

专题——生物材料表面处理技术

钛及钛合金表面纳米管的生物功能化研究进展

吴琰^{a,b}, 赵昱颀^{a,b}, 李岩^{a,b}

(北京航空航天大学 a.材料科学与工程学院 b.生物医学工程高精尖创新中心, 北京 100191)

摘要: 钛及钛合金因为其良好的生物相容性和力学性能, 作为生物医用材料得到广泛使用。通过表面处理后, 可以在钛金属基体表面获得氧化钛纳米管阵列。氧化钛纳米管阵列的管径和长度尺寸可控, 通常具有大表面积、强吸附性和超亲水性, 可以提高钛及钛合金基体的生物相容性和耐腐蚀性能, 为进一步赋予其更多的生物功能性奠定了基础。对钛及钛合金表面纳米管再次表面改性后, 可使其具有更好的促进骨整合、抗菌消炎、药物响应可控释放、生物荧光成像等功能, 在生物医学领域应用潜力巨大。介绍了钛及钛合金表面纳米管的制备方法, 分析了氧化钛纳米管阵列的生物学特性, 探讨了纳米管的物理特征对细胞行为的影响, 对二次表面改性(包括碱处理、水热处理、电化学沉积、溶胶-凝胶法)影响氧化钛纳米管生物功能性的研究进展进行了综合评述, 总结了氧化钛纳米管作为药物载体在药物缓释、响应性释放和疾病检测等生物功能化方面的进展情况, 提出了对氧化钛纳米管生物功能化研究的一些问题, 并展望了其未来发展方向。

关键词: 钛及钛合金; 纳米管; 生物功能化; 生物相容性; 表面改性; 药物载体

中图分类号: TG146.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3660(2020)07-0001-08

DOI: 10.16490/j.cnki.issn.1001-3660.2020.07.001

Research Progress on the Biofunctionalization of Nanotubes on Titanium and Titanium Alloys

WU Yan^{a,b}, ZHAO Yu-jie^{a,b}, LI Yan^{a,b}

(a.School of Material Science and Engineering, b.Beijing Advanced Innovation Center for Biomedical Engineering, Beijing University of Aeronautics and Astronautics, Beijing 100191, China)

ABSTRACT: Titanium and titanium alloys are widely used as biomedical materials due to good biocompatibility and mechanical properties. After surface treatment, titanium dioxide nanotubes array can be obtained on the surface of titanium and titanium alloys. The diameter and length of the titanium oxide nanotubes array are controllable and nanotubes usually have a large surface area, strong adsorption and super hydrophilicity, which can improve biocompatibility and corrosion resistance of titanium and titanium alloys and lay the foundation for conversion of more biological functions. After one more time of surface

收稿日期: 2020-05-30; 修订日期: 2020-07-07

Received: 2020-05-30; Revised: 2020-07-07

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1106600); 国家自然科学基金(51771011)

Fund: Supported by the National Key R&D Program of China (2018YFC1106600) and the National Natural Science Foundation of China (51771011)

作者简介: 吴琰(1994—), 女, 博士研究生, 主要研究方向为生物材料。

Biography: WU Yan (1994—), Female, Doctor, Research focus: biomedical materials.

通讯作者: 李岩(1973—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为生物医用材料和金属智能材料。邮箱: liyan@buaa.edu.cn

Corresponding author: LI Yan (1973—), Male, Doctor, Professor, Research focus: biomedical materials and metal smart materials. E-mail: liyan@buaa.edu.cn

引文格式: 吴琰, 赵昱颀, 李岩. 钛及钛合金表面纳米管的生物功能化研究进展[J]. 表面技术, 2020, 49(7): 1-8.

WU Yan, ZHAO Yu-jie, LI Yan. Research progress on the biofunctionalization of nanotubes on titanium and titanium alloys[J]. Surface technology, 2020, 49(7): 1-8.

modification, the titanium and titanium alloy nanotubes can have better osseointegration, antibacterial and anti-inflammatory functions, drug-stimulated responsive release, biofluorescence imaging, etc., showing great potential in biomedical applications. The preparation method of nanotubes on the surface of titanium and titanium alloy was introduced, the biological characteristics of titanium oxide nanotubes on the surface of titanium and titanium alloys were analyzed, the effects of the physical characteristics of nanotubes on the cell behavior were discussed, the research progress of secondary surface modification technologies (including base treatment, hydrothermal treatment, electrochemical deposition, and sol-gel method) affecting the biological functions of titanium oxide nanotubes was reviewed, the research on biological functions of titanium oxide nanotubes as drug carriers in drug sustained release, responsive release, and disease detection was summarized, some questions about the biological functionalization of titanium oxide nanotubes were proposed, and the future development direction was prospected.

KEY WORDS: titanium and titanium alloys; nanotubes; biofunctionalization; biocompatibility; surface modification; drug carriers

近年来,现代医学、生命科学、生物学与材料科学等多学科交叉发展、相互渗透,对生物医用材料的进步起到了很大的促进作用。钛及钛合金具有优良的综合力学性能、良好的耐腐蚀性能和生物相容性,已经用于制备人工关节、骨修复材料、牙科种植体等硬组织修复器械^[1-4]。但是随着植入器械的广泛临床应用,钛和钛合金的局限性也逐渐展现,例如缺乏生物活性、含有的 Al 和 V 合金元素具有生物毒性、耐摩擦性能不足、弹性模量过高等^[5-6]。通过对钛及钛合金表面改性,可以改善其力学性能和功能特性。采用阳极氧化等方法可以在钛及钛合金表面生成氧化钛纳米管(TiO_2NTs), TiO_2NTs 表面通常具有超亲水性,有利于细胞粘附、分化、增殖等细胞活动^[7],还具有大的表面积和强的吸附能力,有利于金属离子、免疫蛋白、抗菌剂和药物的吸附和负载^[8]。另外,对 TiO_2NTs 表面进行二次表面改性后,可以赋予其更多的生物学功能^[9-10]。

本文介绍了在钛及钛合金表面制备 TiO_2NTs 阵列的方法,总结了 TiO_2NTs 的物理特征对于细胞行为的影响,重点评述了对 TiO_2NTs 表面进行再次表面改性的研究进展,以及 TiO_2NTs 作为药物载体在药物缓释、响应性释放和疾病检测等方面的研究情况。

