

# 植入体微纳结构表面制备及生物相容性研究综述

王桂森<sup>1</sup>, 万熠<sup>1</sup>, 王滕<sup>1</sup>, 张东<sup>2</sup>

(1. 山东大学 高效洁净机械制造教育部重点实验室, 济南 250061;

2. 山东大学齐鲁医院, 济南 250012)

**摘要:** 生物医用钛合金植入体与骨细胞结合能力差一直是医学界面临的难题之一, 表面形貌作为影响植入体生物相容性的重要因素, 受到国内外学者的广泛研究。针对植入体表面微纳结构的国内外研究现状进行了叙述, 重点介绍了植入体表面的微米结构、纳米结构、微纳米多级结构的制备及其对生物相容性的影响。综述表明: 植入体表面合适的微米结构或纳米结构对细胞的行为表现出积极作用, 能够增加植入体的生物活性和生物相容性; 兼具微米与纳米多级结构表面的种植体表现出微米结构和纳米结构的协同效应, 相对于单一的微米或纳米结构, 能更好地促进骨整合。最后, 针对医用钛合金植入体表面结构研究中存在的一些问题, 指出了植入体表面结构的研究趋势。

**关键词:** 植入体; 微米结构; 纳米结构; 微纳米结构; 生物相容性

**中图分类号:** TG146.2; R318.08 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3660(2016)05-0008-11

**DOI:** 10.16490/j.cnki.issn.1001-3660.2016.05.002

## Review on Preparation of Micro-nano Structure on Implant Surface and Its Biocompatibility

WANG Gui-sen<sup>1</sup>, WAN Yi<sup>1</sup>, WANG Teng<sup>1</sup>, ZHANG Dong<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of High-efficiency and Clean Mechanical Manufacture, Shandong University, Jinan 250061, China;

2. Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China)

**ABSTRACT:** The poor binding capacity between biomedical titanium alloy implant and osteoblasts is one of the difficult problems in medical field. Surface topography, as an important factor, affects the biocompatibility of the implant, which attracts the widespread attention of researchers. The state-of-the-art of micro-nanostructure on implant was presented in this paper, and the specific conditions for preparation of micron structure, nanostructure and hierarchical micro/nanostructure on implant were introduced, as well as the effect on biocompatibility. The summary showed that the implant surface with suitable micron or nano structure had positive effect on cell behavior, and could increase its biological activity and biocompatibility. Implant with mul-

收稿日期: 2015-12-04; 修订日期: 2016-01-04

**Received:** 2015-12-04; **Revised:** 2016-01-04

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(51175306, 51575320); 山东大学基本科研业务费资助项目(2014JC020)

**Fund:** Supported by the National Natural Science Foundation of China (51175306, 51575320), and the Fundamental Research Funds of Shandong University (2014JC020)

**作者简介:** 王桂森 (1992—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为生物医学材料表面工程。

**Biography:** WANG Gui-sen (1992—), Male, Master graduate student, Research focus: surface engineering of biomedical materials.

**通讯作者:** 万熠 (1977—), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为生物材料加工制造理论与技术。

**Corresponding author:** WAN Yi (1977—), Male, Ph. D., Associate professor, Research focus: biomaterials manufacturing theory and technology.

ti-level surface structure had synergistic effect of micron structure and nanostructure compared to a single micron structure or nanostructure surface, which significantly improved the osseointegration. Finally, aiming at some problems or shortcomings in the research of medical titanium alloy implant, the research trend of structure surface on implant was proposed.

**KEY WORDS:** implant; micron structure; nanostructure; micro- nanostructure; biocompatibility

生物医学工程是 21 世纪最关键、最核心、应用最广泛的技术领域之一,其发展水平在很大程度上决定了人类生命的长度和质量<sup>[1]</sup>。随着人口老龄化及中青年创伤的增多,植入体的应用越来越广泛,生物材料将具有更加巨大的发展市场。在各种生物材料中,钛与钛合金具有良好的力学性能、生物相容性和耐腐蚀性,使其广泛应用于人工关节与硬组织替代。生物医用钛合金植入体面临的最大挑战之一,就是它们与生命体组织的结合速度和结合强度,因此改善植入体与生命组织的结合是植入手术成功的关键。

国内外的许多研究表明,影响植入体与生命体结合的因素主要包括植入体的表面形貌<sup>[2]</sup>、表面能<sup>[3-5]</sup>、表面粗糙度<sup>[6-10]</sup>、表面亲水性<sup>[11-13]</sup>以及植入体表面化学成分和表面湿润性<sup>[14]</sup>等。其中,表面形貌作为影响骨结合的重要因素之一,受到国内外学者的广泛关注。目前,人们主要通过表面改性技术在种植体表面制备出微米或纳米结构来改善其表面的性质,从而增加其与骨组织的生物相容性。大量的研究表明<sup>[15-19]</sup>,植入体表面形态结构为微米级(结构单元和尺寸为 1~10  $\mu\text{m}$ ),可以调节骨细胞的迁移和生长,增加种植体与周围骨组织的机械嵌合力,并且具有一定生物活性;若其表面立体微观尺度上为纳米级(尺寸为 1~100 nm),则可以调控与其接触的细胞的粘附、增殖和基因表达,促进新骨形成,提高种植体的骨结合率。

植入体的表面微纳结构从尺寸上讲,主要分为微米、纳米、微纳米多级结构等三个方面<sup>[20]</sup>。由于不同尺度的植入体表面微结构对细胞的迁移、增殖、分化等功能具有不同的影响,而单一尺度的微米或纳米结构表面仅对细胞的某些行为具有促进作用,表现出一定的局限性。因此,拥有协同效应的微纳米多级结构的表面逐渐成为了研究热点。文中对植入体微纳米结构的设计制造及其对生物相容性的影响进行概述,有望对未来植入体表面的结构设计、制备及其他方面提供研究借鉴。

## 1 微米结构表面

### 1.1 微米结构表面的制备方法

微米结构表面分为规则微米结构表面和不规则微米结构表面两大类。目前在微米结构表面中,对植入体随机微米结构与规则微图形的制备及其对骨整合的影响已有所研究。不同类型的结构具有不同的制造方法,并且对骨细胞产生的影响也不同。

#### 1.1.1 不规则微米结构

随机微米结构表面可采用磨削<sup>[21]</sup>、抛光<sup>[22]</sup>、喷丸或喷砂<sup>[23]</sup>等处理方法获得,主要是在植入体表面得到特定的表面粗糙度。通常,磨削表面的粗糙度为  $Ra=0.2\sim 1.6\ \mu\text{m}$ 。利用磨削方法可以获得与磨削方向有关的沟槽结构,改善细胞的接触诱导<sup>[21]</sup>。相对于磨削,抛光可以获得更加光滑的表面,并且  $Ra=0.1\sim 0.2\ \mu\text{m}$  的抛光表面比更粗糙或更光滑的表面要好<sup>[24]</sup>。有研究发现<sup>[21]</sup>,在抛光表面中,当  $Ra=0.15\ \mu\text{m}$  时,细胞粘附性最好。喷砂是在常温下将氧化铝、金刚砂等微颗粒高速喷射到植入体表面,使植入体的表面产生凹坑,从而获得一定表面粗糙度的方法。这种方法加工简单,但是得到的表面外形不规则,边缘锐利,且镶嵌着一些喷砂的颗粒,钛离子的溶出速度较大。李德华等人<sup>[25]</sup>将喷砂的表面经草酸改良处理,得到了相对规则、圆滑的表面,消除了镶嵌的喷砂颗粒,降低了钛粒子的溶出速度。近年来,喷砂酸蚀技术被国内外许多学者用来提高植入体与骨组织的机械锁和。

#### 1.1.2 规则微米结构

在规则的表面微结构中,具有规则微图形的表面可以诱导骨细胞取向生长,并能对细胞的增殖、分化产生一定的影响。随着科学技术的发展,建立起微图形与细胞功能之间的关系逐渐成为可能。在众多的微图形结构中,微沟槽对细胞的影响被一些学者广泛研究。有研究表明,沟槽之间的间距和其本身的尺寸对细胞的形状与行为会产生重要影响。如:

