

# 钛种植体骨细胞相容性表面改性的研究进展

徐娟<sup>1,2</sup> 翟婧捷<sup>1</sup> 综述 周延民<sup>1</sup> 审校

【关键词】 钛种植体;表面改性;骨细胞相容性

【中国图书分类号】 R783.4

种植义齿能最大程度地恢复咀嚼功能,促进骨组织代谢,延缓牙槽骨的吸收,改善生活质量。种植体植入成功的关键环节是如何保证钛金属种植体与骨组织界面发生骨结合,为此钛金属表面一般需进行改性或涂层,如粗化处理、羟基磷灰石涂层等。遗憾的是,目前几乎所有常用的牙科种植材料都没有诱导成骨的效用,或者诱导成骨的能力很弱,不能达到理想的骨结合效果。因此,寻找一种能更好地促进骨结合的表面处理方法,已成为近年来种植医学领域研究的热点之一。

## 1 种植体的表面特性与骨细胞相容性

植入体内后,种植材料表面的物理化学性质及结构,将会显著地影响周围骨细胞的生物学活性,进而对种植体-骨界面的成骨活性产生不同程度的影响。Lumbikanonda等<sup>[1]</sup>研究发现,在早期,骨细胞的黏附和伸展速度最快的是钛等离子喷涂种植体表面,证实细胞的黏附和扩散主要受种植体表面特性的影响。Kanagaraja等<sup>[2]</sup>也证实了钛种植体表面粗糙度决定了骨-金属组织界面的反应,直接影响骨细胞活性。Bachie等<sup>[3]</sup>复习文献得出结论,纯钛表面规则的表面形貌最有利于成骨细胞的增殖和分化,但在喷砂和酸蚀的粗化表面上,该细胞的增殖和分化没有明显差别,因此,他们仍然无法推荐一种特定的粗化表面。

在生物相容性的机制方面,目前认为,细胞生物材料表面上的细胞黏附是一个复杂的过程,这一过程涉及到细胞外基质(ECM)、细胞骨架和细胞膜的几种蛋白质,因此,要保证骨内植入体成功,还必须确保其表面能够向骨细胞提供足够的粘附位点。

## 2 钛种植体骨细胞相容性的表面改性方法

在现代生物相容性的概念中,强调了生物材料的活性作用,据此要求生物材料的设计上,要从简单的无活性的惰性材料发展到具有生物反应性的活性材料。从这种观点出发,钛种植体表面改性的目的主要是促进体内钙、磷沉积,从而形成理想的骨融合。

2.1 种植体表面的基本形貌改性 种植体表面形貌,特别是表面粗糙度的变化对于种植体-骨界面影响显著。粗糙的材料表面增加了骨-种植体的接触面积,同时产生了界面处的锁结,可以促进细胞组织与材料表面的附着和紧密结合。尤其是近几年来,采用非涂层粗化技术在种植体表面研究中取得了突破性进展,有效地提高了种植体骨界面的结合强度<sup>[4]</sup>。

目前对种植体表面形貌改性的研究大致分为以下三个层面:(1)宏观上的骨结合研究,大多以动物实验的方式来测定骨结合率和骨结合强度,通过拔出实验和扭矩实验证明,粗糙表面的骨结合率明显高于光滑表面<sup>[5]</sup>。如Thomas等<sup>[6]</sup>通过动物实验证明,粗化表面可以增加牙种植体在最初几周的稳定性,从而使种植手术更易成功。(2)细胞水平的细胞黏附动力学、增殖及细胞功能方面研究,如Chou等<sup>[7]</sup>比较了在光滑表面和经微机械加工表面上的成纤维细胞生长状况,发现在光滑表面上细胞呈现无定向扁平形态;而在有深的V形沟的加工表面上,细胞呈定向拉长的梭形。(3)分子水平的黏附分子、信号转导及相关功能基因方面研究,如Mang等<sup>[8]</sup>研究发现,粗化表面能影响FN的基因表达,mRNA的稳定性及蛋白的分泌,进而影响组织的反应;有学者在应用MG-63成骨细胞系的研究中发现,粗化表面可以促进PGE<sub>2</sub>、TGFβ等细胞生长因子的表达。

2.2 钛表面氧化物膜的活化方法 在种植体形成骨结合的过程中,钙磷相的沉淀、成核及生长是非常重要的生理过程<sup>[9]</sup>。但钛表面的二氧化钛是致密的氧化物,引导磷酸盐沉积的能力很差,甚至不能诱导,因此许多学者使用很多方法改变钛表面的化学结构,以促进钙磷的沉积过程。常用的方法有以下几种。

