

doi: 10.11933/j.issn.1007-9289.20190319004

钛植入体表面构建具有抗菌活性和生物相容性的 PDA/RGDC/氧化锌量子点复合涂层

余毅¹, 向一鸣¹, 李伊朗¹, 谭磊¹, 刘想梅¹, 吴水林²

(1. 湖北大学 材料科学与工程学院, 武汉 430062; 2. 天津大学 材料科学与工程学院, 天津 300072)

摘要: 传统的抗生素治疗细菌感染往往会导致细菌对抗生素产生耐药性, 导致耐药细菌的形成, 从而对人类健康产生更大的危害。设计了一种新颖的表面系统, 其可在不使用抗生素的情况下为钛植入体提供一种可靠的自抗菌平台。这一特性的实现依靠于钛植入体表面 PDA(polydopamine)/RGDC(arginine-glycine-aspartic acid-cysteine)/氧化锌量子点(ZnO QDs)复合涂层的构建, 通过粒子生长法得到的 ZnO QDs 经 RGDC 修饰后连接到覆盖于钛植入物表面的 PDA。用不同的细菌和小鼠成骨细胞对此涂层进行了测试, 结果表明, 文中设计的复合涂层对大肠杆菌的抗菌率高达 98.95%, 同时具有优异的生物相容性。因此, 该表面涂层在生物医用植入材料领域将有着广泛的应用前景。

关键词: 植入体; 抗菌; 生物相容性; 氧化锌量子点; RGDC 肽

中图分类号: TG174.444

文献标志码: A

文章编号: 1007-9289(2019)05-0013-09

Construction of PDA/RGDC/Zinc Oxide Quantum Dot Composite Coatings with Antibacterial Activity and Biocompatibility on Surface of Titanium Implants

YU Yi¹, XIANG Yiming¹, LI Yilang¹, TAN Lei¹, LIU Xiangmei¹, WU Shuilin²

(1. School of Materials Science and Engineering, Hubei University, Wuhan 430062, China; 2. School of Materials Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: Traditional antibiotics to treat bacterial infections often lead to bacterial resistance to antibiotics, leading to the formation of drug-resistant bacteria, which has a greater risk to human health. A novel surface system was designed to provide a reliable self-antimicrobial platform for titanium implants without the use of antibiotics. This feature was achieved by constructing the composite coating on PDA(polydopamine)/RGDC (arginine-glycine-aspartic acid-cysteine)/zinc oxide quantum dot (ZnO QDs) on titanium implant surface. The ZnO QDs obtained by particle growth method was modified by RGDC and connected to the PDA covering the surface on titanium implant. The composite coating was tested with different bacteria and mouse osteoblasts. The results show that it has an antibacterial rate against *Escherichia coli* up to 98.95% and has excellent biocompatibility. Hence, the surface coating will have a broad application prospect in the field of biomedical implant materials.

Keywords: implants; antibacterial; biocompatibility; zinc oxide quantum (ZnO QDs); arginine-glycine-aspartic acid-cysteine (RGDC) peptides

收稿日期: 2019-03-19; 修回日期: 2019-07-08

通信作者: 刘想梅(1978—), 女(汉), 副教授, 博士; 研究方向: 生物材料表面改性; E-mail: xm.liu@hubu.edu.cn

基金项目: 湖北省自然科学基金(2018CFA064); 国家重点研发计划(2016YFC1100600)

Fund: Supported by Natural Science Fundation of Hubei Province (2018CFA064) and National Key R&D Program of China (2016YFC1100600)

引用格式: 余毅, 向一鸣, 李伊朗, 等. 钛植入体表面构建具有抗菌活性和生物相容性的 PDA/RGDC/氧化锌量子点复合涂层[J]. 中国表面工程, 2019, 32(5): 13-21.

YU Y, XIANG Y M, LI Y L, et al. Construction of PDA/RGDC/zinc oxide quantum dot composite coatings with antibacterial activity and biocompatibility on surface of titanium implants[J]. China Surface Engineering, 2019, 32(5): 13-21.

0 引言

20世纪50年代以来,钛基合金因其良好的机械强度、耐腐蚀性和生物相容性,被广泛应用于骨科植入材料的硬组织修复或重建^[1-3]。然而,术后却存在着细菌感染和骨组织缺乏整合的两大问题,这通常会导致植入手体的失败,从而需要二次手术,增加病人痛苦^[4-7]。

锌是人体必需的微量元素,在人体和细胞发育中发挥着重要作用^[8-9]。近期研究报道,锌离子具有良好的抗菌性能^[10-12]。考虑到细菌感染引起的局部酸化,氧化锌量子点(Zinc oxide quantum dots, ZnO QDs)对pH变化敏感,其在正常生理pH值下稳定,但溶于酸性环境,且溶解过程中释放的锌离子具有杀菌效果^[13]。此外,ZnO QDs价格低廉,易于制备。这些优点使ZnO QDs成为制备pH响应系统,提高平台抗菌能力的理想可靠材料^[14-16]。

天然和合成聚合物表面改性是一种常见的功能化和生物活化过程。与纤维连接蛋白等基质蛋白涂覆聚合物表面相比,小肽的应用显示出明显的优势,这些基质蛋白可以同时受到酶降解和免疫失活的影响^[17]。精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)是一段3个氨基酸组成的短肽序列,是许多细胞表面某些整合素的特异性配体之一,可诱导细胞的附着。与其类似,RGD—半胱氨酸(Arginine-glycine-aspartic acid-cysteine, RGDC)亦能参与和激活细胞上的整合素粘附受体,有效地促进多种细胞对不同底物的粘附^[18]。因此,RGDC肽的共价固定是一种改善细胞黏附和增殖、提高成骨性能的可行策略^[19-20]。