细胞处于沟槽内外的比例与沟槽之间的间隔有关,即当沟槽之间的间隔减小(增大)到一定程度时,细胞基本上处于沟槽内(外)部;细胞的长宽比会随着沟槽尺寸的减小而增加<sup>[26-27]</sup>。一些研究表明<sup>[28-29]</sup>,其他微图形对骨整合也表现出积极的作用。

规则微图形结构表面可以通过光刻、掩膜曝光电化学微加工及微细铣削等方法获得。光刻是将照相复制技术与化学腐蚀相结合,在工件表面制取精密、微细、复杂薄层图形的化学加工方法。Clark 等<sup>[30]</sup>利用光刻技术获得了深度 0.2~1.9  $\mu\text{m}$ 、间距 4~24  $\mu\text{m}$  的凹槽表面,研究表明,沟槽的深度比间距对细胞的生长取向影响更大。但该方法工艺复杂,并且在光刻过程中容易产生污染。

掩膜曝光电化学微加工技术是一种先利用光刻方法在材料表面获得胶掩膜,然后经电化学处理得到微阵列的方法。Lu 等人<sup>[31-32]</sup>利用掩膜曝光电化学微加工技术,在钛与钛合金表面制备了多孔微阵列,将其放入动态的模拟体液中一段时间后进行观察分析,发现具有微孔阵列的表面比平坦的钛表面

沉积了更多的磷酸钙。将具有微孔阵列的植入体进行碱热处理后,植入狗的股骨,一段时间后将植入体从狗的体内取出并进行分析处理,结果发现植入体表面有大量新骨生成<sup>[31]</sup>,这表明经碱热处理的表面微图形对骨传导具有积极影响。

微细铣削是通过微细铣削机床,在植入体表面加工出特定微图案的方法。该法的最大优点就是能够加工自由曲面及规则微图形,且参数可控。Sinan Filiz 等<sup>[33]</sup>研究了微铣削加工生物相容性材料的微倒钩结构。他们采用了两种微铣刀,探讨了切削加工中微铣削力、表面粗糙度和毛刺的形成,并在 PMMA 材料上进行了实验研究,分别加工出了不同尺寸的微倒钩(其宽度在 68~174  $\mu\text{m}$ ,高度在 84~460  $\mu\text{m}$ ),如图 1 所示。植入生命体后,由于微倒钩的存在,植入体不宜松动和脱落。还有研究者<sup>[34-35]</sup>在钛表面加工出交替的微沟槽,通过细胞培养实验发现,细胞在沟槽中表现出定向排列和接触斑增强的结果。

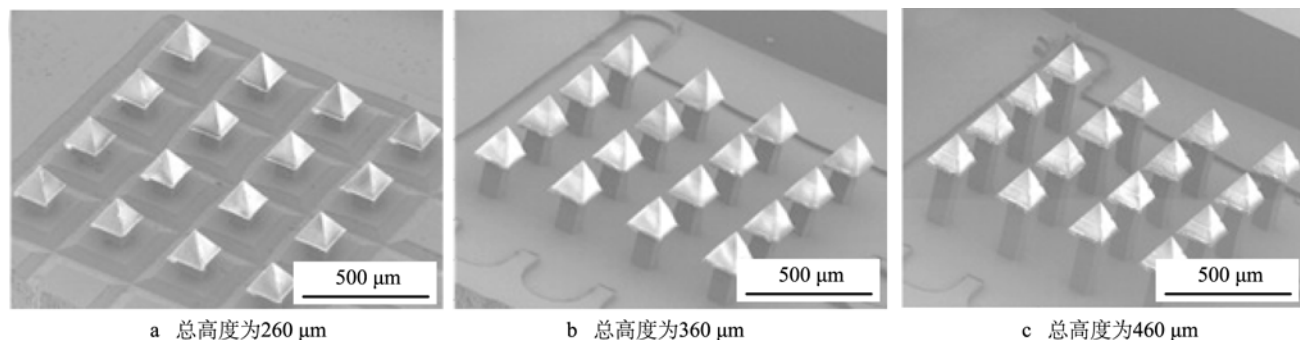


图 1 PMMA 表面微倒钩阵列的 SEM 图<sup>[33]</sup>

Fig.1 SEM images of PMMA microbarb arrays with different microbarb height: a) 260  $\mu\text{m}$ , b) 360  $\mu\text{m}$ , c) 460  $\mu\text{m}$

## 1.2 微米结构对植入体生物相容性的影响机制

目前,关于微米表面促进植入体骨整合的机制主要有三种,即生物机械理论、接触骨形成理论、细胞介导的表面信号传导理论。生物机械理论认为,微米表面可以增加植入体的表面积,改变骨组织的受力,提高植入体与骨组织的机械嵌合力<sup>[36]</sup>。骨形成理论认为,微米凹可以使纤维蛋白血凝块沉积在植入体的表面,并对细胞外基质支架具有固定作用<sup>[37]</sup>,从而增加骨整合。表面信号传导理论则认为,细胞与植入体表面之间的作用实质上是细胞和植入体表面粘附的蛋白或其他生物活性分子之间的相互

作用<sup>[38]</sup>。不同生物分子传递的不同信息会对细胞产生不同的影响,从而改善其生物相容性。Schneider 等人<sup>[39]</sup>的研究已经表明,整合素确实参与了细胞粘附的特殊信号传导。

目前人们普遍认为,一定的微米结构增加了植入体与骨的机械嵌合力,促进了细胞的增殖与粘附。至于哪种理论更贴近于实际,则仍需进一步探索。

## 2 纳米结构表面

### 2.1 纳米结构表面的制备方法

近些年,随着纳米技术的发展,已经开展了植入体表面纳米结构化工作,而植入体纳米结构对细

胞行为的影响也引起了一些学者的广泛研究，并取得了比较好的研究成果。钛材表面纳米结构化的方法主要包括：直接化学反应法<sup>[40—42]</sup>、阳极氧化法<sup>[43—47]</sup>、微弧氧化法<sup>[48—49]</sup>、溶胶-凝胶法<sup>[50—51]</sup>、化学气相沉积法<sup>[52—53]</sup>、水热合成法<sup>[54]</sup>、电化学沉积法<sup>[55—56]</sup>、等离子喷涂法<sup>[57]</sup>、物理气相沉积法<sup>[58]</sup>、切削加工、磨削及抛光<sup>[59]</sup>等。目前，国内外已通过上述方法获得了具有纳

米管、纳米线、纳米花等纳米结构的表面(见图 2—4)，使得钛合金植入体具有良好的生物相容性。

直接化学反应法是利用酸碱、过氧化氢溶液与钛及钛合金发生反应，在其表面形成具有生物活性的纳米结构。该法操作简单且适用性强，通过控制反应条件，可在植入体表面获得纳米花、纳米线、纳米带等结构<sup>[41—42]</sup>。