2.2.1 阳极氧化法 就是以硝酸钠甲醇溶液为电解液,以钛为阳极进行阳极氧化以合成甲氧基钛,在钛表面上形成由Ti-O-Ti构成的多孔无机网络结构<sup>[10]</sup>。进一步可将纳米磷酸氢钙通过羟基反应固定到这些孔洞中,形成结合性能良好的生物相容性涂层材料。该方法不仅可以制备出具有化学键合的复合涂层,还是生长固定有机化合物如氨基酸、肽、蛋白质等的有效基体,因为多孔氧化物结构对这些有机物的极性基团同样具有较强的吸附力。如Boyd等<sup>[11]</sup>将成骨细胞和成纤维细胞接种于阳极氧化的钛片表面后,发现改性后的钛表面能吸附更多的细胞和纤连蛋白,这些蛋白多糖可进一步吸附钙、磷等矿物质,进而诱导磷酸盐沉积,促进骨整合。

作者简介:徐娟,女,1975年出生。博士研究生,主治医师。主要从事种植及修复方面的研究。

作者单位:1. 130021 长春,吉林大学口腔医院种植中心;2. 830002,新疆乌鲁木齐市口腔医院

通讯作者:周延民,电话:18943971001;E-mail:zhouym62@126.com.

**2.2.2 溶胶凝胶法** 常用的方法是将钛酸酯的醇溶液加水制成胶体,再将钛浸入,干燥后既在钛表面形成凝胶膜;再经高温热处理,既能得到具有高浓度的Ti-OH基团的结晶表面膜。随后将钛基体浸入模拟体液(SBF)中,钛凝胶经过水解,表面将带上负电荷,Ca<sup>2+</sup>因此沉积到钛表面。随后PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>与OH<sup>-</sup>经过氢键与Ca<sup>2+</sup>结合,进而发生异相成核并生长为类骨磷灰石。这样钛基体表面即可沉积出羟基磷灰石层<sup>[6]</sup>,使植入体与周围组织形成直接的骨键合,而不产生纤维组织。

**2.2.3 碱热处理法** 碱热处理法是指在600℃以上的高温下,用NaOH浓溶液处理钛表面,使其疏松的网状结构TiO<sub>2</sub>水凝胶形成较为致密的NaTiO<sub>3</sub>无定形梯度层,最后在37℃下的SBF中浸泡,能使钛基体上形成了机械性能稳定、强键结合的磷灰石涂层。Kim等<sup>[12]</sup>研究认为,碱热处理法诱导形成的磷灰石层,具有很强的韧性,能与钛合金紧密结合。Chosa等<sup>[13]</sup>的研究也指出,碱热处理法能使钛酸钠层、磷灰石层和基体间形成梯度界面结构,这就使磷灰石层与钛基体之间的结合强度变得更高。

**2.2.4 离子注入法** 离子注入法是指将某种元素的原子或分子进行电离,使其在电场中获得较高的速度后射入固体材料表面,以改变这种材料表面的物理或化学性能的一种技术。经过离子注入后,材料表面将形成一种极薄的、呈梯度的、牢固结合的生物活性膜,使材料的生物相容性得到提高。有学者在动物模型中,对未经处理的纯钛、离子注入钛和阳极氧化处理钛的生物相容性进行了比较研究,发现离子注入钛的生物相容性最优<sup>[14]</sup>。

以往大量的种植体表面离子注入研究,主要集中在将氮离子注入金属纯钛或钛合金表面,以提高钛材料表面的硬度和耐腐蚀性能<sup>[15]</sup>。Hanawa等<sup>[16]</sup>研究发现,将钙离子注入纯钛,也可增强材料诱导钙磷灰石结晶形成的能力。还有学者尝试将羟基、氨基等活性基团引入钛种植材料表面,以提高材料的生物相容性<sup>[17]</sup>。Maitz等<sup>[18]</sup>对比了纯钛种植体表面分别经过钠离子束注入和碱化后,HA形成和细胞生长情况,发现前者处理后的种植体表面成骨细胞生长有序,形成HA后,细胞增殖明显提高。

**2.2.5 全方位离子注入沉积法** 此法是在离子注入法的基础上,再对材料进行融合沉积处理,通过定向运动沉积形成一定厚度的、呈梯度的、牢固结合的生物活性膜,使材料的生物相容性得到进一步的提高,硬度和耐腐蚀性能方面得到进一步改善。离子注入与沉积技术联用克服了传统离子注入所固有的直射性限制,能够快速处理各种复杂形状的试件。此外,在该方法中通过控制高低电压时间的比率,可以实现薄层沉积过程中全方位的离子轰击,从而在复杂形状试件表面获得具有强膜结合力的、致密和均匀的化合物膜层<sup>[19]</sup>。