因此,文中在钛植入手体上设计了一种新颖的表面系统,ZnO QDs经RGDC修饰后,连接到表面包覆有PDA的钛植入手体表面,形成的PDA(polydopamine)/RGDC(arginine-glycine-aspartic acid-cysteine)/氧化锌量子点(ZnO QDs)复合涂层不仅对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有良好的抗菌活性,而且具有良好的生物相容性和促细胞粘附性。

1 试验

1.1 样品制备

将Φ6 mm×2.5 mm的纯钛片用不同粒度61、23、18、10.8、5.4 μm(240、600、800、1200和

2400目)的SiC砂纸依次打磨,随后用丙酮、乙醇和去离子水依次超声清洗9 min,最后用热空气干燥。配制4 mol/L的氢氧化钾(KOH,国药,纯度>99%)溶液,将经打磨抛光干燥后的钛片放入聚四氟乙烯内胆,缓慢倒入配置好的碱液至内胆的1/2处,盖好盖子放入反应釜,将反应釜放入80℃的炉子里恒温反应2 h,然后自然冷却至室温,取出反应釜,将内胆里的钛片取出,去离子水反复冲洗,室温干燥,处理完后的钛片标记为Ti-OH。配制2 mg/mL的多巴胺溶液,将上述处理的钛片放入多巴胺溶液中浸泡48 h,去离子水冲洗晾干备用,将多巴胺浸泡后的钛片标记为Ti-OH-PDA。

1.1.1 氧化锌量子点的制备

将醋酸锌(440 mg, 2.0 mmol)和醋酸镁(44 mg, 0.2 mmol)在剧烈搅拌下溶于热乙醇(30 mL)中。在另一个烧瓶中,NaOH(100 mg, 2.5 mmol)溶于回流乙醇(10 mL)中。然后在冰浴中冷却溶液。接着将上述NaOH溶液快速注入含有醋酸锌和醋酸镁的烧瓶中。将混合物搅拌8 h进行粒子生长,得到的透明量子点色散在紫外灯激发下(365 nm)呈现绿色。最后用正己烷作为非溶剂沉淀ZnO QDs,用乙醇洗涤三次,真空烘箱干燥备用。

1.1.2 RGDC修饰的氧化锌量子点的制备

将0.01 g RGDC粉末和0.1 g ZnO QDs加入到装有20 mL无水乙醇的小烧瓶中,冰水浴下搅拌24 h,离心分离得到ZnO@RGDC,真空烘箱干燥备用。

1.1.3 复合涂层的制备过程

以乙醇为溶剂配备2 mg/mL的ZnO QDs溶液和ZnO@RGDC溶液,将经过多巴胺浸泡的钛片分别浸泡在配置好的上述溶液中12 h,而后取出用去离子水冲洗,低温干燥备用,所得样品分别标记为Ti-OH-PDA-ZnO和Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC。

1.2 结构表征及生物学性能测试

1.2.1 表征手段

采用配备有能谱仪(EDS)的扫描电子显微镜(SEM, JEOL-820和JSM6510LV)观察改性表面的形貌和组成。采用X射线衍射仪(XRD, Rigaku, D/Max-RB),X射线光电子能谱(XPS, Thermo Fisher Scientific 250Xi),傅里叶变换红外能谱

(FTIR, NICOLEF 5700), 透射电子显微镜(TEM, Tecnai G20, FEI, USA) 测定 ZnO QDs 的微观结构。

1.2.2 抗菌试验

以大肠杆菌(ATCC 25922, 草兰氏阴性菌)和金黄色葡萄球菌(ATCC 25923, 草兰氏阳性菌)为模型菌,为了测试样品的抗菌率,将不同样品(Ti-OH(对照组), Ti-OH-PDA, Ti-OH-PDA-ZnO, Ti-OH-PDA-ZnO @RGDC)放入48孔培养板,每孔加入300 μL稀释的细菌悬液(10^7 CFU/mL),然后将培养板放入37 °C恒温培养箱(常压, 5% CO₂和95%空气)培养一段时间(金黄色葡萄球菌24 h, 大肠杆菌12 h)后,取出样品,用酶标仪测试其在600 nm处的光密度,再转换成相应的抗菌效率,每个测试用3个平行样进行统计学分析。样品抗菌率(%)=(对照组OD值-试验组OD值)/对照组OD值×100%

1.2.3 细胞毒性测试(MTT)

MC3T3-E1 小鼠前成骨细胞(华中科技大学同济医学院)培养在含10%胎牛血清(FBS)和1%青链霉素溶液(HyClone)的α-MEM(HyClone)细胞培养基中,并将其放入37 °C恒温培养箱,每隔3天换一次培养基。

对于MTT试验,将培养好的细胞用培养基稀释到 7×10^4 cells/cm³的浓度,取稀释的细胞液加入到含不同样品(Ti-OH(对照组), Ti-OH-PDA, Ti-OH-PDA-ZnO, Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC)的48孔培养板中,然后置于37 °C恒温培养箱中培养3 d,取出孔板,用移液枪将细胞液吸出,然后每孔加入300 μL、5 μg/mL的四甲基偶氮唑蓝(MTT)溶液,继续放入37 °C恒温培养箱培养4 h,目的是让MTT溶液与活细胞(活性酶)产生蓝紫色沉淀(吸附在钛片表面)。接着取出孔板,吸出溶液,向孔中继续加入300 μL二甲基亚砜(DMSO),振荡15 min,蓝紫色沉淀溶解,溶液变色,提取上清液,用酶标仪进行490 nm波长下的光密度测试,再转换成相应的细胞活性,每个测试用3个平行样进行统计学分析。样品中的细胞活性(%)=试验组OD值/对照组OD值×100%

另外,在第1天通过细胞染色检测细胞荧光。首先,用PBS洗涤细胞3次(pH=7.4),接着室温下用4%的甲醛溶液固定细胞10 min, PBS再次洗涤。然后用FITCPhalloidin(上海益森)在室