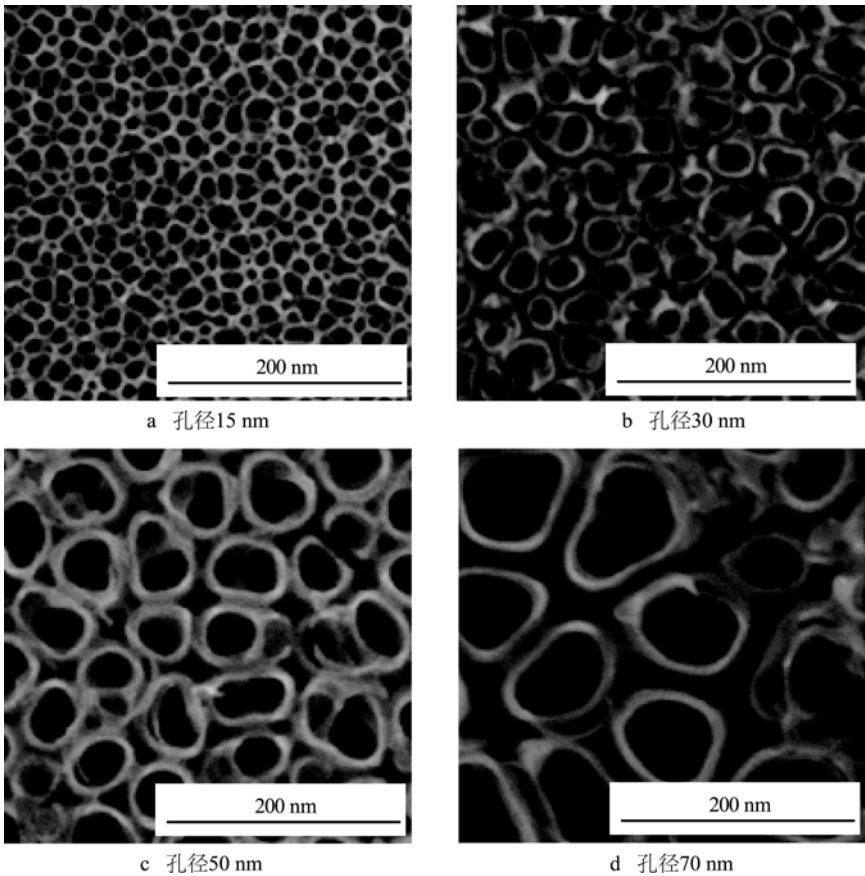


图 2 阳极氧化法制备的不同直径的 TiO<sub>2</sub> 纳米管电镜图<sup>[43]</sup>

Fig.2 Self-assembled layers of vertically oriented TiO<sub>2</sub> nanotubes generated by anodizing titanium sheets: nanotube with pore size of (a) 15 nm, (b) 30 nm, (c) 50 nm, (d) 70 nm

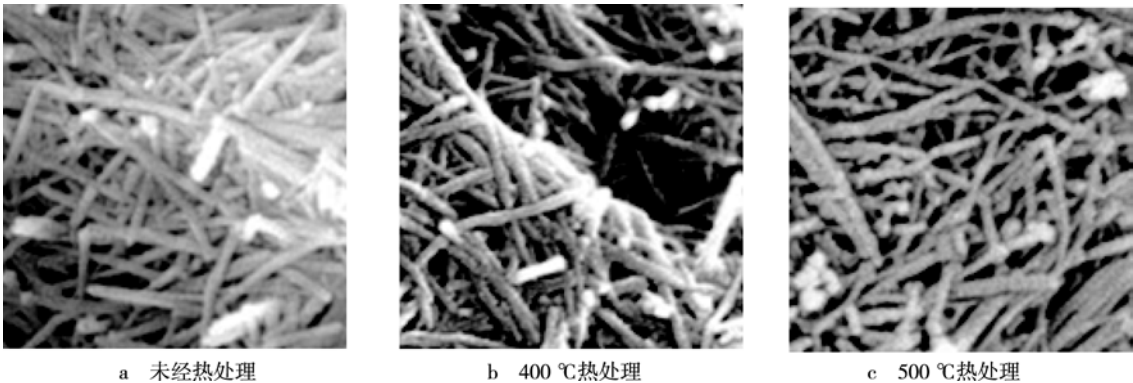


图 3 水热合成法制备的 TiO<sub>2</sub> 纳米线经不同温度热处理后的 FESEM 图<sup>[54]</sup>

Fig.3 FESEM images of the as-prepared nanowires prepared by hydrothermal synthesis (a) and nanowires annealed at (b) 400 °C, (c) 500 °C

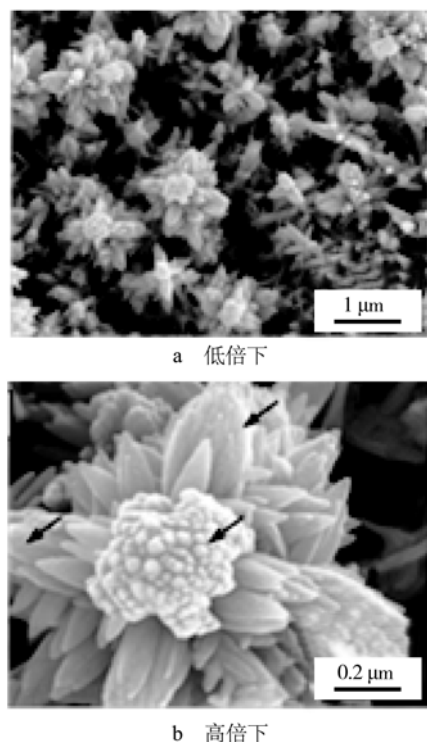


图 4  $\text{TiO}_2$  纳米花微观 SEM 图<sup>[41]</sup>

Fig.4 Field emission scanning electron microscope morphology of titania nanoflowers: (a) low magnification, (b) high magnification

阳极氧化法是目前表面改性中应用较多的一种方法,主要是在钛及钛合金表面制备出均匀性好的纳米管序列,以影响细胞的伸展、分化<sup>[43,45]</sup>。在阳极氧化过程中,通过控制电流的大小、氧化时间、电解液的成分<sup>[60]</sup>与浓度,可以得到不同管径系列的 $\text{TiO}_2$ 纳米管,并且该法的成本比较低。

微弧氧化法通过金属表面弧光放电产生的瞬时高温高压,可在材料表面获得耐磨损、耐腐蚀、耐高温的陶瓷膜层。该膜层改善了种植体与新生骨的机械嵌合,提高了结合速度。由于微弧氧化获得的陶瓷膜层比较均匀,孔隙率低,不易脱落,并且工艺操作简单,处理效率高,膜层厚度易于控制,因此该法在临床植入体手术中已有少量的探索性应用<sup>[61]</sup>。谭思民等<sup>[62]</sup>将植入体表面生成的微弧氧化膜进行水热处理,提高了氧化膜 Ca/P 摩尔比,使得非晶态钙磷化合物转变为具有生物相容性的羟基磷灰石,并且水热处理时间越长,羟基磷灰石的含量越高。水热处理后与未经水热处理的微弧氧化膜相比,具有更好的生物相容性。

羟基磷灰石与人骨中的磷酸钙盐具有类似的化学成分,能够为新骨生长提供生理支架,促进骨组织的生长,与骨形成较强的活性连接<sup>[63-64]</sup>。在钛

及钛合金表面制备出羟基磷灰石涂层,可使植入体具有良好的力学特征和生物相容性。国内外一些研究者利用溶胶-凝胶法<sup>[50-51]</sup>、化学气相沉积法<sup>[52-53]</sup>、电化学沉积法<sup>[55-56]</sup>、等离子体喷涂法<sup>[57]</sup>、离子束辅助沉积技术<sup>[65]</sup>等方法,在种植体表面形成具有纳米结构的羟基磷灰石涂层,研究表明,此种涂层降低了植入体表面的弹性模量,促进了骨的再生与重建。但是这些方法仍有一些问题需要考虑,即涂层与基体的结合强度<sup>[66]</sup>、外在因素作用下涂层的脱落性以及羟基磷灰石膜层的抗腐蚀性等。目前,一些较好的涂层技术已经应用于临床。

此外,高压扭转<sup>[67]</sup>、深度变形<sup>[68]</sup>、颗粒压制<sup>[69]</sup>等机械方法也是获得表面纳米结构的有效方法,主要是获得一定的表面粗糙度与表面拓扑结构,进而提高骨整合性<sup>[70]</sup>。La Peiqing 等<sup>[68]</sup>通过深度变形方法在植入体表面获得纳米晶结构,增加了其生物活性;Webster 等<sup>[69]</sup>通过颗粒压制在钛表面得到纳米结构,增加了细胞的粘附。