1 钛及钛合金表面纳米管的制备与结构调控

TiO_2NTs 的制备方法主要包括水热法、模板法和阳极氧化法。水热法是在高温高压下将氧化钛纳米粒子与强碱溶液混合,然后经过反复酸洗、水洗得到 TiO_2NTs 的方法。这种方法反应时间较长,制备的 TiO_2NTs 管径、管长不均匀且难以控制^[11]。模板法是将纳米 TiO_2 装载到模板中,经过物理或化学方法根据模板生成管状结构,再除去模板,最终得到的 TiO_2NTs 形貌可控,分布均匀,但是工艺比较复杂,且小尺寸 TiO_2NTs 制备难度较大^[12]。阳极氧化法制备纳米管的主要过程是将钛及钛合金片浸没在电解质

溶液中,通过氧化还原反应,在阳极的钛及钛合金表面生成 TiO_2NTs 。这种方法对纳米管形貌的可控性强、操作简单、成本低,是目前制备二氧化钛纳米管阵列最常用的方法^[13]。

阳极氧化法制备的 TiO_2NTs 可以通过改变电解质溶液、电压和反应时间等因素来调控 TiO_2NTs 形貌。电解液主要包括 NH_4F /乙二醇(EG)、 NH_4F /丙三醇、 HF /二甲基亚砷(DMSO)等含氟溶液。由于丙三醇比乙二醇的黏度大,所以离子扩散速度较低,使得纳米管的生成速率较低。而 DMSO 的黏度远低于 EG,所以生成的 TiO_2NTs 较分散^[14-15]。 TiO_2NTs 分布与电解液中的水含量有关,随着水含量的减少, TiO_2NTs 的分布越来越紧密,也就是在管径不变的情况下,单位面积内的纳米管数量增多,且高水含量还会使 TiO_2NTs 的管径增大^[16-17]。根据电解液的不同,电压可在一定范围内(如 10~30 V)改变,一般来说, TiO_2NTs 的管径随着电压的增加而增大,但是电压过高会造成 TiO_2NTs 断裂,过低则会导致 TiO_2NTs 形貌不规则^[18]。

2 钛及钛合金表面纳米管的生物相容性

在钛及钛合金金属基体上垂直生成的 TiO_2NTs 阵列的成分主要是 TiO_2 ,可有效提高钛及钛合金的生物相容性和耐腐蚀性^[19]。 TiO_2NTs 的生物相容性与表面粗糙度、负电荷、表面润湿性和表面自由能等特性有关,而表面粗糙度、润湿性、表面自由能和负电荷等特性受到晶体类型和表面形貌的直接影响^[20-22]。

2.1 纳米管晶型的影响

钛及钛合金表面 TiO_2NTs 结构分为非晶态、金红石相和锐钛矿型三种晶型。常温生成的 TiO_2NTs 一般是非晶态,经过热处理后,其晶型结构从非晶态转为金红石相或锐钛矿型^[23]。热处理后,晶型的改变会使 TiO_2NTs 在体液中的耐腐蚀性能增强,有效控制金属

离子的游离,减少金属离子的毒副作用,延长植入体的使用时间,提高了钛及钛合金表面的生物相容性^[24]。羟基磷灰石(HA)是生命体骨骼和牙齿主要的无机成分,也是骨骼和牙齿的诱导因子,有骨修复、牙齿美白和防龋齿等作用^[25-26]。在模拟体液中,由非晶态转成锐钛矿或锐钛矿与金红石的混合物的 TiO_2NTs 比非晶态的纳米管,能够更有效地促进 HA 在其表面生成,这是由于锐钛矿相上 HA 的成核可能性更高,两相之间的结晶匹配度更高^[27-28]。

2.2 纳米管形貌的影响

TiO_2NTs 的形貌包括纳米管管径、管长、管壁厚度、纳米管分布状态等,可以影响其表面粗糙度、表面自由能、润湿性、负电荷等物理特性,进而影响其生物相容性。研究表明,高度有序的 TiO_2NTs 阵列会对细胞接触点产生导向作用,为骨细胞的排列、伸展和迁移提供助力,促进骨整合。在 TiO_2NTs 表面,骨细胞的碱性磷酸酶(ALP)活性和钙沉积能力更好,所以 TiO_2NTs 表面提高了植入物与周围组织的融合稳定性,比金属基体表面更利于植入体的骨组织修复^[29-30]。 TiO_2NTs 管径是对细胞行为影响最大的形貌因素,例如 15 nm 管径的纳米管有利于干细胞分化,30 nm 管径的纳米管最利于干细胞粘附,70~100 nm 管径的纳米管有利于细胞伸长,管径大于 120 nm 的纳米管的粘附能力下降,甚至诱导干细胞凋亡^[30]。 TiO_2NTs 表面纳米级孔径会增大其表面纳米级粗糙度,适当的表面粗糙度可促进细胞活性,例如上调成骨细胞的基因表达水平,促进成骨细胞分化^[31]。 TiO_2NTs 的纳米级形貌也增大了其表面自由能,从而改善了纤连蛋白、玻连蛋白等基质蛋白的粘附力,这类蛋白不仅是骨再生所需的重要物质,而且还可刺激细胞的迁移和增殖,为骨整合提供重要条件^[32-33]。 TiO_2NTs 表面呈负电荷,管壁边缘负电荷密度较高,使得纳米管边缘处更利于骨细胞粘附,所以在一定范围内,单位面积内的纳米管管径越小,负电荷分布越密集,更有利于细胞的早期粘附^[34]。 TiO_2NTs 管长对于细胞行为没有明显的影响,但是有研究表明管长会影响 HA 的初始沉积速率,2 μm 管长的纳米管相较于 500 nm 管长的纳米管可以更快地诱发 HA 沉积^[35]。

一般来说, TiO_2NTs 表面可以为骨细胞的粘附和生长提供有利条件,成骨细胞在 TiO_2NTs 表面显示出高的附着力、增殖活性、ALP 活性和骨基质沉积特性。 TiO_2NTs 不易引起单核细胞的慢性炎症或纤维化反应^[36]。值得注意的是,不同种类细胞在 TiO_2NTs 表面的行为可能有较大差异。Peng 等^[37]在长度为 1 μm 、平均孔径为 30 nm 的 TiO_2NTs 表面分别培养牛主动脉内皮细胞(BAEC)和小鼠血管平滑肌细胞(MOVAS),发现细长形的 BAEC 细胞易于增殖和产生细胞外基质,同时具有更高的迁移速度;而 MOVAS 的细胞形态则是圆润和聚集的,其粘附和生长受到限制。血管

