

钛表面及其涂层纳米化对骨结合的影响和机制

庄秀妹 邓飞龙

中山大学光华口腔医学院·附属口腔医院口腔种植科；
广东省口腔医学重点实验室 广州 510055

[摘要] 钛表面自身纳米化是指采用各种化学或物理方法增加钛表面的自由能，粗晶结构逐渐细化至纳米量级结构，基体与纳米结构层无明显的界面，材料外形尺寸基本保持不变。阳极氧化法和酸碱法为其常用技术。钛表面涂层或沉积纳米化是将制备好的纳米颗粒固结在钛表面，以形成一个与基体化学成分相同或不同的纳米结构表层，表层与基体之间存在界面且材料的外形尺寸有所增加。实现表层与基体之间以及表层纳米颗粒之间的牢固结合，是钛表面涂层或沉积纳米化的关键。钛表面自身纳米化以及表面涂层或沉积纳米化处理能明显增加钛种植体与骨组织的结合能力，促进骨整合，提高种植体成功率；而蛋白质吸附、细胞表面整联蛋白信号传递、单个细胞机械特性改变等，是钛表面纳米化处理影响骨结合的主要因素。随着生物材料学的不断发展，表面纳米化有望在促进种植体周围骨新生、增加初期稳定性和提高远期成功率等方面取得突破，更好地为口腔种植临床服务。

[关键词] 钛种植体；表面改性；纳米尺寸；骨结合

[中图分类号] R 783.1 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2014.04.014

Effect and mechanism of titanium with nanoscale surface modification for osseointegration Zhuang Xiumei, Deng Feilong. (Dept. of Oral Implantology, Guanghua School of Stomatology, Hospital of Stomatology, Sun Yat-sen University; Guangdong Provincial Key Laboratory of Stomatology, Guangzhou 510055, China)

[Abstract] Nanoscale modification of titanium surface refers to every chemical or physical method which can increase the free energy of titanium surface and refine the coarse structure into nanoscale without obvious interface between the nanoscale structures and titanium substrate or alteration of overall dimensions. Anodic oxidation and acid-base treatment are the most commonly used methods. Coating or deposition nanoscale modification of titanium is solidifying nanoscale particles on titanium surface, forming a nanoscale layer with a chemical composition identical with substrate or not. There is a notable interface between the layer and titanium substrate. Additionally, an increase of overall dimensions can be detected. The key to realizing coating or deposition nanoscale modifications of titanium lies in the firmly combined nanoscale particles and the solid combination of the layer and titanium substrate. Nowadays, nanoscale surface modification of titanium has become an important research direction, which can change the adhesion, proliferation and differentiation of osteoblasts, thereby affecting the osseointegration. Additionally, protein adsorption, signaling transmission of integrin and change of cell mechanical properties have been considered as the main factors of osseointegration. This review summarized the effect and mechanism on osseointegration of titanium with nanoscale surface modification.

[Key words] titanium implant; surface modification; nanoscale; osseointegration

目前，表面微米化处理可有效促进钛种植体

周围新骨形成，已广泛应用于商业种植体表面改性^[1-3]。越来越多的研究证实，材料-骨组织之间的相互作用主要源自纳米级表面，而间接影响细胞的微米化处理具有明显的内在局限性^[4-5]；因此，直接影响细胞生长行为的纳米化处理成为了学者们研究的焦点^[6-8]。本文就钛种植体表面纳米化影

[收稿日期] 2013-08-20; **[修回日期]** 2014-05-05

[基金项目] 广东省科技计划项目(2010B031100007); 广东省自然科学基金(S2013010015805)

[作者简介] 庄秀妹, 硕士, Email: xiu.xiuzhuang@163.com

[通讯作者] 邓飞龙, 教授, 博士, Email: drdfl@163.com

响骨结合的研究进展作一综述。

1 钛表面自身纳米化对骨结合的影响

钛表面自身纳米化是指采用各种化学或物理方法增加钛表面的自由能,使粗晶结构逐渐细化至纳米量级结构(1~100 nm),而基体与纳米结构层不会出现明显的界面,处理后的材料外形尺寸基本保持不变。钛表面自身纳米化最常见的方式是阳极氧化法和酸碱法。