## 2.2 纳米结构对植入体生物相容性的影响机制

相对于微米结构,纳米结构具有更大的比面积和更好的亲水性,能够促进成骨细胞更好地粘附在植入体表面。一些研究发现,纳米结构表面可以通过影响 RGD 肽的构象来改善植入体与蛋白的相互作用,从而有效地增强细胞在纳米结构表面的吸附。如植入体表面的粘着斑增加可使成骨细胞的吸附活性增强,而纳米结构恰好影响着粘着斑的形成<sup>[71-72]</sup>。因此,研究人员可以通过在植入体表面制备一定尺度的纳米结构,来增强细胞在植入体表面的粘附。

许多研究表明,植入体表面的微米结构和纳米结构都对成骨细胞的分化有影响;但 Isa 等<sup>[73]</sup>研究发现,对成骨细胞分化起关键作用的转录因子 Runx2 的表达只有在纳米结构的表面上才会增加;而 Guo 等<sup>[74]</sup>除证明了 Runx2 的表达在纳米结构表面增加外,还发现骨涎蛋白、骨桥蛋白、骨钙蛋白等也会在纳米表面增加。Park 等人<sup>[75]</sup>研究了植入体表面的湿润性对其生物相容性的影响,结果表明,整合素基因(除  $\alpha 3$ )对表面湿润性很敏感,增加表面湿润性有助于细胞外基质蛋白的粘附。这在一定程度上说明了纳米结构可以通过调节相关生物活性分子的粘附以及转录因子的表达,来更好地调

节细胞的行为。另有研究发现,成骨细胞的功能和 BMSCs 成骨分化能力在具有大孔径  $\text{TiO}_2$  纳米管 (70~100 nm) 的表面更好<sup>[43,76-77]</sup>。目前猜想的可能机制是,细胞外基质的组成和细胞膜上整合素的分布受到植入体表面纳米管孔径大小的影响,从而影响了细胞骨架的重组和张力<sup>[78]</sup>。此外,Hyzy 等人研究发现<sup>[79]</sup>,成骨细胞的突触更喜欢长入纳米结构的孔隙中,因其对细胞胞体起到了固定作用,从而增加了细胞的粘附,提高了植入体的生物相容性。所以,纳米结构能够通过直接或间接的作用来影响细胞的行为,如图 5 所示<sup>[80]</sup>。

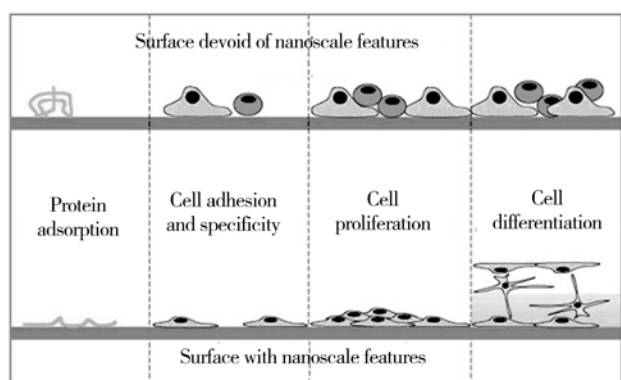


图 5 纳米结构对细胞行为的影响<sup>[80]</sup>

Fig.5 Effect of nano structure on cell behavior

目前,关于纳米结构对植入体生物相容性影响机制的研究仍在继续,有些理论仅处于猜测阶段,需要相关研究人员进行更加深入的研究与探索。

### 3 微纳米多级结构表面

#### 3.1 微纳米多级结构表面的制备方法

如图 6 所示,天然骨 (A) 是由微米级骨板及哈弗斯骨单位 (B) 和纳米级胶原纤维及羟基磷灰石 (C, D) 组成的微/纳多级结构<sup>[81]</sup>,仅有纳米结构的植入体不足以保证良好的骨结合,微米结构对骨结合的影响也很大<sup>[82]</sup>。生物学观点认为,微纳米多级结构兼具微米与纳米结构的优势,对植入体与生物组织的结合具有更好的促进作用。文献[83]指出,在植入体表面的微米结构上制备出纳米结构,对成骨细胞的增殖、蛋白质和碱性磷酸酶合成、胶原蛋白的分泌及胞外基质矿化等具有积极地影响,表现出微纳米结构的协同效应。

相对于植入体表面微米或纳米结构的制备,微

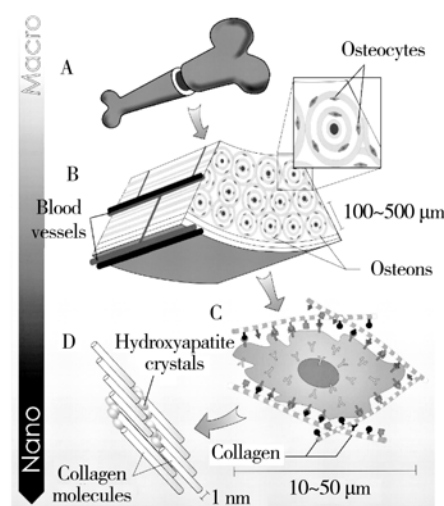


图 6 不同尺度下的骨组织<sup>[81]</sup>

Fig.6 Hierarchical organization of bone at different length scales

纳米多级结构的制备方法比较少,而且也较复杂,目前的制造方法主要包括:喷砂+阳极氧化法、酸蚀+阳极氧化法、电解蚀刻法、电化学法等。一些学者<sup>[84-87]</sup>先利用喷砂或酸蚀的方法在钛材表面形成微米级的表面形貌,再通过阳极氧化的方法在微米结构上生成纳米结构。其中,植入体表面经酸蚀+阳极氧化后,再经过 450 °C 热处理 6 h,产生了拥有锐钛矿晶体的微纳米多孔结构<sup>[85]</sup>;而喷砂后进行阳极氧化,表面产生了包含锐钛矿与金红石成分的多孔膜,但这种方法会使少许喷砂颗粒残留在植入体表面<sup>[87]</sup>。经研究发现,喷砂或酸蚀与阳极氧化结合获得的微纳米结构显著提高了种植体与骨的结合。

电解蚀刻是以钛作为阳极,酸为电解液,在一定时间和电流作用下对金属表面进行蚀刻,获得兼具微米与纳米结构的仿生微形貌的方法,通过改变电流大小与电解时间,可获得不同尺度的表面结构。王世振等<sup>[88]</sup>利用电解蚀刻法,在纯钛和钛合金表面制得了不同直径和深度的碗形巢样及纳米结构,经研究发现,30~50 μm 的充满纳米结构的碗型凹可使细胞处在最佳的活性和功能状态。

除此之外,电化学法<sup>[89]</sup>也是一种比较好的表面处理,利用该法制备的微纳双级结构表面能够较好地促进细胞的粘附、增殖及分化,提高成骨细胞的生物相容性。

以上方法虽然都成功地在植入体表面制备出了微纳多级结构,但这些方法具有以下缺点:1) 随酸蚀或阳极氧化的时间、酸液浓度、电解液成分、

温度等不同,植入体表面会形成不同尺度的微结构,制备过程不易控制,并且易受环境因素的影响;2)即使在相同的试验条件下,通过以上方法得到的表面微纳多级结构的差距也比较大。因此,需要寻求更好的方法制备微纳米多级结构表面。

微切削技术的发展与应用为钛合金植入体制备具有精确定义的拓扑形貌表面微结构阵列(形状、尺寸、密度、布局、轮廓等)提供了基础。如今,直径 0.1 mm 的硬质合金立铣刀已经商品化,直径 50  $\mu\text{m}$  的立铣刀也开始上市,并且还可以利用 FIB 技术在刀具切削刃上加工微结构后,再去加工工件。所以,可以在植入体表面先利用微细切削加工技术获得精确、规则的微米结构,然后通过生物化学手段获得纳米结构,最终形成微纳米多级结构。文献[90]综述了以 AFM 探头为基础的机械纳米加工方法的研究进展,从中可以发现,许多学者对机械方法制造纳米结构的系统进行了研究,并在一些材料上成功制备出了纳米结构,这为未来高精度微纳米机械制造系统的设计指明了方向,使得利用机械方法在植入体表面制备有序的微纳米结构成为可能。