温黑暗中染色30 min,再用40,6-二氨基吖啶二盐酸盐(DAPI)(上海益森)在黑暗中染色30 s。最后用荧光显微镜(IFM, Olympus, IX73)观察不同样品中的细胞形态。

1.2.4 碱性磷酸酶(ALP)活性测试

采用碱性磷酸酶(ALP)活性测试,研究MC3T3-E1前成骨细胞在钛片表面涂层上的成骨分化的能力,将MC3T3-E1细胞液(1.4×10^4 cells/cm³)加入到含不同样品(Ti-OH(对照组), Ti-OH-PDA, Ti-OH-PDA-ZnO, Ti-OH-PDA-ZnO @RGDC)的48孔培养板中,每孔加入300 μL,准备3个孔板,然后分别培养3, 7, 14 d,每隔3 d换一次培养基。规定时间培养后,吸出孔中液体,加入300 μL 1% Triton X-100。在37 °C下放置1 h。然后根据AKP检测试剂盒(建成生物科技)的操作说明,在520 nm的微平板阅读器上测定ALP的活性。

2 试验结果与讨论

2.1 表面形貌及结构分析

图1为ZnO QDs的XRD图谱,样品在 2θ 为31.7°, 34.4°, 36.3°, 47.9°, 56.6°, 62.8°和68.0°的地方分别出现(100), (002), (101), (102), (110), (103)和(112)的特征衍射峰,所有衍射峰均与晶格常数 $a=0.325$ nm, $c=0.521$ nm的纤锌矿晶体结构清晰对应,属于典型的纤锌矿结构ZnO^[21-22]。

经XRD的物相分析确定其为纤锌矿结构ZnO后,运用TEM对其纳米尺度的形貌进行了观察,如图2所示,可以证实合成的是直径大约为

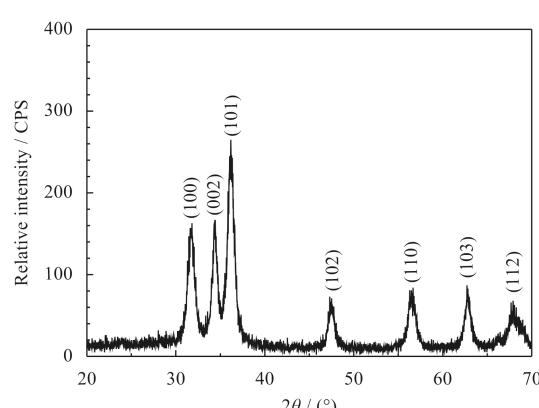


图1 ZnO QDs的XRD图谱

Fig.1 XRD patterns of ZnO QDs

10 nm 的 ZnO QDs。

图 3 为 ZnO QDs 以及 ZnO@RGDC 的红外图谱, 从图 3(a)可以看出, 425 cm⁻¹ 处的吸收峰为 Zn-O 键的振动吸收峰^[13,15]。在图 3(b)中, 3400 cm⁻¹处的吸收峰为 RGDC 中末端氨基 N-H 键的振动吸收峰, 1080 cm⁻¹处的吸收峰为 RGDC 中酰胺键的振动吸收峰^[20], 这两处峰的出现证实了 RGDC 成功的引入到了 ZnO QDs 表面。

图 4 和图 5 分别为钛片表面不同涂层的 SEM 形貌和 EDS 图谱, 从图 4 中可以看出, 与图 4(a)中纯钛相比, 图 4(b)中碱热处理后的钛片表面有网状的疏松多孔结构, 此种结构可使聚合物更易黏附在其表面, 以供后续改性。从图 5(a)可以看出, 碱热钛片经过多巴胺浸泡后, 其网状结构无

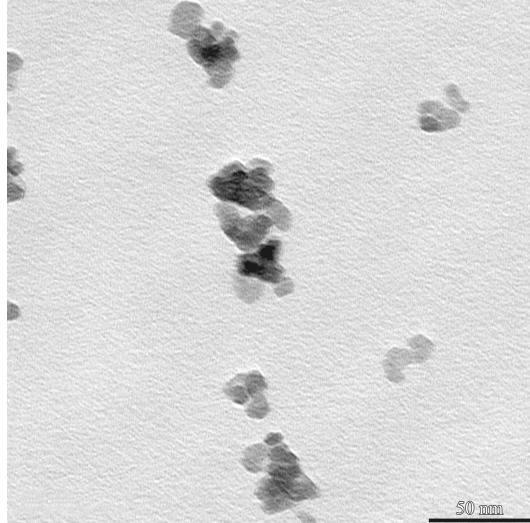
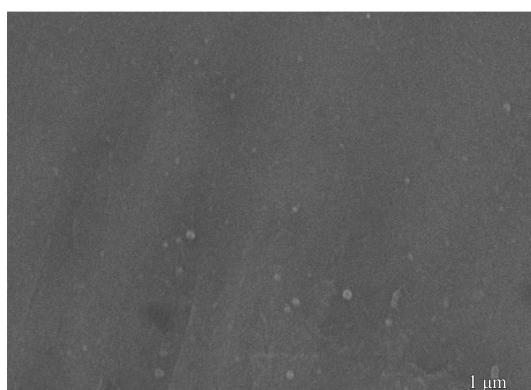