1.1 阳极氧化法

利用阳极氧化技术能成功构建直径小于等于100 nm的二氧化钛纳米管表层,调整电压、电流以及电解液等工艺参数,可以改变钛表面的理化性质以及纳米管管径、壁厚等形貌特征^[9-10]。钛表面阳极氧化后与人成骨细胞体外培养,可提高成骨细胞的黏附和增殖能力,促进骨基质的分泌和矿化^[11]。将人骨髓间质干细胞与钛片共培养后,该表面能维持干细胞的正常生长和分化,诱导细胞支架的重组和增加黏着斑的数量;该表面还存在着细胞选择性黏附现象,如成骨细胞的生长增强,成纤维细胞的生长相对降低^[12]。

纳米管的直径和壁厚与细胞行为密切相关^[13]。直径15 nm与70~100 nm的纳米管相比较,可以更明显地促进骨髓间质干细胞的黏附、增殖和分化。当纳米管壁厚为15 nm时,可加快整联蛋白(旧称整合素)的聚集和黏着斑的形成。von Wilmsky等^[14]应用阳极氧化法在纯钛种植体表面形成直径30 nm的二氧化钛纳米管,将其植入猪的前颅骨后发现,成骨细胞中1型胶原酶的表达并未增加,种植体周围骨形成与对照组间差异无统计学意义,即纳米管对骨结合没有影响。Frandsen等^[15]发现,纳米管修饰后虽不能增加总胶原量,但却可增加种植体表面与骨组织的结合能力,提高骨沉积率。

1.2 酸碱法

强酸可以有效地在钛及其合金上构建直径20~100 nm的凹坑结构,其表面形貌、润湿性、粗糙度和氧化层厚度受酸液种类、反应时间和温度的控制。人骨髓间质干细胞在酸修饰的纳米结构上活性明显增强,与细胞黏附、增殖相关的基因,如整联蛋白- $\alpha 5$ 、透明质酸、碱性磷酸酶和转录因子2等出现上调效应^[16]。进一步的体内研究^[17]显示:螺纹种植体经过氧硫酸($H_2SO_4-H_2O_2$)处

理后,种植体-骨接触率明显提高;酸处理操作简便,种植体的宏观结构不受影响,因此,该方法具有较大的临床应用价值。二氧化钛颗粒喷砂结合氢氟酸酸蚀法制备出的直径50~200 nm的结构,已成功应用于Astra Tech种植系统OsseoSpeed表面改性中,种植体总体成功率令人满意,在早期负载时亦获得较高的成功率^[18]。

碱热和水热处理,常用于制备具有生物活性的纳米孔、纳米针或纳米棒等纳米结构,其表面形成的钛酸钠层可诱导类骨磷灰石生成,进而增强与骨组织的结合。Yu等^[19]在碱热处理的基础上,通过自组装技术进一步优化的钛表面形成新型的富含氨基修饰的三维纳米多孔结构。该表面可促进大鼠骨髓间质干细胞的黏附、铺展、增殖和分化,且能明显增加种植体的初期稳定性和骨性结合。

2 钛表面涂层或沉积纳米化对骨结合的影响

钛表面涂层或沉积纳米化是将制备好的纳米颗粒固结在钛表面,以形成一个与基体化学成分相同或不同的纳米结构表层,但其表层与基体之间存在界面,且材料的外形尺寸与处理前相比较有所增加,因此,实现表层与基体之间以及表层纳米颗粒之间的牢固结合是整个技术的关键。目前,物理或化学气相沉积、电解沉积和等离子喷涂等传统技术已逐渐被离散晶体沉积、粒子束辅助沉积等技术所取代。

2.1 离散晶体沉积

离散晶体沉积(discrete-crystalline-deposition, DCD)是将分散的磷酸钙纳米晶体熔敷物自组沉积于氧化钛表面,构建具有生物活性的纳米表层。DCD可以降低表层的溶解度,改善表层与钛基体结合强度,进而发挥磷酸钙的最大生物学效益。3i种植系统将20~100 nm的磷酸钙晶体沉积于双酸蚀的OSSEOTITE种植体表面,两者完美结合形成了独特的NanoTite种植体,与相邻涂层清晰明显的等离子喷涂种植体相比较,其表面微观结构并无明显变化。临床研究^[20]表明,3i NanoTite种植体在骨结合的概率和广度上均有很大的提高,适用于即刻和早期负重方案。