### 3.2 微纳米多级结构对植入体生物相容性的影响机制

相对于单一的微米结构或纳米结构,微纳米多级结构对植入体生物相容性的影响机制更加复杂。Wang 等人<sup>[78,91-92]</sup>研究了植入体微纳米形貌对成骨细胞行为的影响,认为植入体表面的微纳米结构通过影响整合素介导信号的途径(即整合素介导的 Wnt 自分泌和旁分泌途径、整合素/ILK/ $\beta$ -catenin 途径、整合素/ILK/ERK1/2 信号途径),促进了成骨细胞的生物学功能(如图 7 所示)。Zhao 等人<sup>[93]</sup>研究发现,具有微纳米结构表面的植入体对细胞的增殖、胶原蛋白的分泌、蛋白质的合成以及细胞外基质的矿化等产生了协同增强效应,但对植入体表面的微米结构和纳米结构实现协同增强效应的机制还不清楚。此外人们普遍认为,微纳米多级结构更接近于人骨的结构,其中微米凹可以通过影响细胞的微环境来改变骨细胞的行为,并增强骨细胞的机械嵌合力,纳米结构可在一定程度上影响材料表面生物活性分子的吸附,以调节细胞的粘附、增殖、分化等行为,比单一的微米或纳米结构具有更好的生物相容性。但是,对于微纳米多结构对生物相容

性的影响机制尚处于探索阶段,需要进行更多、更加深入的研究。

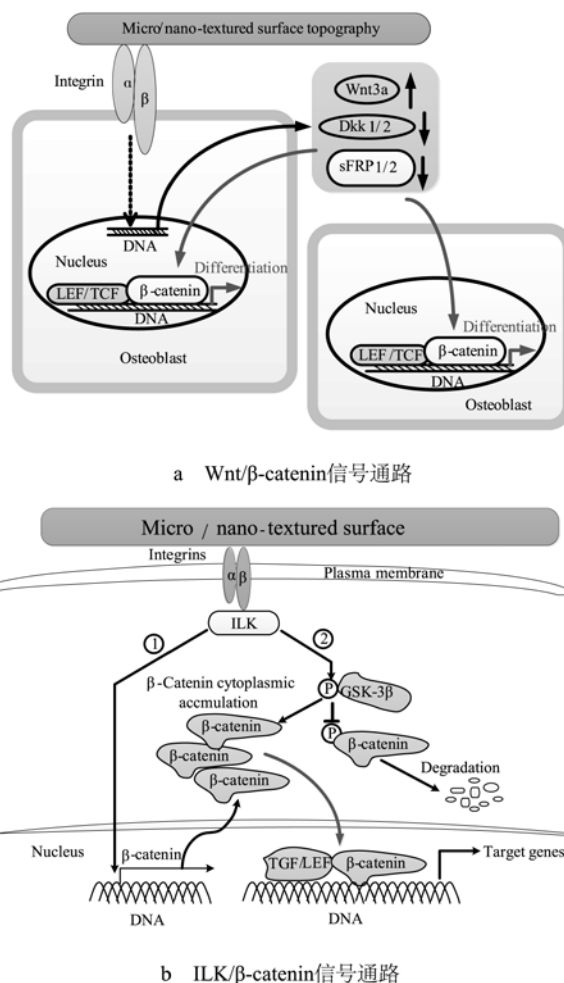


图 7 微纳米形貌通过整合素介导信号途径影响成骨细胞功能分化示意图<sup>[91-92]</sup>

Fig.7 Schematic diagram of micro/nano morphology affecting osteoblast differentiation by integrin mediated signal pathway: (a) the Wnt/ $\beta$ -catenin signal pathway, (b) the ILK/ $\beta$ -catenin signal pathway

## 4 结语

文中对植入体微纳米结构的设计制造及其生物相容性的影响研究现状进行了综述。当表面粗糙度在一定范围时,随着植入体表面粗糙度的增加,其生物相容性增强,并且在抛光的表面中, $R_a=0.15 \mu\text{m}$  时的细胞粘附性最好。细胞能对植入体表面特定的微图形作出一定的响应,在植入体表面制备出某些细胞外基质的蛋白图案,可以提高骨整合。在纳米结构中,大孔径的纳米管(70~100 nm)对成骨细胞的功能和 BMSCs 成骨分化能力具有更好的促进作用,而植入体表面的一些化学成分(如羟基



磷灰石、锐钛矿、金红石等)也对其生物相容性产生了积极的影响。此外,通过对比微米结构、纳米结构及微纳米多级结构对植入体生物相容性的影响后,发现具有微纳米结构的植入体表现出了更佳生物相容性。

在促进骨整合方面,不同尺度的微结构对骨整合产生的影响不同。如植入体表面孔径尺寸在5~40  $\mu\text{m}$ 时,允许纤维组织长入;孔径在40~100  $\mu\text{m}$ 时,允许非矿化骨样组织长入<sup>[94]</sup>。虽然目前的学者普遍认为,植入体表面的微结构尺寸在1~10  $\mu\text{m}$ 之间可以最好地促进细胞的增殖,但促进骨细胞分化的最优尺寸仍有争议<sup>[20]</sup>。对于植入体表面的微结构尺寸处于何值时,才能够最优地提高植入体的生物相容性,仍需要进行大量的实验研究。此外,关于植入体表面形貌对其生物相容性的影响机制,尚未形成一套成熟的理论,也需要进行深入探索研究。目前的植入体微纳结构表面大都采用物理、化学及生物化学的方法制备,不能够有效地将微纳结构的尺寸控制在一定范围,而不同方法也有其优势和不足。鉴于此,对未来植入体表面制备及生物相容性研究展望如下:

1) 植入体表面功能化制备从不准确、不规则的微米或纳米级结构向精确、规则的微米或纳米级结构发展。例如,通过微细切削加工技术可以在钛合金表面加工出复杂的规则微结构。

2) 植入体表面单一的微米(或纳米)结构功能化研究向微纳多级结构协同作用发展。通过研究微纳双级结构表面对细胞、蛋白质和基因的作用,建立植入体微纳双级结构与表面功能间的映射关系,确定最佳的表面结构。

3) 深入研究微纳米结构表面对植入体生物相容性的影响机制,为以后微纳米结构的构建提供理论指导。

4) 植入体表面对细胞行为、蛋白质粘附等影响实验从体外向大动物的体内发展。

5) 目前通过表面改性方法获得植入体表面的弹性模量相对于自然骨的弹性模量仍然有一定的差距,未来在表面功能化的同时应考虑弹性模量的匹配。

## 参考文献

[1] 万熠, 门博, 张东, 等. 一种多尺度表面结构植入体及

其制备方法: 中国, 103142298A[P]. 2013-06-12.

WAN Yi, MEN Bo, ZHANG Dong, et al. A Multi-scale Surface Structure Implant and Preparation: China, 103142298A[P]. 2013-06-12.

[2] LIN L, WANG H, NI M, et al. Enhanced Osteointegration of Medical Titanium Implant with Surface Modifications in Micro/Nanoscale Structures[J]. *Journal of Orthopaedic Translation*, 2014, 2(1): 35—42.

[3] KWOK S C H, WANG J, CHU P K. Surface Energy, Wettability, and Blood Compatibility Phosphorus Doped Diamond-like Carbon Films[J]. *Diamond and Related Materials*, 2005, 14(1): 78—85.

[4] HALLAB N J, BUNDY K J, O'CONNOR K. et al. Evaluation of Metallic and Polymeric Biomaterial Surface Energy and Surface Roughness Characteristics for Directed Cell Adhesion[J]. *Tissue Engineering*, 2001, 7(1): 55—71.

[5] ZHAO G, SCHWARTZ Z, WIELAND M, et al. High Surface Energy Enhances Cell Response to Titanium Substrate Microstructure[J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2005, 74A(1): 49—58.