图 2 ZnO QDs 的 TEM 形貌

Fig.2 TEM image of ZnO QDs



(a) SEM image of Ti

明显变化, 但从图 5(d)中对应的 EDS 图谱可以看出, 浸泡了多巴胺后的碱热钛片表面增加了 N 元素, 这可说明碱热钛片表面聚多巴胺的形成。图 5(b)(c)分别是 Ti-OH-PDA-ZnO 和 Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC 表面的 SEM 形貌, 从图 5(b)中可以看出 ZnO QDs 附着在网状疏松多孔的钛片表面。从图 5(c)中可以看出, 浸泡 RGDC 修饰的 ZnO QDs 后, 钛片表面出现一层绵密的涂层; 从 Ti-OH-PDA-ZnO 和 Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC 的 EDS 图谱 5(e)(f)中可以看到均存在 N 元素和 Zn 元素, 这说明 ZnO QDs 成功的结合到了钛片表面, 而 Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC 中 N 元素的含量较 Ti-OH-PDA-ZnO 来说增加了, 这说明 RGDC 修饰的 ZnO QDs 也成功的结合到了钛片表面。

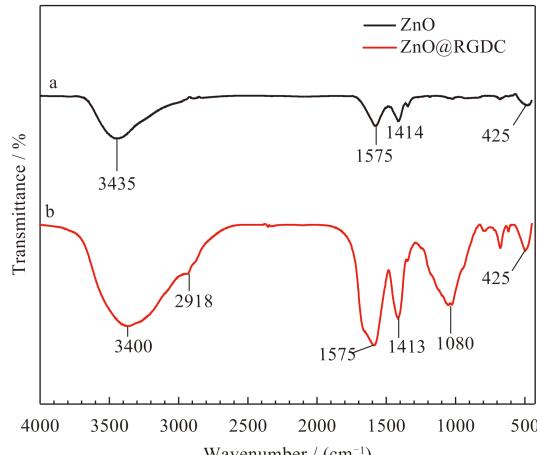
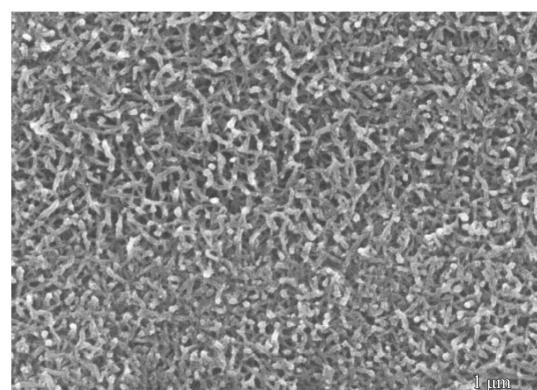


图 3 ZnO QDs 以及 ZnO@RGDC 的红外图谱

Fig.3 FTIR of ZnO QDs and ZnO@RGDC



(b) SEM image of Ti-OH

图 4 纯钛与碱热处理过的钛片的 SEM 形貌

Fig.4 SEM images of Ti and Ti-OH

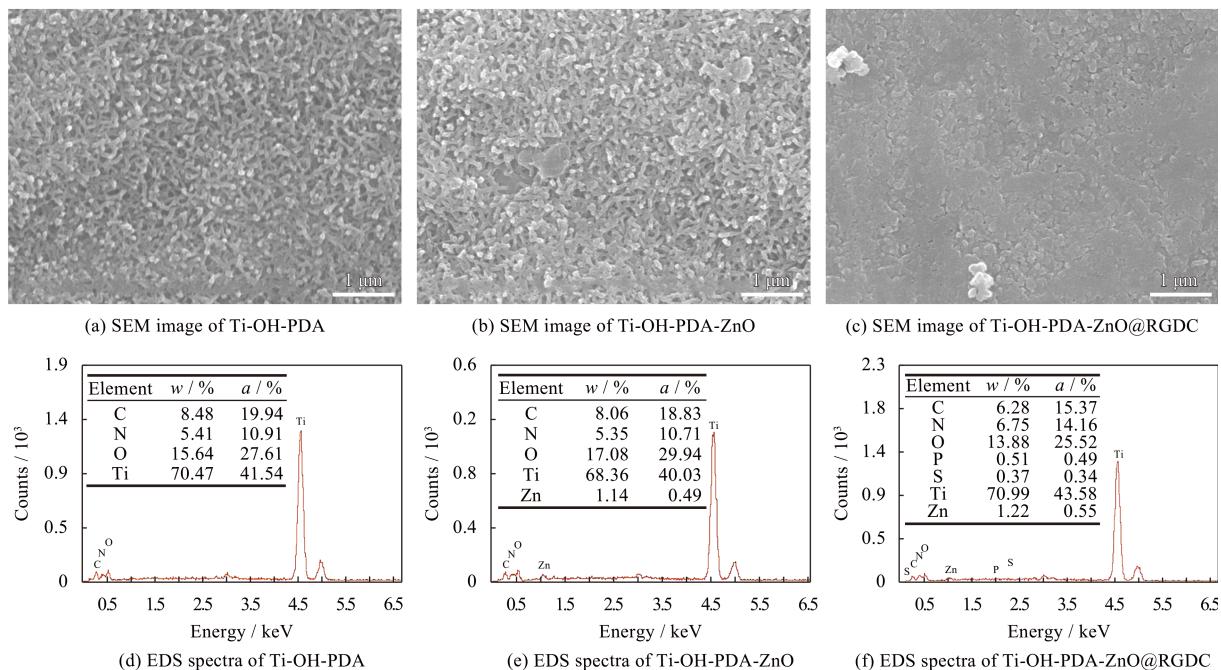


图 5 钛片表面不同涂层的 SEM 形貌和 EDS 图谱

Fig.5 SEM images and EDS spectra of different coatings on titanium sheets

图 6 为 Ti-OH-PDA, Ti-OH-PDA-ZnO, Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC 的 XPS 图谱,由图可以发现, a 和 b 两组相较 c 组而言, 增加了 Zn 与 Mg 元素, 这是由于 a 和 b 两组中均含有掺镁的 ZnO QDs, 而 a 组较 b 组而言, 其增加了 S 元素, 这是因为 a 中有的 RGDC 是由 C、H、O、N、S 组成。