内皮可合成和释放多种内皮衍生的血管活性因子,还起到屏障保护和血管修复等多重作用, TiO_2NTs 有利于血管内皮细胞的生长和迁移,从而促进合金植入物表面内皮化,使伤口的愈合速率加快^[38]。

3 钛及钛合金表面纳米管的二次表面改性对生物功能化的作用

3.1 碱处理

碱处理表面改性是将已在表面生成纳米管的钛和钛合金浸泡在碱性溶液中,使 TiO_2NTs 表面和氢氧化钠(NaOH)反应生成带负电的 $\text{HTiO}^{3-}\cdot n\text{H}_2\text{O}$, $\text{HTiO}^{3-}\cdot n\text{H}_2\text{O}$ 和 Na^+ 结合后在纳米管表面可形成钛酸钠水凝胶层,通过离子交换改变 TiO_2NTs 的表面特性^[39]。田甜等^[39]研究发现经过碱处理的 TiO_2NTs 再经过 500 $^\circ\text{C}$ 热处理后, TiO_2NTs 表面形成稳定的钛酸钠膜,将负载有钛酸钠膜的纳米管阵列在模拟体液中浸润发现,纳米管表面的 Na^+ 与模拟体液中的 H^+ 进行交换,最终在纳米管表面形成 Ti-OH ,并诱导磷灰石成核。另外,碱处理后 TiO_2NTs 上带负电的 HTiO^{3-} 会吸引模拟体液中带正电的 Ca^{2+} ,也会通过氢键吸引 PO_4^{3-} ,最终在纳米管表面沉积磷酸钙盐,从而提高了生物相容性^[40]。Oh 等^[41]研究发现,将 TiO_2NTs 浸泡在 NaOH 溶液中,不仅改善了纳米管表面的生物活性,还在其顶部生成了细微的纳米纤维状的钛酸钠化合物,这种生物活性表面层可以显著提高成骨细胞的粘附性,促进材料表面磷酸钙盐的成核和生长,为细胞外基质蛋白的合成和矿物质沉积物的形成提供了条件。

3.2 水热法

钛及钛合金表面纳米管的水热处理是以水为溶剂,在水沸点和超临界点温度(100~374 $^\circ\text{C}$)之间,且压强为 0.1~22 MPa 下发生的化学反应。其目的是使 TiO_2NTs 表面负载镁、锌、铜、锰、银、铈等元素,其中镁、锌、铜、锰等微量元素有利于骨胶原的生成,适量的银、锌、铈等金属元素具有抗菌作用^[42-44]。Cheng 等^[45]将 TiO_2NTs 在 0.1 mol/L 醋酸锌中进行 200 $^\circ\text{C}$ 水热处理,以生成掺入 Zn 元素的钛纳米管,水热处理 3 h 后,沿纳米管的方向都会掺入 Zn,改变纳米管直径和水热处理时间都会改变掺入的 Zn 含量,含 Zn 的 TiO_2NTs 表面具有优异的生物相容性和长期抗菌双重特性。李莺等人^[46]也利用水热法在 TiO_2NTs 表面负载锌离子,载锌纳米管表面的钛种植体相比纯钛种植体具有更好的骨结合性能,促进了新骨形成和增加骨质密度。Zn 不仅是人体骨骼重要的微量元素,在 DNA 合成、核酸代谢、酶活性、生物矿化等生物学功能中发挥着重要作用,还可以抑制金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的增殖,所以兼具生物相容

性和抗菌活性,含锌纳米管表面改性钛及钛合金在骨科和牙科植入物领域具有广阔的应用前景^[47]。韩天啸等^[48]采用 0.02 mol/L 氢氧化锶溶液和 TiO₂NTs 在 200 °C 下水热反应 1 h 后,可生成含锶的 TiO₂NTs。这种纳米管可持续释放锶元素长达一个月,表面有利于大鼠骨髓干细胞(bMSC)的粘附、增殖和分化,也有利于 bMSC 被诱导分化为成骨细胞,具有上调成骨细胞的成骨分化能力。

3.3 电化学沉积

电化学沉积是指在外电场的作用下,电流通过电解质溶液中正负离子的迁移并在电极上发生得失电子的氧化还原反应而形成镀层的技术^[49]。Kakoli 等^[49]采用电化学沉积方法(0.01 mol/L 硝酸银溶液+5 V 电压+2 min)在 TiO₂NTs 上沉积了 Ag⁺,负载 Ag⁺的 TiO₂NTs 对铜绿假单胞菌菌落的生长具有超过 99% 的抗菌活性。王月勤等^[50]以硝酸钙(Ca(NO₃)₂·4H₂O)和磷酸铵((NH₄)₂HPO₄)为电解液溶液,在室温、电压为 3 V、pH 为 4.5 的条件下,在 TiO₂NTs 上沉积获得了分布均匀的纳米级 HA。Kar 等^[51]以含磷酸盐(以 NH₄H₂PO₄ 或 K₂HPO₄)和含钙盐(CaCl₂ 或 Ca(NO₃)₂)为电解质溶液,在 TiO₂NTs 阵列上电沉积 HA 涂层。该涂层在氩气中 600 °C 热处理 30 min 后,其结合强度为 40 MPa。在 TiO₂NTs 上电沉积 HA 涂层相比在钛及钛合金表面直接沉积 HA 涂层具有更高的结合强度。Huang 等^[52]使用电化学沉积法在 TiO₂NTs 表面制备银和锶掺杂的 HA 涂层,发现纳米管不仅有抗菌性,还可以显著加速纳米管和骨组织之间的骨整合,促进成骨细胞的增殖和分化。

3.4 溶胶-凝胶法

溶胶-凝胶法是将无机物或者金属醇盐在液相下均匀混合,经过溶液、溶胶、凝胶而固化,再经干燥和热处理,最终可获得所需的涂层^[53]。林妙阁等^[54]使用溶胶-凝胶法制备 TiO₂NTs 和介孔分子筛(MCM-41)相结合的多元药物载体材料,MCM-41 具有规则的孔道结构、不同的孔径大小分布、可调节的孔径尺