[6] YOSHIDA Y, KURODA K, ICHINO R, et al. Influence of Surface Properties on Bioactivity and Pull-out Torque in Cold Thread Rolled Ti Rod—Development of Bioactive Metal-forming Technology[J]. *CIRP Annals-Manufacturing Technology*, 2012, 61(1): 579—582.

[7] BRANEMARK R, EMANUELSSON L, PALMQUIST A, et al. Bone Response to Laser-induced Micro- and Nano-size Titanium Surface Features[J]. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2011, 7(2): 220—227.

[8] PILLIAR R M. Overview of Surface Variability of Metallic Endosseous Dental Implants Textured and Porous-structured Designs[J]. *Implant Dent*, 1998, 7(4): 305—314.

[9] COCHRAN D L, BUSER D, TEN BRUGGENKATE C M, et al. The Use of Reduced Healing Times on ITI Implants with a Sandblasted and Acidetched (SLA) Surface[J]. *Clinical Oral Implants Research*, 2002, 13(2): 144—153.

[10] PAPALEXIOU V, NOVAES A B, GRISE M F M, et al. Influence of Implant Microstructure on the Dynamics of Bone Healing Around Immediate Implants Placed into Periodontally Infected Sites[J]. *Clinical Oral Implants Research*, 2004, 15(1): 44—53.

[11] KLEIN M O, BIJELIC A, ZIEBART T, et al. Submicron Scale-structured Hydrophilic Titanium Surfaces Promote Early Osteogenic Gene Response for Cell Adhesion and Cell Differentiation[J]. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 2013, 15(2): 166—175.

[12] PADIAL-MOLINA M, GALINDO-MORENO P, FERNÁNDEZ-BARBERO J E, et al. Role of Wettability and Nanoroughness on Interactions between Osteoblast and Modified Silicon Surfaces[J]. *Acta Biomater*, 2011, 7(2): 771—778.

[13] RUPP F, SCHEIDELER L, OLSHANSKA N, et al. Enhancing Surface Free Energy and Hydrophilicity Through Chemical Modification of Microstructured Titanium Implant Surfaces[J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2006, 76(2): 323—334.

[14] GITTENS R A, SCHEIDELER L, RUPP F, et al. A Re-



- view on the Wettability of Dental Implant Surfaces II: Biological and Clinical Aspects[J]. *Acta Biomaterialia*, 2014, 10(7): 2907—2918.
- [15] SHALABI M M, GORTEMAYER A, VAN'T HOF M A, et al. Implant Surface Roughness and Bone Healing: A Systematic Review[J]. *Journal of Dental Research*, 2006, 85(6): 496—500.
- [16] ELLINGSEN J E, JOHANSSON C B, WENNERBERG A, et al. Improved Retention and Bone-to-implant Contact with Fluoride-Modified Titanium Implants[J]. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 2004, 19(5): 659—666.
- [17] YE X, ZION T H, TANG G, et al. The Effect of Electropulsing Induced Gradient Topographic Oxide Coating of Ti-Al-V Alloy Strips on the Fibroblast Adhesion and Growth[J]. *Surface and Coatings Technology*, 2015, 261(15): 213—218.
- [18] HAVLIKOVÁ J, STRASKY J, VANDROVCOVA M, et al. Innovative Surface Modification of Ti-6Al-4V Alloy with a Positive Effect on Osteoblast Proliferation and Fatigue Performance[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2014, 39(1): 371—379.
- [19] GILJEAN S, BIGERELLE M, ANSELME K. Roughness Statistical Influence on Cell Adhesion Using Profilometry and Multiscale Analysis[J]. *Scanning*, 2014, 36(1): 2—10.
- [20] 鲁雄, 冯波, 翁杰, 等. 生物材料表面微纳结构对成骨相关细胞的影响[J]. *中国材料进展*, 2013, 32(10): 611—622.
- LU Xiong, FENG Bo, WENG Jie, et al. The Effects of Micro- and Nano-Structured Biomaterial Surface on Osteogenic-related Cells[J]. *Materials China*, 2013, 32(10): 611—622.
- [21] HUANG H H, HO C T, LEE T H, et al. Effect of Surface Roughness of Ground Titanium on Initial Cell Adhesion[J]. *Biomolecular Engineering*, 2004, 21(3): 93—97.
- [22] KAPANEN A, DANILOV A, LEHENKARI P, et al. Effect of Metal Alloy Surface Stresses on the Viability of ROS-17/2.8 Osteoblastic Cells[J]. *Biomaterials*, 2002, 23(17): 3733—3740.
- [23] MUSTAFA K, WROBLEWSKI J, HULTENBY K, et al. Effects of Titanium Surface Blasted with TiO<sub>2</sub> Particles on the Initial of Cells Derived from Human Mandibular Bone[J]. *Clinical Oral Implants Research*, 2001, 11(2): 116—128.
- [24] 梁迎春, 宋代平, 陈明君, 等. 钛系生物医用材料表面粗糙度影响细胞粘附的新进展[J]. *机械工程学报*, 2008, 44(7): 6—15.
- LIANG Ying-chun, SONG Dai-ping, CHEN Ming-jun, et al. New Development on Effect of Surface Roughness of Ti-material for Biomedical Applications on Cell Adhesion[J]. *Chinese Journal of Mechanical Engineering*, 2008, 44(7): 6—15.
- [25] 李德华, 刘宝林, 徐可为. 改良喷砂表面处理对钛表面理化性能的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2001, 26(1): 21—23.
- LI De-hua, LIU Bao-lin, XU Ke-wei. The Effects of Modified Sandblasting Surface Treatment on the Physicochemical Characteristics of Titanium Surface[J]. *Medical Journal of Chinese People's Liberation Army*, 2001, 26(1): 21—23.
- [26] CHEN J, MWENIFUMBO S, LANGHAMMER C, et al. Cell/Surface Interactions and Adhesion on Ti-6Al-4V: Effects of Surface Texture[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2007, 82(2): 360—373.
- [27] BRUNETTE D M. Fibroblasts on Micromachined Substrata Orient Hierarchically to Grooves of Different Dimensions[J]. *Experimental Cell Research*, 1986, 164(1): 11—26.
- [28] PAN C J, QIN H, NIE Y D, et al. Control of Osteoblast Cells Adhesion and Spreading by Microcontact Printing of Extracellular Matrix Protein Patterns[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, 104: 18—26.
- [29] LI D, LU X, LIN H, et al. Chitosan/Bovine Serum Albumin Co-micropatterns on Functionalized Titanium Surfaces and Their Effects on Osteoblasts[J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2013, 24(2): 489—502.
- [30] CLARK P, CONNOLLY P, CURTIS A S. Cell Guidance by Ultrafine Topograph in Vitro[J]. *Journal of Cell Science*, 1991, 99(1): 73—77.
- [31] LU X, LENG Y, ZHANG X D, et al. Comparative Study of Osteoconduction on Micromachined and Alkali-treated Titanium Alloy Surfaces in Vitro and in Vivo[J]. *Biomaterials*, 2005, 26(14): 1793—1081.
- [32] LU X, LENG Y. Electrochemical Micromachining of Titanium Surfaces for Biomedical Applications[J]. *Journal of Materials Processing Technology*, 2005, 169(2): 173—178.
- [33] FILIZ S, XIE L, WEISS L E, et al. Micromilling of Microbarbs for Medical Implants[J]. *International Journal of Machine Tools and Manufacture*, 2008, 48(3): 459—472.
- [34] IEZZI G, APRILE G, TRIPODI D, et al. Implant Surface Topographies Analyzed Using Fractal Dimension[J]. *Implant Dentistry*, 2011, 20(2): 131—138.
- [35] COELHO P G, CARDAROPOLI G, SUZUKI M, et al. Early Healing of Nanothickness Bioceramic Coatings on Dental Implants. An Experimental Study in Dogs[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2009, 88(2): 387—393.
- [36] HANSSON S, NORTON M. The Relation between Surface Roughness and Interfacial Shear Strength for Bone-anchored Implants. A Mathematical Model[J]. *Journal of Biomechanics*, 1999, 32(8): 829—836.
- [37] DAVIES J E. Understanding Peri-implant Endosseous Healing[J]. *Journal of Dental Education*, 2003, 67(8): 932—949.
- [38] PULEO D A, NANCE A. Understanding and Controlling the Bone-implant Interface[J]. *Biomaterials*, 1999, 20(23): 2311—2321.
- [39] SCHNEIDER G B, PERINPANAYAGAM M, et al. Implant Surface Roughness Affects Osteoblast Gene Expression[J]. *Journal of Dental Research*, 2003, 82(5): 372—376.
- [40] VARIOLA F, YI J H, RICHERT L, et al. Tailoring the Surface Properties of Ti6Al4V by Controlled Chemical Oxidation[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(10): 1285—1298.
- [41] WU J M, HUANG B, WANG M, et al. Titania Nanoflowers with High Photocatalytic Activity[J]. *Journal of the American Ceramic Society*, 2006, 89(8): 2660—2663.
- [42] WU S, LIU X, HU T, et al. A Biomimetic Hierarchical Scaffold: Natural Growth of Nanotitanates on Three-dimensional

