的涂层粗糙度仅为0.23~0.37 nm。由此可推测,PMH82涂层的厚度和粗糙度均远小于基材表面的粗糙度及义齿与口腔黏膜之间的生理间隙。因此,

涂层的引入既不会增加义齿表面粗糙度,也不会对软组织产生压迫或疼痛。

在抗生物污染实验中,PMH82涂层显示出良好的抗污效果。3T3细胞在涂层表面几乎不黏附,BSA吸附量明显下降,对 *S. aureus* 和 *E. coli* 的黏附抑制率均超过99%。值得指出的是,这种基于物理排斥的防污机制不释放抗菌剂,不易诱导细菌耐药性,对长期使用的口腔医疗器械尤其重要。此外,抗黏附涂层还可避免死菌在表面积形成二次污染的风险。

生物相容性评价是生物医用材料临床转化的必要前提。本研究中,PMH82聚合物与3T3细胞共培养5 d后细胞存活率大于95%,活细胞荧光染色显示细胞形态正常、增殖良好,表明聚合物无细胞毒性。溶血实验中,PMH82涂层的溶血率仅0.22%,远低于ISO 10993-4标准规定的5%及临床对植入材料的通常要求($<2\%$)。MPC聚合物因其仿细胞膜结构,已被证明具有良好的血液相容性,不会激活补体系统或诱导血小板聚集和溶血^[35-36]。本结果进一步证实PMH82涂层在细胞水平和血液接触层面均具有优良的安全性。

此外,本研究构建的“预合成、光照固定”策略操作简便,不仅适用于PMMA义齿基材,也有望拓展至其他口腔高分子修复体、正畸矫治器及种植愈合基台等表面的防污处理。然而,本阶段研究主要聚焦于方法建立与初步性能验证,口腔内唾液、温度波动、食物色素及义齿日常刷洗产生的机械摩擦等复杂因素,均可能影响涂层的长期稳定性。因此,后续仍需通过体外模拟义齿应用环境,系统评估涂层的长期稳定性和耐刷洗性能,并进一步开展动物实验及临床试验加以全面验证。

综上所述,本研究设计合成了含光响应二苯甲酮基团与细胞膜仿生磷酸胆碱基团的PMH聚合物,并基于此建立了适用于PMMA义齿基材的椅旁即时光化学抗污改性方法。其中PMH82涂层综合性能最优,不仅亲水性强,且能有效抑制蛋白质吸附、细胞及 *S. aureus*、*E. coli* 等致病菌的黏附。在295 nm紫外线照射下,BP基团在高效引发共价固定的同时,还有望发挥协同的直接抑菌作用,实现涂层构建与表面消毒的一体化。PMH82聚合物无细胞毒性,血液相容性良好。该技术操作简便、条件温和,为口腔诊室内即时提升义齿抗生物污染性能提供了新方案,具备可观的临床转化前景。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 鲁道欢:实施实验、收集分析数据及撰写文章;陈志宇:研究指导、修改文章;强峰宾:实施实验、收集数据;Ishihara Kazuhiko:研究指导、技术支持;汤静洁:实验及表征指导、修改文章;韩建民:研究指导、修改文章;高博韬:实验设计、研究指导、修改文章、经费支持