寸、较高的比表面积,可负载多种药物并可控释放,TiO₂NTs/MCM-41 复合植入体可有效提高金属基体表面的药物负载量,同时可降低 TiO₂NTs 表面的缓释速率,对于植入物术后治疗具有重要的临床价值。Samuel 等^[55]对 Ti-6Al-4V 进行阳极氧化以在表面生成 TiO₂NTs,其管长为 800~900 nm,管孔的宽度为(90±12) nm,然后用溶胶-凝胶法在 TiO₂NTs 表面生成 HA 覆膜,纯 HA 涂层的厚度为 60~90 μm,再次用溶胶-凝胶法,将锶掺入到 HA 涂层的纳米管上,最终得到含锶的 HA 涂层 TiO₂NTs。

3.5 仿生法

仿生处理是在钛及钛合金表面类比生物系统特性进行加工的方法,例如在钛及钛合金纳米管表面嫁接重组抗体、天然蛋白质分子、细胞粘附分子、生长因子等物质,从而赋予表面特定的生物学功能。骨形态发生蛋白(BMP)是一种转化生长因子-β(TGF-β)蛋白,在骨再生和修复中起着重要作用,是生命体内诱导骨再生和软骨形成的主要因子^[56]。Ganesan 等^[57]将 TiO₂NTs 表面氨基化后接上多肽,这种多肽可以转录为骨形态发生蛋白(BMP-2),体外实验证明多肽修饰后的 TiO₂NTs 成骨细胞的粘附性增加。同时,在 TiO₂NTs 表面转录生成 BMP-2 后,还具有对骨系细胞的募集和分化作用,在骨科植入物领域具有很高的潜在应用价值。Lai 等人^[58]使用多巴胺将 BMP-2 共轭在 TiO₂NTs 表面,通过 BMP-2 刺激 DNA 合成和细胞增殖,从而促进间质干细胞分化为成骨细胞,增强骨整合作用。

3.6 其他方法

除了常用的碱处理、水热法、电化学沉积法、溶胶-凝胶法方法外,还有一些表面改性方法可用于 TiO₂NTs 表面的二次表面改性,例如紫外光照射、浸泡冻干、乳液-溶剂蒸发法等,不同的表面改性方法有不同的优缺点和生物功能化作用(见表 1)。夏进阳等^[59]用阳极氧化法在钛表面制备 TiO₂NTs 后,将其放入 AgNO₃ 溶液中,经过紫外光照射得到表面掺银的

表 1 TiO₂NTs 不同表面改性方法优缺点和生物功能化作用

Tab.1 Advantages and shortcomings of different surface modification methods for TiO₂NTs and biofunctionalization

Surface treatment method	Advantages	Shortcomings	Biofunctionalization
Alkali treatment	<ul style="list-style-type: none"> •Eliminate surface stains •Activate nanotubes 	<ul style="list-style-type: none"> •Corrosive metal substrate •Destruction of nanotubes morphology 	<ul style="list-style-type: none"> •Improve surface biological activity •Ti-OH is formed on the TiO₂NTs surface to facilitate the next step of polymer modification
Hydrothermal treatment	<ul style="list-style-type: none"> •Facilitates metal ion doping 	<ul style="list-style-type: none"> •Destruction of nanotubes morphology 	<ul style="list-style-type: none"> •Load metal ions that are beneficial for bone repair and/or antibacterial
Electrochemical deposition	<ul style="list-style-type: none"> •HA deposition is more uniform •Film thickness is easy to control •Mild conditions 	<ul style="list-style-type: none"> •Choose the appropriate electrolyte solution and pH 	<ul style="list-style-type: none"> •HA deposited on the surface •Metal ion deposition

续表 1			
Surface treatment method	Advantages	Shortcomings	Biofunctionalization
Sol-gel method	•Favorable ion doping coating •Mild conditions	•The coating is not tight enough •Complex operation •The coating should not be too thick	•Prepare HA coating on its surface •Preparation of multiple drug release carriers
Bionic processing	•Good biocompatibility •Easy biofunctional design	•Modification method is complex	•Bone morphogenetic protein modification •Peptide modification
Dipping method	•Simple operation	•Weak bond strength	•Drug loading •Biofunctional polymer loading
UV irradiation	•Simple operation	•Use conditions are narrow	•Metal ion loading

TiO₂NTs, 银离子具有良好的广谱杀菌性能, 控制硝酸银溶液浓度或照射时间, 可控制纳米管表面含银量。Kodama 等^[60]将 TiO₂NTs 交替浸泡在饱和 Ca(OH)₂ 和 0.02 mol/L (NH₄)₂HPO₄ 溶液中, 多次循环浸泡并干燥后, 就可得到几微米厚的 HA 涂层的 TiO₂NTs, 这种方法成本低、操作简单。Eslami 等^[61]将聚乳酸-乙醇酸 (PLGA) 和 TiO₂NTs 混合成悬浊液, 在 37 ℃ 下旋转搅拌 10 h, 而后蒸发溶剂得到复合物支架, PLGA 经过降解之后可在支架上出现孔隙, 有利于营养物质的传输。这种 PLGA/TiO₂NTs 支架有望在骨折和骨缺损医疗中得到应用。

4 钛及钛合金表面纳米管的药物载体功能研究

钛及钛合金表面 TiO₂NTs 具有独特的中空结构, 易于负载药物, 通过调节纳米管管径、管长还可以控制药物释放速率, 达到响应性可控释放的目的, 是目前最有研究价值的新型药物载体之一。Wang 等^[62]制备了一种在 TiO₂NTs 上修饰 TiO₂ 纳米粒子的药物载体, 浸泡冻干后, 在纳米管管腔和表面吸附布洛芬止