- Microporous Ti-based Metals[J]. *Nano Letters*, 2008, 8(11): 3803—3808.
- [43] PARK J, BAUER S, VON DER MARK K, et al. Nanosize and Vitality: TiO<sub>2</sub> Nanotube Diameter Directs Cell Fate[J]. *Nano Letters*, 2007, 7(6): 1686—1691.
- [44] SJÖSTRÖM T, DALBY M J, HART A, et al. Fabrication of Pillar-like Titania Nanostructures on Titanium and Their Interactions with Human Skeletal Stem Cells[J]. *Acta Biomaterialia*, 2009, 5(5): 1433—1441.
- [45] GONG D, GRIMES C A, VARGHESE O K, et al. Titanium Oxide Nanotube Arrays Prepared by Anodic Oxidation[J]. *Journal of Materials Research*, 2001, 16(12): 3331—3334.
- [46] MASUDA H, FUKUDA K. Ordered Metal Nanohole Arrays Made by a Two-step Replication of Honeycomb Structures of Anodic Alumina[J]. *Science*, 1995, 268 (5216): 1466—1468.
- [47] LI H Y, LIU M, WANG H, et al. Formation Process of TiO<sub>2</sub> Nanotube Arrays Prepared by Anodic Oxidation Method[J]. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2013, 13(6): 4110—4116.
- [48] HAN Y, CHEN D, SUN J, et al. UV-enhanced Bioactivity and Cell Response of Micro-arc Oxidized Titania Coatings[J]. *Acta Biomaterialia*, 2008, 4(5): 1518—1529.
- [49] WANG Y M, JIANG B L, LEI T Q, et al. Microarc Oxidation Coatings Formed on Ti6Al4V in Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> System Solution: Microstructure, Mechanical and Tribological Properties[J]. *Surface and Coatings Technology*, 2006, 201(1/2): 82—89.
- [50] ADVINCULA M C, RAHEMTULLA F G, AADVINCULA R C, et al. Osteoblast Adhesion and Matrix Mineralization on Sol-gel-derived Titanium Oxide[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(10): 2201—2212.
- [51] HE G, HU J, WEI S C, et al. Surface Modification of Titanium by Nano-TiO<sub>2</sub>/HA Bioceramic Coating[J]. *Applied Surface Science*, 2008, 255(2): 442—445.
- [52] PARETA R, YANG L, KOTHARI A, et al. Tailoring Nanocrystalline Diamond Coated on Titanium for Osteoblast Adhesion[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2010, 95A(1): 129—136.
- [53] TANG L, TSAI C, GERBERICH W W, et al. Biocompatibility of Chemical-vapour-deposited Diamond[J]. *Biomaterials*, 1995, 16(6): 483—488.
- [54] ASIAH M N, MAMAT M H, KHUSAIMI Z, et al. Thermal Stability and Phase Transformation of TiO<sub>2</sub> Nanowires at Various Temperatures[J]. *Microelectronic Engineering*, 2013, 108: 134—137.
- [55] CHEN F, LAM W M, LIN C J, et al. Biocompatibility of Electrophoretic Deposition of Nanostructured Hydroxyapatite Coating on Roughen Titanium Surface: In Vitro Evaluation Using Mesenchymal Stem Cells[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2007, 82(1): 183—191.
- [56] LIN C, HAN H, ZHANG F, et al. Electrophoretic Deposition of HA/MWNTs Composite Coating for Biomaterial Applications[J]. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2008, 19(7): 2569—2574.
- [57] LIU X Y, ZHAO X B, FU R K Y, et al. Plasma-treated Nanostructured TiO<sub>2</sub> Surface Supporting Biomimetic Growth of Apatite[J]. *Biomaterials*, 2005, 26(31): 6143—6150.
- [58] MATTOX D M. *Handbook of Physical Vapor Deposition (PVD) Processing*[M]. New Jersey: Noyes Publications, 1998.
- [59] HÄMMERLE C H F, SCHMID J, OLAH A J, et al. Influence of Initial Implant Mobility on the Integration of Titanium Implants. An Experimental Study in Rabbits[J]. *Clinical Oral Implants Research*, 1996, 7(2): 120—127.
- [60] 马宗敏, 谢艳娜, 石云波, 等. TiO<sub>2</sub> 纳米管的阳极氧化制备及改性应用研究综述[J]. *表面技术*, 2015, 44(9): 66—71.
- MA Zong-min, XIE Yan-na, SHI Yun-bo, et al. Review on Applied Research of Anodic Preparation and Modification of TiO<sub>2</sub> Nanotubes[J]. *Surface Technology*, 2015, 44(9): 66—71.
- [61] 马臣, 王颖慧, 曲立杰, 等. 钛合金微弧氧化技术的研究现状及展望[J]. *中国陶瓷工业*, 2007, 14(1): 46—49.
- MA Chen, WANG Ying-hui, QU Li-jie, et al. The Recent Research Status and Prospect of Micro-arc Oxidation Technique on Titanium Alloy[J]. *China Ceramic Industry*, 2007, 14(1): 46—49.
- [62] 谭思民, 王帅星, 赵晴, 等. 水热时间对钛合金微弧氧化膜合成羟基磷灰石的影响[J]. *表面技术*, 2014, 43(3): 20—24.
- TAN Si-min, WANG Shuai-xing, ZHAO Qing, et al. Effects of Hydrothermal Time on Hydroxyapatite Synthesis of Microarc Oxidized Titanium[J]. *Surface Technology*, 2014, 43(3): 20—24.
- [63] 黄立业, 徐可为. 纳米针状羟基磷灰石涂层的制备及其性能的研究[J]. *硅酸盐学报*, 1999, 27(3): 351—356.
- HUANG Li-ye, XU Ke-wei. Study on Preparation and Properties of Nano-needle-like Hydroxyapatite Coating[J]. *Journal of the Chinese Ceramic Society*, 1999, 27(3): 351—356.
- [64] 毛大力, 曹海平, 常程康, 等. 羟基磷灰石涂层的骨结合行为[J]. *上海交通大学学报*, 2003, 37(2): 264—268.
- MAO Da-li, CAO Hai-ping, CHANG Cheng-kang, et al. Investigation on the Bonding Behavior of Hydroxyapatite Coating to Hard Tissue[J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University*, 2003, 37(2): 264—268.
- [65] 王昌祥, 陈治清. 离子束辅助沉积技术制备 HA/Ti 植入材料的设计[J]. *生物医学工程学杂志*, 1999, 16(2): 140—142.
- WANG Chang-xiang, CHEN Zhi-qing. Design of HA/Ti Biomedical Implants with the Use of Ion-beam-assisted Deposition[J]. *Journal of Biomedical Engineering*, 1996, 16(2): 140—142.
- [66] 王少鹏, 李争显, 杜继红. 钛合金表面等离子喷涂涂层材料的研究进展[J]. *表面技术*, 2013, 42(5): 93—97.
- WANG Shao-peng, LI Zheng-xian, DU Ji-hong. Research Progress in Plasma Spray Coating Materials on the Titanium Alloy Substrates[J]. *Surface Technology*, 2013, 42(5): 93—97.
- [67] FAGHIHI S, AZARI F, ZHILYAEV A P, et al. Cellular and Molecular Interactions between MC3T3-E1 Pre-osteoblasts and Nanostructured Titanium Produced by High-pressure Torsion[J]. *Biomaterials*, 2007, 28(27): 3887—3895.
- [68] LA P Q, MA J Q, ZHU Y T, et al. Dry-sliding Tribological Properties of Ultrafine-grained Ti Prepared by Severe Plastic Deformation[J]. *Acta materialia*, 2005, 53(19): 5167—5173.
- [69] WEBSTER T J, EJIOFOR J U. Increased Osteoblast Ad-