**2.2.6 微弧氧化法** 微弧氧化法是一种在Al、Mg、Ti等有色金属表面原位生长一层致密陶瓷氧化膜的新技术,这层陶瓷保护膜与基体结合力强,可极大的改善金属的耐磨性和耐

腐蚀性。其过程机制包括热析出、元素扩散、等离子化学反应和电泳效应等。对电解质溶液施加正电压,处于阳极的纯钛表面就会电镀形成氧化膜,氧化膜随电压增加将逐渐分解,并出现微电弧氧化现象。此时种植体中的钛离子和电解质中的氢氧根离子分别移动,再次形成TiO<sub>2</sub>氧化膜,新形成的氧化膜不仅是多孔状的,而且会紧紧地黏附着基体。这一方面极大的提高了钛合金的防腐和耐磨性能,在体内环境中会有效的抑制离子释放;另一方面也提高了钛合金的生物相容性<sup>[20]</sup>。

最近有学者证明<sup>[21]</sup>,微弧氧化种植体表面在体液环境下可以诱导沉积磷灰石晶体,而种植体周围成骨细胞也可以不断形成生物钙化层,并最终形成种植体-骨界面,且该表面没有细胞毒性。黄平等<sup>[22]</sup>将微弧氧化薄膜浸泡在模拟体液中,可观察到微弧氧化膜表面生成了羟基磷灰石,这说明富含钙、磷的微弧氧化膜具有生物活性。还有研究证实<sup>[23]</sup>,增加电镀电压可以增加氧化膜的厚度和粗糙度,同时也增加了氧化膜表面的钙和磷离子浓度,使材料表面的成骨细胞的活性增加。

**2.2.7 生物活性物质的表面修饰** 种植材料与组织一旦发生接触,其表面均会吸附一层蛋白及蛋白多糖,这层最先吸附的蛋白及蛋白多糖对介导细胞与种植体的反应是非常重要的,被认为是介导细胞与种植体表面最初反应的桥梁物质。当钛材料暴露于组织液后,由于其表面的氧化膜呈负极性,组织液中的阳离子主要是Ca<sup>2+</sup>就吸附在材料表面,其介导阴性大分子物质如蛋白多糖吸附在材料表面,从而提高其生物相容性。

近年来,一些学者尝试使用生物大分子修饰钛表面的最新策略,来构建具有生物活性的种植体,如在钛表面共价接枝含RGD序列肽段、TGF、BMP等生物大分子<sup>[24]</sup>,试图通过生物活性物质促进细胞黏附能力。RGD肽序列是一个参与细胞黏附的重要功能区,FN和VN都存在此功能区。RGD接枝钛表面一般包括以下3步反应:APTES硅烷化、与SMP交联、巯基成键作用下的多肽固定。为了保证生物大分子排列的均一化和充足数量的生物分子接枝到材料表面,所有的步骤都是在无水条件下进行的<sup>[25]</sup>。

### 3 展 望

今后生物材料表面改性的发展趋势是:(1)对生物体和钛材料表面关系进行基础性研究,即材料和机体的宿主反应和材料反应的界面研究,这是研究和开发新的改性方法的方向和动力;(2)以钛材料表面和机体发生反应的机制为指导,研究和提出多种表面改性的新方法,立足于良好的初期稳定性,提高远期固持率。相信不久通过不断改进,创新表面粗化方法,一定能找到一种能综合优化种植体表面理化特征、形貌及粗糙度等因素的表面处理方法,从而进一步缩短种植体-骨结合时间,提高种植体的成功率。