图 7 为 Ti-OH-PDA-ZnO 和 Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC 的 XPS 图谱的 C1s 分峰, 在图 7(a) 中, C1s 有 3 个峰, 分别是 286.4 eV 处的 C—O 键, 285.4 eV 处的 C—C 键和 C—N 键, 284.6 eV

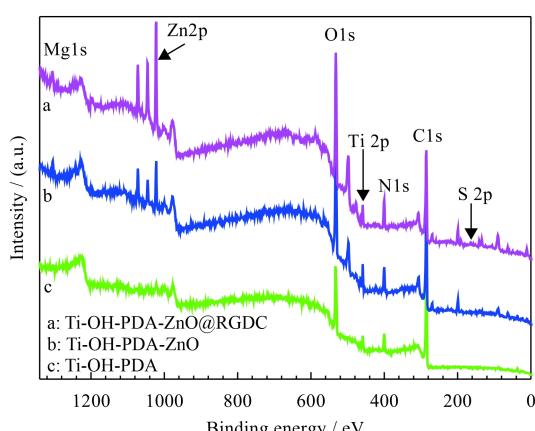
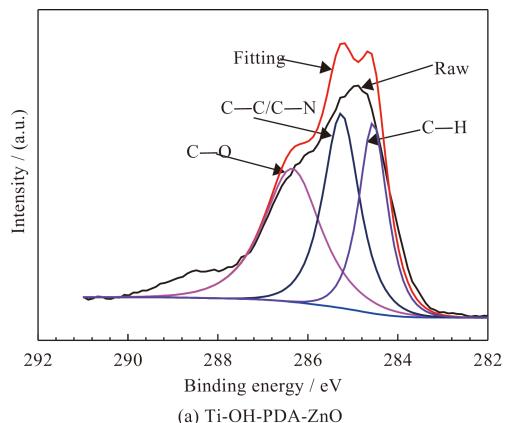
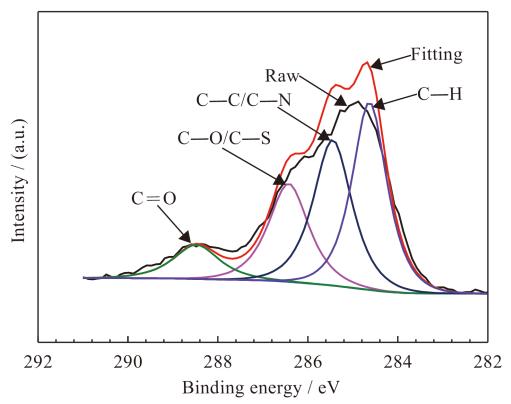


图 6 Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC、Ti-OH-PDA-ZnO 和 Ti-OH-PDA 的 XPS 图谱

Fig.6 XPS spectra of Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC, Ti-OH-PDA-ZnO and Ti-OH-PDA



(a) Ti-OH-PDA-ZnO



(b) Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC

图 7 Ti-OH-PDA-ZnO 和 Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC 的 XPS 图谱的 C1s 分峰

Fig.7 C1s region of Ti-OH-PDA-ZnO and Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC

处的 C—H 键, C—N 键的存在说明多巴胺成功的黏附到钛片表面^[23]。图 7(b) 中 C1s 有 4 个峰, 分别为 288.5 eV 处的 C=O 键, 286.4 eV 处的 C—O 键和 C—S 键, 285.4 eV 处的 C—C 键和 C—N 键, 284.6 eV 处的 C—H 键, C=O 键与 C—S 键的存在说明 RGDC 成功的连接到钛片表面^[19,23]。

2.2 抗菌活性

图 8 为样品组 Ti-OH, Ti-OH-PDA, Ti-OH-PDA-ZnO, Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC 对大肠杆菌, 金黄色葡萄球菌的抗菌活性, 由图可见, Ti-OH-PDA-ZnO 与 Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC 对大肠杆菌具有高的抗菌效率, 分别达到 99.15% 与 98.95%。对于金黄色葡萄球菌, Ti-OH-PDA-ZnO 对其抗菌效率也高达 82.18%, 但 Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC 的抗菌效率却只有 24.06%。首先是因为涂层中存在 ZnO QDs, 在细菌代谢引起的酸性环境下, ZnO QDs 会释放 Zn²⁺, 从而达到抗菌效果^[13,23-26]。从抗菌效果来看, 大肠杆菌对 ZnO QDs 更敏感。

为了进一步研究样品的抗菌性能, 分别观测了大肠杆菌和金黄色葡萄球菌在各组样品表面的 SEM 形貌, 如图 9, 可见大肠杆菌(第一排)和金黄色葡萄球菌(第二排)在 Ti-OH, Ti-OH-PDA 上的形态完好, 但在 Ti-OH-PDA-ZnO 和 Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC 上, 形态明显被破坏, 由此也可体现出样品的抗菌活性。

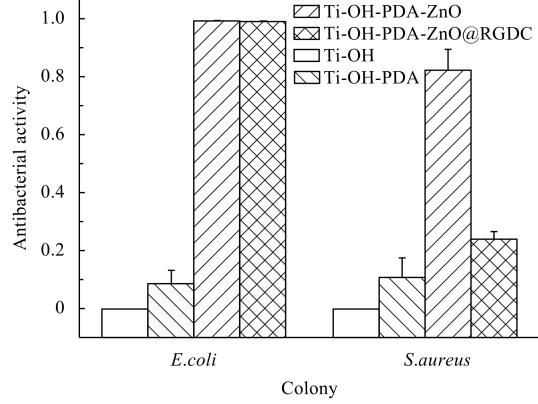


图 8 不同样品对大肠杆菌与金黄色葡萄球菌的抗菌活性

Fig.8 Antibacterial activity of different sample in vitro *E. coli* and *S. aureus*