疼抗炎药, 通过减小纳米管径, 增大 TiO₂NTs 表面积, 可以提高纳米管的吸附能力和药物持续释放的能力。Cai 等^[63]设计了一种具有温度敏感性的载药钛纳米管, 先在纳米管管腔内负载药物, 然后用 N-异丙基丙烯酰胺 (NIPAAm) 和丙烯酰胺 (AAm) 聚合物在纳米管表面形成水凝胶覆盖层, 赋予纳米管温度响应性。这种水凝胶层在低于 37 ℃ 时呈塌陷状态, 排出水分子, 方便药物在纳米管内储存, 而在植入人体以后依靠温度响应性释放药物, 提高药物利用率。Wang 等^[64]设计了一种具有 pH 响应的抗肿瘤药物释放 TiO₂NTs, 将抗癌药物阿霉素 (DOX) 物理吸附在 TiO₂NTs 上, 由于 DOX 自身的 pH 敏感性, 可以在生物体内可控释放药物, 杀死癌细胞。Jia 等^[65]研究表明, 纯的 TiO₂NTs 负载麻醉药利多卡因后释放速率较快, 而用 PLGA/TiO₂NTs 作为药物载体可使利多卡因持续释放时间延长, 从而实现较低的释放速率和更长的麻醉效果, 使患者对局部麻醉的过敏反应和副作用降至最低。综上所述, TiO₂NTs 药物负载常用的方式有物理吸附、纳米管表面官能化和管腔填充等, 根据 TiO₂NTs 表面修饰物质和所载药物的不同, 可以获得不同的治疗效果^[8,62-65], 如表 2 所示。

表 2 TiO₂NTs 负载不同药物的研究结果^[8,62-65]
Tab.2 Research results of TiO₂NTs loaded with different drugs^[8,62-65]

Types of drugs	Drug loading method	Effect
Non-water soluble anti-inflammatory drugs	Surface coating	Extended drug release time, conducive to cell migration and adhesion
Gentamicin	Low-temperature freeze-dried drug loading	Bacterial surface adhesion is reduced and beneficial to osteoblast differentiation
Ibuprofen	Freeze-dried after soaking	Control drug release and improve cell proliferation
Antibacterial peptide	Chemical bonding after surface modification	Activated antibacterial and bone conduction activity
GF (Growth factor)	Chemical bonding after surface modification	Enhance cell expression and proliferation
Lidocaine	Nanotubes lumen loading	Prolong the time of local anesthesia and reduce systemic side effects
Quercetin	Freeze-dried after soaking	Anti-inflammatory function and better osseointegration
Adriamycin(DOX)	Surface adsorption, nanotubes lumen loading	Kill tumor cells

TiO₂NTs 也可以在生物成像和疾病检测方面发挥作用。例如, 可利用表面键合或负载肿瘤标记物的

TiO₂NTs 在生物组织、血液或是其他体液中发现肿瘤细胞, 检测疾病征兆, 当然也可以同时通过负载和释

放抗癌药物,达到治疗的目的。Flak 等^[66]制备了一种用叶酸(FA)修饰的酞菁锌(ZnPc)和TiO₂NTs杂化的靶向响应性药物载体FA/ZnPc@TiO₂NTs,FA/ZnPc@TiO₂NTs易于进入宫颈癌细胞(HeLa),可在HeLa细胞中荧光生物成像,具有宫颈癌疾病的早期诊断能力。FA/ZnPc@TiO₂NTs作为载体可以负载抗癌药物DOX,该载体也可作为光动力剂,在波长为405 nm和635 nm的可见光照射下,释放的药物可以均匀地扩散到癌细胞的细胞质中(如图1所示)。实验证明,该载体在实体瘤样环境中的穿透能力和生物

成像效果很好,具有成为生物成像剂和靶向药物输送剂的巨大潜力。Safavipour等^[67]设计了一种负载还原型氧化石墨烯(rGO)的TiO₂NTs,可与人类粘蛋白-1(MUC1)适体连接。MUC1可以在乳腺癌、肝癌、胰腺癌、肺癌和卵巢癌等恶性肿瘤中被识别。这种rGO复合TiO₂NTs可以作为一种简单且经济高效的适体传感器,用于多种癌细胞的超灵敏电化学检测,并且由于其具有优异的光热性能,可将光转化为热量破坏周围的肿瘤细胞,实现癌症的光热治疗。

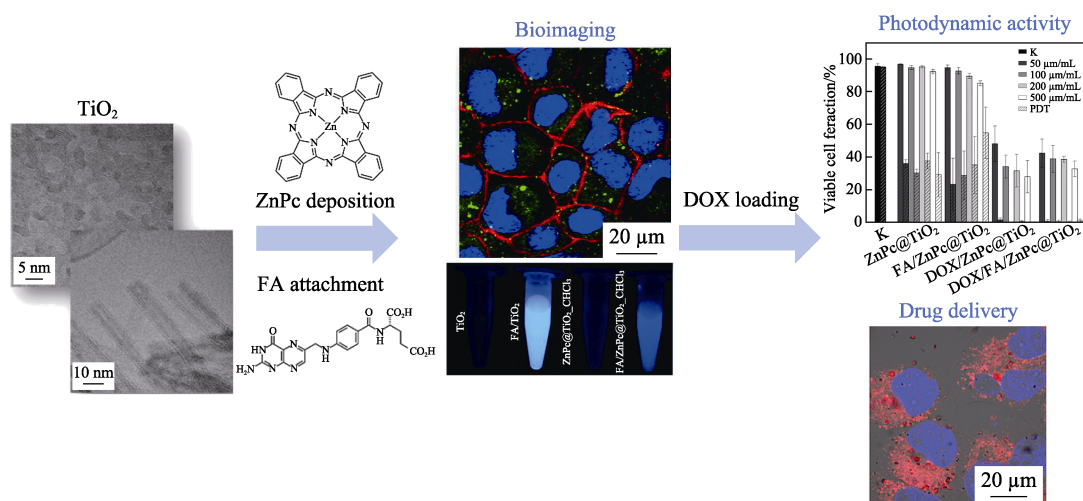


图1 FA/ZnPc@TiO₂NTs的荧光生物成像和DOX递送示意图^[66]

Fig.1 Schematic diagram of fluorescence bioimaging and DOX delivery of FA/ZnPc@TiO₂NTs^[66]

5 结语

近年来,有关钛及钛合金表面氧化钛纳米管的研究已经从材料科学领域拓展到了生物医学领域。研究表明,采用表面改性技术可以赋予钛及钛合金表面纳米管多种生物学功能,在促成骨、抗菌、载药和生物学检测等领域展现出广阔的应用前景。在这些研究领域有以下几个问题需要重点关注:(1)TiO₂NTs与细胞、组织和器官的相互作用机制十分复杂,仍需要更系统的理论研究和实验研究予以深入揭示;(2)有关TiO₂NTs生物功能化(如促成骨、促内皮化和抗菌)的研究主要集中在体外实验阶段,其实际功能效果还需要体内实验予以进一步验证;(3)TiO₂NTs在药物载体、生物成像和疾病检测方面展现出良好的应用前景,是该领域未来的重要发展方向之一。