2.2 离子束辅助沉积

离子束辅助沉积(ion beam assisted deposition, IBAD)是一种将离子注入与薄膜沉积结合

的表面处理新技术,可形成含纳米钙磷结晶的单质或化合物涂层,其涂层与金属的结合力高于等离子喷涂,从而解决涂层分离或断裂的问题。Bicon NanoTite种植体通过IBAD,在表面附着一层厚20~200 nm的无定形磷酸钙化合物,其化学和物理特性都类似于羟磷灰石。当涂层厚度为100~200 nm时,可以有效地提高骨结合的能力,若厚度降至20~50 nm,由于涂层过薄而自身迅速溶解,因此促骨形成效应不明显^[12]。此外,涂层中可以选择性加入钙、氟和钠等生物活性离子,但需要考虑表面纳米特征的改变^[21]。

3 钛表面纳米化影响骨结合的作用机制

表面自身纳米化以及钛表面涂层或沉积纳米化处理可明显增加钛种植体与骨组织的结合能力,促进骨整合,提高种植体成功率;而蛋白质吸附、细胞表面整联蛋白信号传递、单个细胞机械特性改变等,是目前钛表面纳米化处理影响骨结合的主要因素。

3.1 增加蛋白质的吸附

钛表面纳米化主要通过改变材料的表面能、表面形貌和亲水性等来影响蛋白质的吸附。钛表面经纳米化处理后其表面能增加,从而促进玻璃体结合蛋白、纤维结合蛋白的吸附和浓集^[22]:一方面,蛋白质伸展范围增大,所暴露的更多的成骨细胞黏附抗原,促进成骨细胞黏附;另一方面,玻璃体结合蛋白具有若干个钙结合部位,可以促进钙磷沉积。纳米结构的垂直特征直接影响纤维结合蛋白的吸附模式,纤维结合蛋白对不同高度的纳米结构反应不同,因此,不同的纳米表面形貌对蛋白质吸附的影响也不尽相同。此外,材料表面的亲水性决定了血浆以及细胞外基质蛋白的吸收、定位和伸展;而纳米化的钛表面具有良好的亲水性,有利于蛋白质吸附。

3.2 促进细胞表面整联蛋白信号的传递

纳米化表面主要通过两种作用机制来传递表面信号,影响细胞的行为^[23]:细胞-表面的直接作用或表面-蛋白质-细胞的间接作用。直接作用即整联蛋白受体与表面直接作用传递表面信号,从而控制细胞的黏附和伸展。在纳米形貌表面,成骨细胞发育良好的微丝,直接进入纳米大小的孔中,这是成骨细胞最初的附着方式。通过这种接触导向作用使成骨细胞选择性、稳固地附着在种

植体表面。间接作用主要是通过黏附在种植体表面的蛋白质与成骨细胞相互作用。成骨细胞通过细胞膜上整联蛋白受体与种植体表面黏附的细胞外基质蛋白相互黏附传递表面信号。整联蛋白向内连接细胞骨架成分,向外通过精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸识别区域结合基质蛋白。表面精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸的密度越高,黏着斑的形成越快,即细胞的黏附越多。

3.3 影响单个细胞的机械特性

影响单个细胞的机械特性,主要与以整联蛋白为基础的细胞骨架的重建及更复杂的细胞膜的生物、物理改变有关。在接触纳米化表层后,细胞展现出更多的板状伪足和丝状伪足,从而促进细胞的黏附和增殖。另外,细胞形态的改变和分子信号的转导对细胞的分化产生重大影响。细胞形态通过调整内源性大鼠肉瘤病毒同源蛋白(Ras homology, Rho) A的活性来控制干细胞向成骨细胞转换,细胞的伪足伸展有利于细胞的分化^[24]。此外,纳米化表面从仿生学角度模拟天然的细胞环境,因而促进成骨,如体内细胞黏附在纳米结构的基膜上,基膜的微孔直径70~100 nm。目前,尚不明确细胞效应是否单纯受蛋白质吸附层或材料表面理化性能等因素的影响,但毋庸置疑的是,纳米化可以影响蛋白质的相互作用及细胞活性,最终促进钛种植体与骨组织的骨性结合。

4 参考文献

- [1] Park JW, Jang IS, Suh JY. Bone response to endosseous titanium implants surface-modified by blasting and chemical treatment: a histomorphometric study in the rabbit femur[J]. J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater, 2008, 84(2):400-407.
- [2] Daugaard H, Elmengaard B, Bechtold JE, et al. Bone growth enhancement *in vivo* on press-fit titanium alloy implants with acid etched microtexture[J]. J Biomed Mater Res A, 2008, 87(2):434-440.
- [3] Dohan Ehrenfest DM, Vazquez L, Park YJ, et al. Identification card and codification of the chemical and morphological characteristics of 14 dental implant surfaces[J]. J Oral Implantol, 2011, 37(5):525-542.
- [4] Mendonça G, Mendonça DB, Aragão FJ, et al. Advancing dental implant surface technology—from