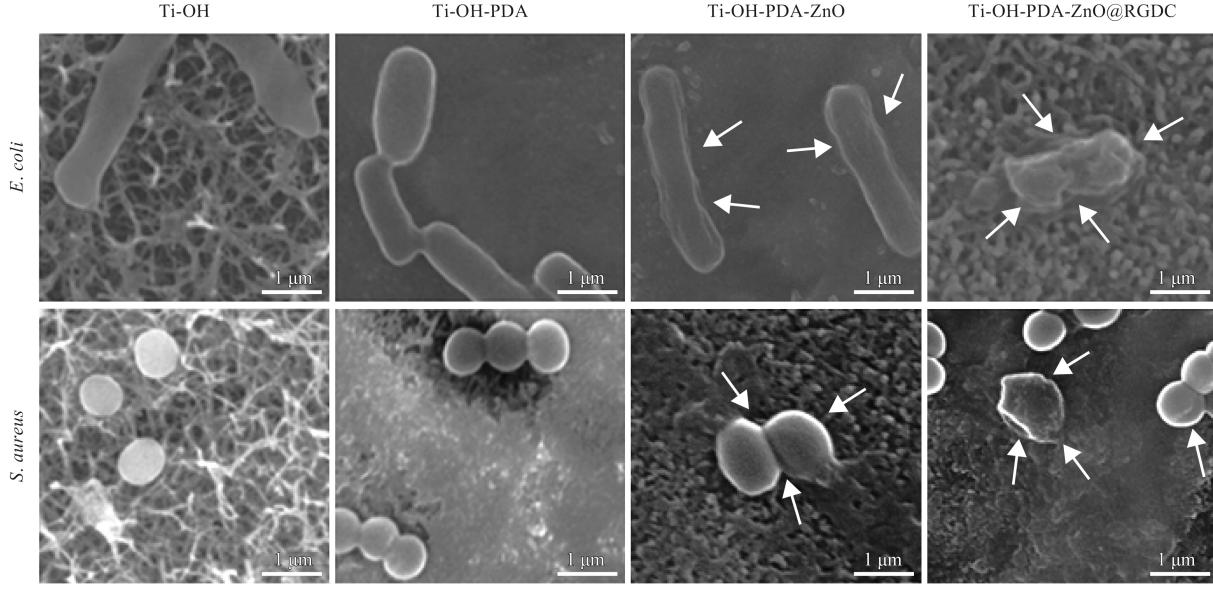


图 9 大肠杆菌和金黄色葡萄球菌在不同样品表面的 SEM 形貌

Fig.9 SEM images of *E. coli* and *S. aureus* on the samples

2.3 细胞毒性评价

图 10 为 MC3T3-E1 小鼠前成骨细胞与不同样品(Ti-OH, Ti-OH-PDA, Ti-OH-PDA-ZnO, Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC)一起培养 3 d 和 7 d 后所测得的 MTT 结果, 从图中可以看出, 3 天的 MTT

结果表明超过 90% 的细胞活性良好, 且样品 Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC 上的细胞活性超过 200%, 这是由于 RGDC 多肽具有良好的生物相容性和细胞黏附性^[18]。而在 7 d 的 MTT 结果中, 样品 Ti-OH-PDA-ZnO 和 Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC 上的细

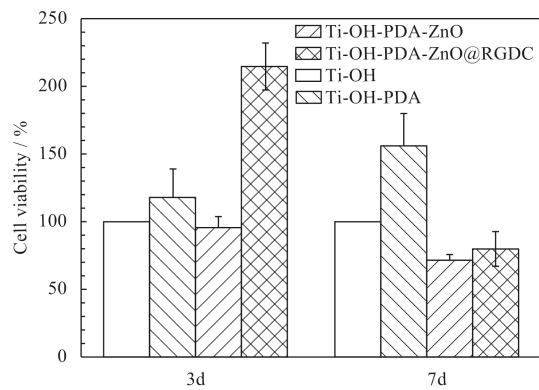


图 10 MC3T3-E1 细胞在不同样品上分别培养 3 d 和 7 d 的细胞毒性试验

Fig.10 Cytotoxicity assay of MC3T3-E1 cells viability cultured on different samples for 3 and 7 d

胞存活率有所下降, 这是因为 ZnO QDs 中锌离子的释放对细胞生长有一定的破坏性^[27-28]。

为了研究样品表面细胞生长状况, 培养 24 h 后, 通过 F-actin/nuclei 染色观察细胞荧光形态, IFM 观察结果如图 11 所示。样品 Ti-OH-PDA 和 Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC 表面细胞均呈多边形扩张形态, 成骨细胞触角伸展良好, 细胞核数量变化不大, 说明样品早期 (24 h) 具有良好的生物相容性。相较而言, 样品 Ti-OH-PDA-ZnO 表面细胞形态多呈圆状, 细胞核数量也少一点, 其生物相容性明显不如 Ti-OH-PDA-ZnO@RGDC。