### 【参考文献】

- [1] Lumbikanonda N, Sammons R. Bone cell attachment to den-

- tal implants of different surface characteristics[J]. Int J oral maxillofac implants, 2001, 16(5): 627-636.
- [2] Kanagaraja S, Wenneberg A, Eriksson C, et al. Cellular reactions and bone apposition to Titanium surfaces with different surface roughness and oxide thickness cleaned by oxidation[J]. Biomaterials, 2001, 22(13): 1809-1818.
- [3] Bachle M, Kohal R J. A systematic review of the influence of different titanium surfaces on Proliferation, differentiation and protein synthesis of osteoblast-like MG63 cells[J]. Clin oral Implants Res, 2004, 15(6): 683-692.
- [4] Ferguson S J, Langhoff J D, Voelter K, et al. Biomechanical comparison of different surface modifications for dental implants[J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 2008, 23(6): 1037-1039
- [5] Cornellini R, Cangini F, Covani U, et al. Immediate loading of implants with 3-unit fixed partial dentures: a 12-month clinical study[J]. Histological and implants, 2006, 21(6): 914-918
- [6] Shibata Y, Kawai H, Yamoto H, et al. Antibacterial titanium plate anodized by being Discharged in NaCl solution exhibits cell compatibility[J]. J Dent Res, 2004, 83(2): 115-119.
- [7] Chou L, Firth J D, Uitto V J, et al. Substratum surface topography alters cell shape and regulates fibronectin mRNA lever, mRNA stability, secretion and assembly in human fibroblast[J]. J cell Sci, 1995, 108(P4): 1563-1573.
- [8] Mang C, Duan Y Markovic B, et al. Proliferation and bone-related gene expression of Osteoblasts grown on hydroxyapatite ceramics sintered at different temperature[J]. Biomaterials, 2004, 25(15): 2949-2956.
- [9] Kim M J, Kim C W, Lim Y J, et al. Microrough titanium surface affects biologic response in MG63 osteoblast-like cells[J]. J Biomed Mater Res A, 2006, 79(4): 1023-1032.
- [10] Kokubo T, Kushitani H, Sakka S, et al. Solution able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W[J]. J Biomed Mater Res, 1990, 24(6): 721-734.
- [11] Boyd A R, Burke G A, Duffy H, et al. Characterisation of calcium phosphate/titanium dioxide hybrid coatings[J]. J Mater Sci Mater Med, 2008, 19(2): 485-489.
- [12] Uchida M, Kim H M, Kokubo T, et al. Structural dependence of apatite formation on titania gels In a simulated body fluid[J]. J Biomed Mater Res A, 2003, 64(1): 2969-2974.
- [13] Chosa N, Taira M, Saitoh S, et al. Characterization of apatite formed on alkaline-heat-treated Ti[J]. J Dent Res, 2004, 83(6): 465-469.
- [14] Maltz M F, Pham M T, Matz M, et al. Ion beam treatment of titanium surfaces for enhancing Deposition of hydroxyapatite from solution[J]. Biomol Eng, 2002, 19(2-6): 269-272.
- [15] 蔡玉荣. 用化学处理法制备具有梯度表面结构的生物活性钛[J]. 稀有金属快报, 2000, 6(1): 15-16.
- [16] Liu X M, Wu S L, Chan Y L, et al. Surface characteristics, biocompatibility, and mechanical Properties of nickel-titanium plasma-implanted with nitrogen at different implantation voltages[J]. J Biomed Mater Res A, 2007, 82(2): 469-478.
- [17] Krupa D, Baszkiewicz J, Kozubowski J A, et al. Effect of dual ion of calcium and phosphorus on the properties of titanium[J]. Biomaterials, 2005, 26(16): 2847-2856.
- [18] Lee B H, Kim J K, Kim Y D, et al. In vivo behavior and mechanical stability of surface-modified Titanium implants by plasma spray coating and chemical treatments[J]. J Biomed Mater Res A, 2004, 69(2): 279-285.
- [19] Maltz M F, Poon R W. Bioactivity of titanium following sodium plasma immersion ion implantation and deposition[J]. Biomaterials, 2005, 26(27): 5465-5473.
- [20] Wang L P, Wang Y H, Yu Y Y, et al. Surf. Coat[J]. Technol, 2007, 201: 6585-6588.
- [21] Li L H, kong Y M, Kim H W, et al. Improved biological performance of Ti implants due to surface modification by micro-arc oxidation[J]. Biomaterials, 2004, 25(14): 2867-2875.
- [22] Yang C, Meng L, Tian Y, et al. Cytotoxicity study of a novel implant material modified by Microarc oxidation[J]. J Huazhong Univ Sci Technol Med Sei, 2006, 26(6): 720-722.
- [23] Song W H, Jun Y K, Han Y, et al. Biomimetic apatite coatings on micro-arc oxide titanium[J]. Biomaterials, 2004, 25(17): 3341-3349.
- [24] Rammelt S, Illert T, Bierbaum S, et al. Coating of titanium implants with collagen, RGD Peptide and chondroitin sulfate[J]. Biomaterials, 2006, 27(32): 5561-5571.
- [25] Kroese Deutman H C, vanden Dolder J, Spauwen P H, et al. Influence of RGD-loaded titanium implants on bone formation in vivo[J]. Tissue Eng, 2005, 11(11-12): 1867-1875.

(2009-11-15 收稿 2010-02-28 修回)

(责任编辑 尤伟杰)

医学期刊常用字词正误对照表

正确	错误	正确	错误	正确	错误
手术线 2-0	手术线 0/2	适应证	适应症	糖皮质激素	糖皮质激素醇
21 世纪	本世纪	禁忌证	禁忌症	三羧酸循环	柠檬酸循环
体重	体质量	综合征	综合症	血管升压素	血管加压素
机制	机理	鼻旁窦	副鼻窦	唐氏综合征	先天愚型