参考文献:

- [1] GULATI K, AW M S, FINDLAY D, et al. Local drug delivery to the bone by drug-releasing implants: Perspectives of nano-engineered titania nanotube arrays[J]. Therapeutic delivery, 2012, 3(7): 857-873.
- [2] DAROUICHE R O. Infections associated with surgical im-
- [3] WANG K. The use of titanium for medical applications in the USA[J]. Materials science & engineering A, 1996, 213(1-2): 134-137.
- [4] JAIRO M C, VALENTIM A R B. Is there scientific evidence favoring the substitution of commercially pure titanium with titanium alloys for the manufacture of dental implants?[J]. Materials science and engineering: C, 2017, 71: 1201-1215.
- [5] APARICIO C, GIL F J, FONSECA C, et al. Corrosion behaviour of commercially pure titanium shot blasted with different materials and sizes of shot particles for dental implant applications[J]. Biomaterials, 2003, 24(2): 263-273.
- [6] YILDIZ F, YETIM A F, ALSARAN A, et al. Wear and corrosion behaviour of various surface treated medical grade titanium alloy in bio-simulated environment[J]. Wear, 2009, 267(5): 695-701.
- [7] POPAT K C, LEONI L, GRIMES C A, et al. Influence of engineered titania nanotubular surfaces on bone cells[J]. Biomaterials, 2007, 28(21): 3188-3197.
- [8] MARCEL F K, ROBERTO H, ROSEMARY S A S, et al. Application of TiO₂ nanotubes as a drug delivery system for biomedical implants: A critical overview[J]. Chemistry select, 2018, 40(3): 11180-11189.
- [9] plants[J]. New England journal of medicine, 2004, 351(2): 193-195.

- [9] KIM H W, KOH Y H, LI L H, et al. Hydroxyapatite coating on titanium substrate with titania buffer layer processed by sol-gel method[J]. *Biomaterials*, 2004, 25(13): 2533-2538.
- [10] OUYANG J, SUN X, CHEN X, et al. Preparation of layered bioceramic hydroxyapatite/sodium titanate coatings on titanium substrates using a hybrid technique of alkali-heat treatment and electrochemical deposition[J]. *Journal of materials science*, 2014, 49(4): 1882-1892.
- [11] KASUGA T, HIRAMATSU M, HOSON A, et al. Formation of titanium oxide nanotube[J]. *Langmuir*, 1998, 14(12): 3160-3163.
- [12] LAKSHMI B B, PATRISSI C J, MARTIN C R. Sol-gel template synthesis of semiconductor oxide micro- and nanostructures[J]. *Chemistry of materials*, 1997, 9(11): 2544-2550.
- [13] ZWILLING V, DARQUE C E, BOUTRY F A, et al. Structure and physicochemistry of anodic oxide films on titanium and TA6V alloy[J]. *Surface and interface analysis*, 1999, 27(7): 629-637.
- [14] XUE C, YONEZAWA T, NGUYEN M T, et al. Cladding layer on well-defined double-wall TiO₂ nanotubes[J]. *Langmuir*, 2015, 31(4): 1575-1580.
- [15] YORIYA S, PAULOSE M, VARGHESE O K, et al. Fabrication of vertically oriented TiO₂ nanotube arrays using dimethyl sulfoxide electrolytes[J]. *Journal of physical chemistry C*, 2007, 111(37): 13770-13776.
- [16] ZHAO Y, LI Y. Nanostructured titanium dioxide based on titanium alloys: Synthesis and properties[J]. *Journal of nanoscience & nanotechnology*, 2019, 19(1): 26-39.
- [17] YIN H, LIU H, SHEN W Z. The large diameter and fast growth of self-organized TiO₂ nanotube arrays achieved via electrochemical anodization[J]. *Nanotechnology*, 2009, 21(3): 035601.
- [18] CAI Q, PAULOSE M, VARGHESE O K. The effect of electrolyte composition on the fabrication of self-organized titanium oxide nanotube arrays by anodic oxidation[J]. *Journal of materials research*, 2005, 20(1): 230-236.
- [19] 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.
YU Wei-qiang, QIU Jin, ZHANG Fu-qiang. Study of corrosion behavior of titanium with anodized oxidation film [J]. *West China journal of stomatology*, 2011, 29(2): 203-205.
- [20] PENG L, ELTGROYH M L, LATEMPA T J, et al. The effect of TiO₂ nanotubes on endothelial function and smooth muscle proliferation[J]. *Biomaterials*, 2009, 30(7): 1268-1272.
- [21] KULKARNI M, MAZARE A, GONGADZA E, et al. Titanium nanostructures for biomedical applications[J]. *Nanotechnology*, 2015, 26(6): pp403-504.
- [22] 赵领洲, 张玉梅. 影响成骨细胞在种植体表面粘附的因素[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2007, 17(11): 667-671.
- ZHAO Lin-zhou, ZHANG Yu-mei. Factors influencing the osteoblast adhesion on implants[J]. *Chinese journal of conservative dentistry*, 2007, 17(11): 667-671.
- [23] 宁成云, 王玉强, 郑华德, 等. 阳极氧化法制备二氧化钛纳米管阵列的研究[J]. *化学研究与应用*, 2010, 22(1): 14-17.
- NING Cheng-yun, WANG Yu-qing, ZHENG Hua-de, et al. Study on preparation of TiO₂ nanotube arrays by anodizing processes[J]. *Chemical research and application*, 2010, 22(1): 14-17.
- [24] 张蕊, 白玉. 热处理后 TiO₂ 纳米管涂层的生物活性[J]. *广州化工*, 2013, 41(10): 94-96.
- ZHANG Rui, BAI Yu. Biological activity of TiO₂ nanotube coating after heat treatment[J]. *Guangzhou chemical industry*, 2013, 41(10): 94-96.
- [25] JIN S. Significantly accelerated osteoblast cell growth on aligned TiO₂ nanotubes[J]. *Journal of biomedical materials research part A*, 2006, 78(1): 97-103.
- [26] KIM K H. Crystallinity of anodic TiO₂ nanotubes and bioactivity[J]. *Journal of nanoscience & nanotechnology*, 2011, 11(6): 4910-4918.
- [27] FARZAD N, IMAN Y, ELNAZ M, et al. Tuning surface morphology and crystallinity of anodic TiO₂ nanotubes and their response to biomimetic bone growth for implant applications[J]. *Surface & coatings technology*, 2017, 315: 163-171.
- [28] KOKUBO T, KIM H M, KAWASHITA M. Novel bioactive materials with different mechanical properties[J]. *Biomaterials*, 2003, 24(13): 2161-2175.
- [29] YANG W, DENG C, LIU P, et al. Sustained release of aspirin and vitamin C from titanium nanotubes: An experimental and stimulation study[J]. *Materials & engineering*, 2016, 64: 139-147.
- [30] 顾昕. 二氧化钛纳米管材料成骨及抗菌实验研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2013.
- GU Xin. Study on self-ordered nanotube titanium for osteogenesis and antibacterial applications[D]. Shanghai: Second Military Medical University, 2013.
- [31] ZHOU L, DING X, WANG J, et al. The effects of hierarchical micro/nanosurfaces decorated with TiO₂ nanotubes on the bioactivity of titanium implants *in vitro* and *in vivo*[J]. *International journal of nanomedicine*, 2015, 10: 6955-6973.
- [32] WEBSTER T J. Biomimetic helical rosette nanotubes and nanocrystalline hydroxyapatite coatings on titanium for improving orthopedic implants[J]. *International journal of nanomedicine*, 2008, 3(3): 323-333.
- [33] MARTÍNEZ M, MANSO S M, RODRÍGUEZA, et al. Surface micro- and nano-texturing of stainless steel by femtosecond laser for the control of cell migration[J]. *Scientific reports*, 2016, 6: 36296.
- [34] IGLIC A, GONGADZE, KABASO D, et al. Adhesion of