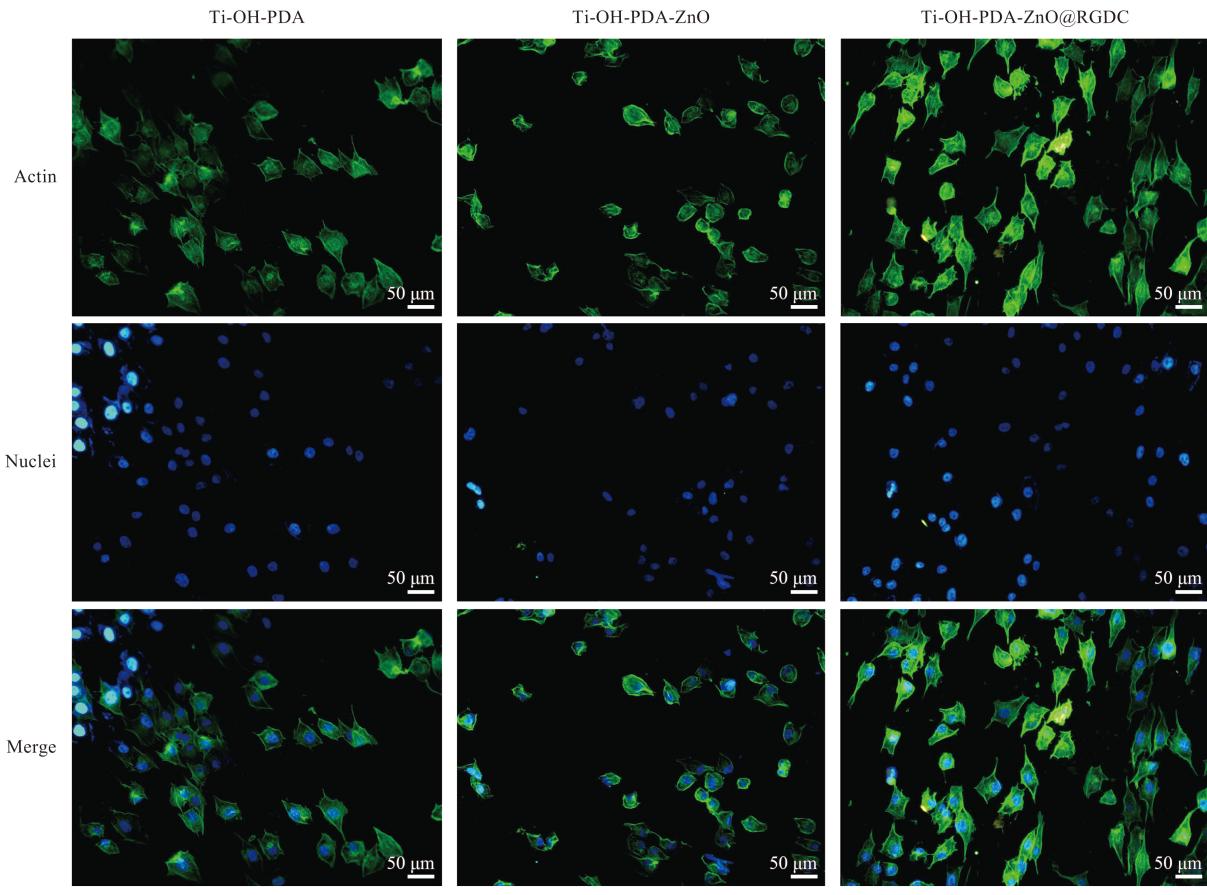


图 11 MC3T3-E1 细胞在不同表面培养 1 天的荧光图像 (肌动蛋白用 FITC 染色 (绿色), 细胞核用 DAPI 染色 (蓝色))

Fig.11 Fluorescent images of MC3T3-E1 cell cultured on various surfaces for 1 d with actin stained with FITC (green) and nuclei stained with DAPI (blue)

2.4 碱性磷酸酶 (ALP) 活性评价

ALP 活力是用来标记早期成骨细胞分化的最常用的方法之一。ALP 是体内一种广泛存在的酶, 其可在碱性环境下催化磷酸酯水解。小鼠成骨细胞与不同的样品共同培养 14 d 的分化情况可

以用 ALP 量化做一个早期标记。图 12 为小鼠成骨细胞与不同样品共同培养后表现出来的 ALP 活力, 从图中可以看出, ALP 活力在 3 d 表现最高, 第 7 天有所下降, 到 14 d 又有所增加, 这是因为 PDA 和 RGDC 良好的生物相容性和促细胞

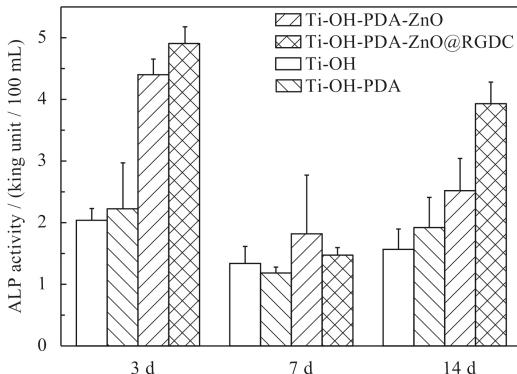


图 12 分别培养 3、7、14 d 下, 不同样品对 MC3T3 细胞 ALP 活性的影响

Fig.12 Effects of various samples on the ALP activity of MC3T3 cells were cultured at 3,7 and 14 d respectively

粘附性, 从而表现出高的 ALP 活性^[29]。而后由于 ZnO QDs 中锌离子的释放对细胞生长有一定的影响, 从而导致 ALP 活性下降, 但此种影响随着锌离子释放的量的减少而慢慢减小, 所以到第 14 天, ALP 活性又有所增加^[23-26]。

3 结 论

(1) EDS、XPS 等结果表明, 钛植入体表面实现了 PDA (Polydopamine)/RGDC (Arginine-glycine-aspartic acid-cysteine)/氧化锌量子点 (ZnO QDs) 复合涂层的构建。

(2) 抗菌试验表明, PDA (Polydopamine)/RGDC (Arginine-glycine-aspartic acid-cysteine)/氧化锌量子点 (ZnO QDs) 复合涂层对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有良好的抗菌活性。

(3) 细胞毒性测试 (MTT) 和碱性磷酸酶 (ALP) 活性测试结果表明, PDA (Polydopamine)/RGDC (Arginine-glycine-aspartic acid-cysteine)/氧化锌量子点 (ZnO QDs) 复合涂层对 MC3T3-E1 小鼠前成骨细胞具有良好的生物相容性以及促细胞粘附性。