- micron- to nanotopography[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(28):3822-3835.
- [5] Khang D, Lu J, Yao C, et al. The role of nanometer and sub-micron surface features on vascular and bone cell adhesion on titanium[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(8):970-983.
- [6] Variola F, Vetrone F, Richert L, et al. Improving biocompatibility of implantable metals by nanoscale modification of surfaces: an overview of strategies, fabrication methods, and challenges[J]. *Small*, 2009, 5(9):996-1006.
- [7] Bressan E, Sbricoli L, Guazzo R, et al. Nanostructured surfaces of dental implants[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(1):1918-1931.
- [8] 巴凯, 张静, 王虎, 等. 纳米颗粒钛膜对成骨细胞合成功能的影响[J]. *华西口腔医学杂志*, 2009, 27(6):592-594.
- [9] Diamanti MV, Del Curto B, Pedferri M. Anodic oxidation of titanium: from technical aspects to biomedical applications[J]. *J Appl Biomater Biomech*, 2011, 9(1):55-69.
- [10] 于卫强, 邱憬, 张富强. 钛表面阳极氧化膜的腐蚀行为研究[J]. *华西口腔医学杂志*, 2011, 29(2):203-205.
- [11] Ercan B, Webster TJ. The effect of biphasic electrical stimulation on osteoblast function at anodized nanotubular titanium surfaces[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(13):3684-3693.
- [12] Variola F, Brunski JB, Orsini G, et al. Nanoscale surface modifications of medically relevant metals: state-of-the art and perspectives[J]. *Nanoscale*, 2011, 3(2):335-353.
- [13] Park J, Bauer S, Schmuki P, et al. Narrow window in nanoscale dependent activation of endothelial cell growth and differentiation on TiO₂ nanotube surfaces[J]. *Nano Lett*, 2009, 9(9):3157-3164.
- [14] von Wilmsowky C, Bauer S, Lutz R, et al. *In vivo* evaluation of anodic TiO₂ nanotubes: an experimental study in the pig[J]. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*, 2009, 89(1):165-171.
- [15] Frandsen CJ, Brammer KS, Jin S. Variations to the nanotube surface for bone regeneration[J]. *Int J Biomater*, 2013, 2013:513680.
- [16] Mendonça G, Mendonça DB, Aragão FJ, et al. The combination of micron and nanotopography by H₂SO₄/H₂O₂ treatment and its effects on osteoblast-specific gene expression of hMSCs[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2010, 94(1):169-179.
- [17] Tavares MG, de Oliveira PT, Nanci A, et al. Treatment of a commercial, machined surface titanium implant with H₂SO₄/H₂O₂ enhances contact osteogenesis[J]. *Clin Oral Implants Res*, 2007, 18(4):452-458.
- [18] Donati M, La Scala V, Billi M, et al. Immediate functional loading of implants in single tooth replacement: a prospective clinical multicenter study [J]. *Clin Oral Implants Res*, 2008, 19(8):740-748.
- [19] Yu X, Ning C, Li J, et al. *In vivo* evaluation of novel amine-terminated nanopore Ti surfaces[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2012, 100(12):3428-3435.
- [20] Mendes VC, Moineddin R, Davies JE. Discrete calcium phosphate nanocrystalline deposition enhances osteoconduction on titanium-based implant surfaces[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2009, 90(2):577-585.
- [21] Rautray TR, Narayanan R, Kwon TY, et al. Surface modification of titanium and titanium alloys by ion implantation[J]. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*, 2010, 93(2):581-591.
- [22] Webster TJ, Ergun C, Doremus RH, et al. Specific proteins mediate enhanced osteoblast adhesion on nanophase ceramics[J]. *J Biomed Mater Res*, 2000, 51(3):475-483.
- [23] Meirelles L, Arvidsson A, Andersson M, et al. Nano hydroxyapatite structures influence early bone formation[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2008, 87(2):299-307.
- [24] McBeath R, Pirone DM, Nelson CM, et al. Cell shape, cytoskeletal tension, and RhoA regulate stem cell lineage commitment[J]. *Dev Cell*, 2004, 6(4):483-495.

(本文采编 王晴)