- osteoblasts to a nanorough titanium implant surface[J]. International journal of nanomedicine, 2011, 6: 1801-1816.
- [35] SCHMUKI P. Hydroxyapatite growth on anodic TiO₂ nanotubes[J]. Journal of biomedical materials research part A, 2010, 77A(3): 534-541.
- [36] POPAT K C, LEONI L, GRIMES C A, et al. Influence of engineered titania nanotubular surfaces on bone cells[J]. Biomaterials, 2007, 28(21): 3188-3197.
- [37] PENG L, ELTGROTH M L, LATEMPA T J, et al. The effect of TiO₂ nanotubes on endothelial function and smooth muscle proliferation[J]. Biomaterials, 2009, 30(7): 1268-1272.
- [38] TANAKA M, TAKAYAMA A, ITO E, et al. Effect of pore size of self-organized honeycomb-patterned polymer films on spreading, focal adhesion, proliferation, and function of endothelial cells[J]. Journal of nanoscience & nanotechnology, 2007, 7(3): 763-772.
- [39] 田甜, 肖秀峰, 刘榕芳, 等. TiO₂ 纳米管阵列的热稳定性及生物活性的研究[J]. 稀有金属快报, 2006, 25(4): 15-19.
- TIAN Tian, XIAO Xiu-feng, LIU Rong-fang, et al. Study on thermal stability and biological activity of TiO₂ nanotube array[J]. Journal of rare metals, 2006, 25(4): 15-19.
- [40] KIM S Y, KIM Y K, PARK I S, et al. Effect of alkali and heat treatments for bioactivity of TiO₂ nanotubes[J]. Applied surface science, 2014, 321(1): 412-419.
- [41] OH S, FINANES R R, DARAIO C, et al. Growth of nano-scale hydroxyapatite using chemically treated titanium oxide nanotubes[J]. Biomaterials, 2005, 26(24): 4938-4943.
- [42] LI Y, LI Q, ZHU S, et al. The effect of strontium-substituted hydroxyapatite coating on implant fixation in ovariectomized rats[J]. Biomaterials, 2010, 31(34): 9006-9014.
- [43] LI Y, ZOU S, WANG D, et al. The effect of hydrofluoric acid treatment on titanium implant osseointegration in ovariectomized rats[J]. Biomaterials, 2010, 31(12): 3266-3273.
- [44] ALGHAMDI H S, BOSCO R, BEUCKEN V D, et al. Osteogenicity of titanium implants coated with calcium phosphate or collagen type-I in osteoporotic rats[J]. Biomaterials, 2013, 34(15): 3747-3757.
- [45] CHENG H, MAO L, WANG L, et al. Bidirectional regulation of zinc embedded titania nanorods: Antibiosis and osteoblastic cell growth[J]. Rsc adv, 2015, 5(19): 14470-14481.
- [46] 李莺, 宋云嘉, 马奥博, 等. 载锌纳米管钛种植体促进骨结合的实验研究[J]. 全科口腔医学电子杂志, 2018, 5(33): 7-13.
- LI Ying, SONG Yun-jia, MA Ao-bo, et al. Study on Zn-incorporated titania nanotube modified titanium implant improve osseointegration *in vivo*[J]. Journal of general stomatology electronics, 2018, 5(33): 7-13.
- [47] GAO C, LI C, WANG C, et al. Advances in the induction of osteogenesis by zinc surface modification based on titanium alloy substrates for medical implants[J]. Journal of alloys and compounds, 2017, 726: 1072-1084.
- [48] 韩天啸, 呼峰, 张玉梅. 钛表面含锶纳米管化对大鼠间充质干细胞成骨分化影响的研究[J]. 北京口腔医学, 2019, 27(2): 61-66.
- HAN Tian-xiao, HU Feng, ZHANG Yu-mei. Effect of strontium nanotubes on titanium surface on osteogenic differentiation of rat mesenchymal stem cells[J]. Beijing journal of stomatology, 2019, 27(2): 61-66.
- [49] DAS K, BOSE S, BANDYOPADYAY A, et al. Surface coatings for improvement of bone cell materials and antimicrobial activities of Ti implants[J]. J biomed mater res B: Appl biomater, 2008, 87B(2): 455-460.
- [50] 王月勤, 陶杰, 何娉婷. 二氧化钛纳米管上电沉积羟基磷灰石[J]. 材料科学与工程学报, 2007, 25(2): 249-252.
- WANG Yue-qing, TAO Jie, HE Ping-ting. Hydroxyapatite electrodeposited on titanium dioxide nanotubes[J]. Journal of materials science and engineering, 2007, 25(2): 249-252.
- [51] KAR A, RAJA K S, MISRA M. Electrodeposition of hydroxyapatite onto nanotubular TiO₂ for implant applications [J]. Surface & coatings technology, 2006, 201(6): 3723-3731.
- [52] HUANG Y, ZHANG X, ZHANG H, et al. Fabrication of silver- and strontium-doped hydroxyapatite/TiO₂ nanotube bilayer coatings for enhancing bactericidal effect and osteoinductivity[J]. Ceramics international, 2016, 43: 992-1007.
- [53] 杨梅, 邵忠财, 崔作兴. 钛基生物陶瓷涂层制备方法评述[J]. 有色矿冶, 2007, 23(4): 58-61.
- YANG Mei, SHAO Zhong-cai, CUI Zuo-xing. Research on preparation methods of bioceramic coating on titanium [J]. Nonferrous mining and metallurgy, 2007, 23(4): 58-61.
- [54] 林妙阔, 黄尔丹, 黄向红, 等. 骨科钛板表面 TiO₂ 纳米管阵列/MCM-41 分子筛复合型药物载体的构建及负载阿仑磷酸钠缓释性能研究[J]. 福建医药杂志, 2017, 39(1): 57-61.
- LIN Miao-kuo, HUANG Er-dan, HUANG Xiang-hong, et al. Construction of TiO₂ nanotube array/MCM-41 molecular sieves compound drug carrier on orthopaedic titanium plate surface and study on sustained-release performance of alendronate sodium supported on the composites [J]. Fujian medical journal, 2017, 39(1): 57-61.
- [55] SAMUSEL F, ROBERTSON A, BANDYOPADHYAY K, et al. Titania nanotube interface to increase adhesion strength of hydroxyapatite sol-gel coatings on Ti-6Al-4V for orthopedic applications[J]. Surface and coatings technology, 2019, 372: 140-147.
- [56] MAXIM B, GADI P, DAN G. BMP gene delivery for skeletal tissue regeneration[J]. Bone, 2020, 137, 115449.