参考文献

- [1] WU S, LIU X, YEUNG K W K, et al. Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 2014, 80: 1-36.
- [2] KUROSHIMA S, NAKANO T, ISHIMOTO T, et al. Optimally oriented grooves on dental implants improve bone quality around implants under repetitive mechanical loading[J]. *Acta Biomaterialia*, 2017, 48: 433-444.
- [3] HETRICK E M, SCHOENFISCH M H. Reducing implant-related infections: active release strategies[J]. *Chemical Society Reviews*, 2006, 35(9): 780-789.
- [4] ZHAO Z, YAN R, YI X, et al. Bacteria-activated theranostic nanoprobes against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(5): 4428-4438.
- [5] GEETHA M, SINGH A K, ASOKAMANI R, et al. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants-a review[J]. *Progress in Materials Science*, 2009, 54(3): 397-425.
- [6] LI P, POON Y F, LI W, et al. A polycationic antimicrobial and biocompatible hydrogel with microbe membrane suctioning ability[J]. *Nature Materials*, 2011, 10(2): 149.
- [7] MISHNAEVSKY JR L, LEVASHOV E, VALIEV R Z, et al. Nanostructured titanium-based materials for medical implants: Modeling and development[J]. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 2014, 81: 1-19.
- [8] HALL S L, DIMAI H P, FARLEY J R. Effects of zinc on human skeletal alkaline phosphatase activity in vitro[J]. *Calified Tissue International*, 1999, 64(2): 163-172.
- [9] MOONGA B S, DEMPSTER D W. Zinc is a potent inhibitor of osteoclastic bone resorption in vitro[J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 1995, 10(3): 453-457.
- [10] YU Y, JIN G, XUE Y, et al. Multifunctions of dual Zn/Mg ion co-implanted titanium on osteogenesis, angiogenesis and bacteria inhibition for dental implants[J]. *Acta Biomaterialia*, 2017, 49: 590-603.
- [11] ZHU P, WENG Z, LI X, et al. Biomedical application of functionalized ZnO nanomaterials: From biosensors to bioimaging[J]. *Advanced Materials Interfaces*, <https://doi.org/10.1002/admi.201500494>.
- [12] HU H, ZHANG W, QIAO Y, et al. Antibacterial activity and increased bone marrow stem cell functions of Zn-incorporated TiO₂ coatings on titanium[J]. *Acta Biomaterialia*, 2012, 8(2): 904-915.
- [13] MUHAMMAD F, GUO M, QI W, et al. pH-triggered controlled drug release from mesoporous silica nanoparticles via intracellular dissolution of ZnO nanolids[J]. *Journal of The American Chemical Society*, 2011, 133(23): 8778-8781.
- [14] YE D X, MA Y Y, ZHAO W, et al. ZnO-based nanoplat-forms for labeling and treatment of mouse tumors without detectable toxic side effects[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(4): 4294-4300.
- [15] MUHAMMAD F, GUO M, GUO Y, et al. Acid degradable ZnO quantum dots as a platform for targeted delivery of an anticancer drug[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2011, 21(35): 13406-13412.
- [16] TRIPATHY N, AHMAD R, KO H A, et al. Enhanced anticancer potency using an acid-responsive ZnO-incorporated liposomal drug-delivery system[J]. *Nanoscale*, 2015, 7(9):

4088-4096.

- [17] HERSEL U, DAHMEN C, KESSLER H. RGD modified polymers: Biomaterials for stimulated cell adhesion and beyond[J]. *Biomaterials*, 2003, 24(24): 4385-4415.
- [18] LI M, LI L, SU K, et al. Highly effective near-infrared eradication of staphylococcus aureus biofilm on implants by a photoresponsive coating within 20 minutes[J]. *Advanced Science*, 2019, 6: 1900599.
- [19] NGUYEN M N, LEBARBE T, ZOUANI O F, et al. Impact of RGD nanopatterns grafted onto titanium on osteoblastic cell adhesion[J]. *Biomacromolecules*, 2012, 13(3): 896-904.
- [20] ROUABHIA M, ASSELIN J, TAZI N, et al. Production of biocompatible and antimicrobial bacterial cellulose polymers functionalized by RGDC grafting groups and gentamicin[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2014, 6(3): 1439-1446.
- [21] KHAN R, HASSAN M S, JANG L W, et al. Low-temperature synthesis of ZnO quantum dots for photocatalytic degradation of methyl orange dye under UV irradiation[J]. *Ceramics International*, 2014, 40(9): 14827-14831.
- [22] FELBIER P, YANG J, THEIS J, et al. Highly luminescent ZnO quantum dots made in a nonthermal plasma[J]. *Advanced Functional Materials*, 2014, 24(14): 1988-1993.
- [23] LI J, TAN L, LIU X, et al. Balancing bacteria-osteoblast competition through selective physical puncture and biofunctionalization of ZnO/polydopamine/arginine-glycine-aspartic acid-cysteine nanorods[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(11): 11250-11263.
- [24] JAMES S A, FELTIS B N, DE JONGE M D, et al. Quantification of ZnO nanoparticle uptake, distribution, and dissolution within individual human macrophages[J]. *ACS Nano*, 2013, 7(12): 10621-10635.
- [25] ZAERI T D, DOLGOVA N V, CHU B H, et al. Contributions of surface topography and cytotoxicity to the macrophage response to zinc oxide nanorods[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(11): 2999-3007.
- [26] PETROCHENKO P E, ZHANG Q, BAYATI R, et al. Cytotoxic evaluation of nanostructured zinc oxide (ZnO) thin films and leachates[J]. *Toxicology in Vitro*, 2014, 28(6): 1144-1152.
- [27] DENG X, LUAN Q, CHEN W, et al. Nanosized zinc oxide particles induce neural stem cell apoptosis[J]. *Nanotechnology*, 2009, 20(11): 115101.
- [28] KRONCKE K D. Cellular stress and intracellular zinc dyshomeostasis[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2007, 463(2): 183-187.
- [29] BELLIS S L. Advantages of RGD peptides for directing cell association with biomaterials[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(18): 4205-4210.