- hesion on Nanophase Metals: Ti, Ti6Al4V, and CoCrMo [J]. *Biomaterials*, 2004, 25(19): 4731—4739.
- [70] 来敏. 钛材表面纳米结构化及其对骨髓间充质干细胞的影响[D]. 重庆: 重庆大学, 2013.  
LAI Min. Surface Nanostructuring of Titanium Materials and Its Effect on Mesenchymal Stem Cells[D]. Chongqing: Chongqing Univeristy, 2013.
- [71] LIM J Y, HANSEN J C, SIEDLECKI C A, et al. Human Foetal Osteoblastic Cell Response to Polymer-demixed Nanotopographic Interfaces[J]. *Journal of the Royal Society Interface*, 2005, 2(2): 97—108.
- [72] CAVALCANTI-ADAM E A, VOLBERG T, MICOULET A, et al. Cell Spreading and Focal Adhesion Dynamics are Regulated by Spacing of Integrin Ligands[J]. *Biophysical Journal*, 2007, 92(8): 2964—2974.
- [73] ISA Z M, SCHNEIDER G B, ZAHARIAS R, et al. Effects of Fluoride-modified Titanium Surfaces on Osteoblast Proliferation and Gene Expression[J]. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 2005, 21(2): 203—211.
- [74] GUO J, PADILLA R J, AMBROSE W, et al. Modification of TiO<sub>2</sub> Grit Blasted Titanium Implants by Hydrofluoric Acid Treatment Alters Adherent Osteoblast Gene Expression in Vitro and in Vivo[J]. *Biomaterials*, 2007, 28: 5418—5425.
- [75] PARK J H, WASILEWSKI C E, ALMODOVAR N, et al. The Responses to Surface Wettability Gradients Induced by Chitosan Nanofilms on Microtextured Titanium Mediated by Specific Integrin Receptors[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(30): 7386—7393.
- [76] BAUER S, PARK J, FALTENBACHER J, et al. Size Selective Behavior of Mesenchymal Stem Cells on ZrO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub> Nanotube Arrays[J]. *Integrative Biology*, 2009, 1(8/9): 525—532.
- [77] OH S, BRAMMER K S, LI Y S J, et al. Stem Cell Fate Dictated Solely by Altered Nanotube Dimension[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106(7): 2130—2135.
- [78] 王薇. 种植体微纳米形貌对成骨细胞行为影响的分子机制研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2013.  
WANG Wei. The Mechanisms of Implant Micro/Nano-textured Topography Effects on Osteoblasts Behaviors[D]. Xi'an: The Fourth Military Medical University, 2013.
- [79] HYZY S L, OLIVARES-NAVARRETE R, HUTTON D L, et al. Microstructured Titanium Regulates Interleukin Production by Osteoblasts, an Effect Modulated by Exogenous BMP-2[J]. *Acta Biomater*, 2013, 9(3): 5821—5829.
- [80] MENDONCA G, MENDONCA D B S, ARGAO F J L, et al. Advancing Dental Implant Surface Technology—From Micron- to Nanotopography[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(28): 3822—3835.
- [81] STEVENS M M, GEORGE J H. Exploring and Engineering the Cell Surface Interface[J]. *Science*, 2005, 310(5751): 1135—1138.
- [82] MEIRELLES L, ARVIDSSON A, ANDERSSON M, et al. Nano Size Structures for Enhanced Early Bone Formation[J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2008, 82A(7): 299—307.
- [83] ZHAO L, MEI S, CHU P K, et al. The Influence of Hierarchical Hybrid Micro/Nano Textured Titanium Surface with Titanium Nanotubes on Osteoblast Functions[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(19): 5072—5082.
- [84] 王丽华, 牛强, 黄宏宇, 等. 基于 HF 酸蚀+阳极氧化处理的  $\mu\text{m}/\text{nm}$  表面对种植体早期骨整合的影响[J]. *口腔医学研究*, 2012, 12(28): 1211—1213.  
WANG Li-hua, NIU Qiang, HUANG Hong-yu, et al. Effects of Micro/Nanorough-surface Implants by Hydrofluoric Acid Etching and Anodizing on Early Osseointegration[J]. *Journal of Oral Science Research*, 2012, 12(28): 1211—1213.
- [85] GAO L, FEN B, WANG J X, et al. Micro/Nanostructural Porous Surface on Titanium and Bioactivity[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2009, 89(2): 335—341.
- [86] 李永锋, 高媛, 肖剑锐, 等. 微/纳米表面对骨质疏松下种植体骨结合的影响[J]. *口腔医学*, 2012, 32(1): 1—4.  
LI Yong-feng, GAO Yuan, XIAO Jian-rui, et al. Effects of Micro/Nano-surface on Osseointegration in Ovariectomized Rats: A Longitudinal in Vivo Microcomputed Tomography Evaluation[J]. *Stomatology*, 2012, 32(1): 1—4.
- [87] SZESZ E M, PEREIRA B L, KUROMOTO N K, et al. Electrochemical and Morphological Analyses on the Titanium Surface Modified by Shot Blasting and Anodic Oxidation Processes[J]. *Thin Solid Films*, 2013, 528: 163—166.
- [88] 王世振, 孟维艳, 矫国田, 等. 电解蚀刻法处理的钛及钛合金表面的对比研究[J]. *华西口腔医学杂志*, 2014, 32(6): 596—600.  
WANG Shi-zhen, MENG Wei-yan, JIAO Guo-tian, et al. Comparative Study of the Titanium and Titanium Alloy Implant Electrolytic Etching Surface[J]. *West China Journal of Stomatology*, 2014, 32(6): 596—600.
- [89] 张艳靖. 微米-纳米钛合金表面对成骨细胞生物学行为的影响[D]. 长春: 吉林大学, 2012.  
ZHANG Yan-jing. Effect of the Micro-nano Surface of Titanium Alloy on Biological Behavior of Osteoblasts[D]. Changchun: Jilin University, 2012.
- [90] YAN Y D, GENG Y Q, HU Z J. Recent Advances in AFM Tip-based Nanomechanical Machining[J]. *International Journal of Machine Tools & Manufacture*, 2015, 99: 1—18.
- [91] WANG W, ZHAO L, MA Q, et al. The Role of the Wnt/ $\beta$ -catenin Pathway in the Effect of Implant Topography on MG63 Differentiation[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(32): 7993—8002.
- [92] WANG W, ZHAO L, WU K, et al. The Role of Integrin-linked Kinase/ $\beta$ -catenin Pathway in the Enhanced MG63 Differentiation by Micro/Nano-textured Topography[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(3): 631—640.
- [93] ZHAO L, MEI S, CHU P K, et al. The Influence of Hierarchical Hybrid Micro/Nano-textured Titanium Surface with Titanium Nanotubes on Osteoblast Functions[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(19): 5072—5082.
- [94] 门博. 钛合金表面微纳结构设计制造及其生物活性研究[D]. 济南: 山东大学, 2015.  
MEN Bo. Design and Manufacture of Micro-Nano-structured Titanium Alloy Surface and Its Bioactivity[D]. Jinan: Shandong University, 2015.