参 考 文 献

- [1] Altalla H, Alawawda O, Bayindir F. Three-dimensionally printed versus conventional heat - polymerized PMMA denture base properties: A systematic review and Meta-analysis[J]. J Prosthet Dent, 2025, 134(6): 2191.e1-2191.e12. DOI: 10.1016/j.prosdent.2025.08.014.
- [2] Pagano S, Lombardo G, Caponi S, et al. Bio - mechanical characterization of a CAD/CAM PMMA resin for digital removable prostheses[J]. Dent Mater, 2021, 37(3): e118-e330. DOI: 10.1016/j.dental.2020.11.003.
- [3] 王琪, 钟声, 张彩娣, 等. 计算机辅助设计与辅助制作聚甲基丙烯酸甲酯单端粘接桥修复儿童单颗前牙缺失的临床效果评价[J]. 中华口腔医学杂志, 2023, 58(11): 1116-1121. DOI: 10.3760/cma.j.cn112144-20230831-00127.
- [4] Lim T W, Huang S, Burrow M F, et al. A randomised crossover clinical trial of the efficacy of an ultrasonic cleaner combined with a denture cleanser on the microbiome on removable dentures among community-dwelling older adults[J]. J Dent, 2025(156): 105709. DOI: 10.1016/j.jdent.2025.105709.
- [5] Azami-Aghdash S, Ebadi S S, Sardareh S, et al. The impact of professional oral health care on the oral health of older people: A systematic review and Meta - analysis [J]. BMC Oral Health, 2024, 24(1): 1558. DOI: 10.1186/s12903-024-05382-4.
- [6] Kreve S, Cândido Dos Reis A. Antibiofilm capacity of PMMA surfaces: A review of current knowledge[J]. Microb Pathog, 2025 (202): 107426. DOI: 10.1016/j.micpath.2025.107426.
- [7] Correa S, Matamala L, González JP, et al. Development of novel antimicrobial acrylic denture modified with copper nanoparticles [J]. J Prosthodont Res, 2024, 68(1): 156-165. DOI: 10.2186/jpr.JPR_D_22_00227.
- [8] Khan S A, Shakoor A. Recent strategies and future recommendations for the fabrication of antimicrobial, antibiofilm, and antibiofouling biomaterials [J]. Int J Nanomedicine, 2023 (18): 3377-3405. DOI: 10.2147/IJN.S406078.
- [9] Kasapgil E, Garay - Sarmiento M, Rodrigue - Emmenegger C. Advanced antibacterial strategies for combatting biomaterial - associated infections: A comprehensive review [J]. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2024, 16(6): e2018. DOI: 10.1002/wnan.2018.
- [10] Wu M, Liu J, Wang X, et al. Recent advances in antimicrobial surfaces via tunable molecular interactions: Nanoarchitectonics and bioengineering applications[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2023(66): 101707. DOI: 10.1016/j.cocis.2023.101707.
- [11] 郑轩杰, 唐新德, 付瑞鑫, 等. 防污抗菌聚合物涂层的研究与应

- 用进展[J]. 化工进展, 2025, 44(11): 6427-6438. DOI: 10.16085/j.issn.1000-6613.2024-1646.
- [12] Wen J, Abdul-Azees P A, Matthew Lamb E, et al. Long-term antifungal drug-delivery denture materials with plasma-initiated surface functionalization[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2025, 256(Part2): 115077. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2025.115077.
- [13] Song Q, Xiao Z, Gao H, et al. Antimicrobial polymeric coatings synthesized by solvent-free initiated Chemical Vapor Deposition: A review[J]. Chem Eng J, 2024(494): 152287. DOI: 10.1016/j.cej.2024.152287.
- [14] Zang X, Ni Y, Wang Q, et al. Non-toxic evolution: Advances in multifunctional antifouling coatings[J]. Materials Today, 2024(75): 210-243. DOI: 10.1016/j.mattod.2024.03.018.
- [15] 孙振东, 张桢焱, 周容涛, 等. 两性离子聚合物材料杀菌/抗黏附功能自适应转化的设计策略[J]. 材料导报, 2020, 34(12): 23199-23204. DOI: 10.11896/cldb.20030130.
- [16] Zhang Y, Zhang J, Yang Q, et al. Tuning interfacial molecular asymmetry to engineer protective coatings with superior surface anchoring, antifouling and antibacterial properties[J]. Acta Biomater, 2024(190): 107-119. DOI: 10.1016/j.actbio.2024.10.015.
- [17] Seetasang S, Xu Y. Recent progress and perspectives in applications of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymers in biodevices at small scales[J]. J Mater Chem B, 2022, 10(14): 2323-2337. DOI: 10.1039/d1tb02675e.
- [18] Ishihara K. Biomimetic polymers with phosphorylcholine groups as biomaterials for medical devices[J]. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci, 2024, 100(10): 579-606. DOI: 10.2183/pjab.100.037.
- [19] Nakano H, Kakinoki S, Iwasaki Y. Long-lasting hydrophilic surface generated on poly(dimethyl siloxane) with photoreactive zwitterionic polymers[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2021(205): 111900. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2021.111900.
- [20] Das P, Durban-Benizio N, Desclaux S, et al. Light-responsive zwitterionic membrane surface modification for antifouling and antibacterial application[J]. Chem Eng J, 2024(500): 157337. DOI: 10.1016/j.cej.2024.157337.
- [21] Yoshikawa C, Delalat B, Huang F, et al. Photo-crosslinked coatings based on 2-hydroxypropyl acrylamide for the prevention of biofouling[J]. J Mater Chem B, 2019, 7(22): 3520-3527. DOI: 10.1039/C9TB00044E.
- [22] Gao B, Konno T, Ishihara K. Cytocompatible and spontaneously forming phospholipid polymer hydrogels[J]. Eur Polym J, 2015(72): 577-589. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2015.03.030.
- [23] Chen C, Li Z, Li X, et al. Dual-functional antimicrobial coating based on the combination of zwitterionic and quaternary ammonium cation from rosin acid[J]. Compos Part B-Eng, 2022(232): 109623. DOI: 10.1016/j.compositesb.2022.109623.
- [24] Zhao Z, Huang C, Zeng H. Zwitterion-conjugated protein coatings for enhanced antifouling in complex biofluids: Underlying molecular interaction mechanisms[J]. Langmuir, 2024, 40(48): 25708-25716. DOI: 10.1021/acs.langmuir.4c03975.
- [25] Chen S, Zheng J, Li L, et al. Strong resistance of phosphorylcholine self-assembled monolayers to protein adsorption: Insights into nonfouling properties of zwitterionic materials[J]. J Am Chem Soc, 2005, 127(41): 14473-14478. DOI: 10.1021/ja054169u.
- [26] Ishihara K. Biomimetic materials based on zwitterionic polymers toward human-friendly medical devices[J]. Sci Technol Adv Mater, 2022, 23(1): 498-524. DOI: 10.1080/14686996.2022.2119883.
- [27] Nakano H, Noguchi Y, Kakinoki S, et al. Highly durable lubricity of photo-cross-linked zwitterionic polymer brushes supported by poly(ether ether ketone) substrate[J]. ACS Appl Bio Mater, 2020, 3(2): 1071-1078. DOI: 10.1021/acsabm.9b01040.
- [28] Yuan L, Qu B, Li J, et al. Photoreactive benzophenone as anchor of modifier to construct durable anti-platelets polymer surface[J]. Eur Polym J, 2019(111): 114-122. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2018.11.042.
- [29] Koc J, Schönmeyer E, Amuthalingam A, et al. Low-fouling thin hydrogel coatings made of photo-cross-linked polyzwitterions[J]. Langmuir, 2019, 35(5): 1552-1562. DOI: 10.1021/acs.langmuir.8b02799.
- [30] Pousty D, Hofmann R, Gerchman Y, et al. Wavelength-dependent time-dose reciprocity and stress mechanism for UV-LED disinfection of *Escherichia coli*[J]. J Photochem Photobiol B, 2021(217): 112129. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2021.112129.
- [31] Pousty D, Betzalel Y, Cohen-Yaniv V, et al. Synergistic interactions of ultraviolet-C and ultraviolet-B wavelengths in batch and flow ultraviolet light-emitting diode systems for enhanced microbial inactivation[J]. J Water Process Eng, 2025(79): 109051. DOI: 10.1016/j.jwpe.2025.109051.
- [32] Cheng Q, Asha A B, Liu Y, et al. Antifouling and antibacterial polymer-coated surfaces based on the combined effect of zwitterions and the natural borneol[J]. ACS App Mater Interfaces, 2021, 13(7): 9006-9014. DOI: 10.1021/acsami.0c22658.
- [33] Jia Y, Yang Y, Zhang H. Comparative study on the lubrication mechanism and performance of two representative ionic and nonionic self-adhesive polymer coatings[J]. Langmuir, 2024, 40(15): 8271-8283. DOI: 10.1021/acs.langmuir.4c00539.
- [34] Ishihara K. Revolutionary advances in 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymers as biomaterials[J]. J Biomed Mater Res A, 2019, 107(5): 933-943. DOI: 10.1002/jbm.a.36635.
- [35] Ishihara K. Invention and global impact of bioinspired 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymers: Molecular design, functions, and implementation in medical devices[J]. Polym J, 2026, 58(4): 303-317. DOI: 10.1038/s41428-025-01109-6.
- [36] Asif S, Asawa K, Inoue Y, et al. Validation of an MPC polymer coating to attenuate surface-induced crosstalk between the complement and coagulation systems in whole blood in *in vitro* and *in vivo* models[J]. Macromol Biosci, 2019, 19(5): e1800485. DOI: 10.1002/mabi.201800485.

(收稿日期: 2026-05-21)

(本文编辑: 王嫚)