(下转第34页)

- ZHANG L, TAN Y X, NING C Y, et al. Effects of titanium self-assembled silanization on biomimetic mineralization and cell proliferation[J]. Rare metal materials and engineering, 2012, 41(11): 1985-1989.
- [44] 罗勇, 程刚. 钛合金生物表面改性技术[M]. 徐州: 中国矿业大学出版社, 2013.
- LUO Yong, CHENG Gang. Biological surface modification technology of titanium alloy[M]. Xuzhou: China University of Mining and Technology Press, 2013.
- [45] HOSSEINKHANI H, HOSSEINKHANI M, TIAN F. Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in self-assembled peptide-amphiphile nanofibers[J]. Biomaterials, 2006, 27(22): 4079-4086.
- [46] WAN Y Z, XIONG G Y, LIANG H, et al. Modification of medical metals by ion implantation of copper[J]. Applied surface science, 2007, 253(24): 9426-9429.
- [47] LENG C Y, ZHOU R, ZHANG X. Corrosion resistance of Ta⁺-implanted Ti6Al4V alloy in Hank's solution[J]. Nuclear techniques, 2012, 35(2): 14-19.
- [48] XIA C, MA X, ZHANG X, et al. Enhanced physicochemical and biological properties of C/Cu dual ions implanted medical titanium[J]. Bioactive materials, 2020, 5(2): 377-386.
- [49] XIA C, CAI D, TAN J, et al. Synergistic effects of N/Cu dual ions implantation on stimulating antibacterial ability and angiogenic activity of titanium[J]. ACS biomaterials science & engineering, 2018, 4(9): 3185-3193.
- [50] HAN X, JI X, ZHAO M, et al. Mg/Ag ratios induced in vitro cell adhesion and preliminary antibacterial properties of TiN on medical Ti-6Al-4V alloy by Mg and Ag implantation[J]. Surface and coatings technology, 2020, 397: 126020.
- [51] 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.
- [52] LI Q, ZHAO M, LI L, et al. Co-regulation of Cu/Zn contents enhanced the biological and mechanical properties of TiN coated Ti-6Al-4V alloy[J]. Surface and coatings technology, 2020, 395: 125943.
- [53] 冷崇燕, 周荣, 张旭, 等. Ag 和 Ta 离子双注入改善 Ti6Al4V 合金耐磨性能[J]. 金属学报, 2009, 45(6): 764-768.
- LENG C Y, ZHOU R, ZHANG X, et al. Improvement of wear resistance of Ti6Al4V alloy by Ag and Ta ion double injection[J]. Acta metalica sinica, 2009, 45(6): 764-768.

(上接第 8 页)

- [57] BALASUNDARAM G, CHANG Y, WEBSTER T J. TiO₂ nanotubes functionalized with regions of bone morphogenetic protein-2 increases osteoblast adhesion[J]. Journal of biomedical materials research part A, 2008, 84(2): 447-453.
- [58] LAI M, CAI K, ZHAO L, et al. Surface functionalization of TiO₂ nanotubes with bone morphogenetic protein 2 and its synergistic effect on the differentiation of mesenchymal stem cells[J]. Biomacromolecules, 2011, 12(4): 1097-1105.
- [59] 夏进阳, 付继江, 彭祥, 等. 载银 TiO₂ 纳米管阵列的光催化和抗菌性能研究[J]. 稀有金属材料与工程, 2014, 43(9): 2285-2288.
- XIA Jin-yang, FU Ji-jiang, PENG Xiang, et al. Study on photocatalysis and antibacterial properties of silver-loaded TiO₂ nanotube array[J]. Rare metal materials and engineering, 2014, 43(9): 2285-2288.
- [60] KODAMA A, BAUER S, KOMASTU A, et al. Bioactivation of titanium surfaces using coatings of TiO₂ nanotubes rapidly pre-loaded with synthetic hydroxyapatite[J]. Acta biomaterialia, 2009, 5(6): 2322-2330.
- [61] ESLAMI H, LISAR H A, KASHI T S J, et al. Poly(lactic-co-glycolic acid)(PLGA)/TiO₂ nanotube bioactive composite as a novel scaffold for bone tissue engineering: *In vitro* and *in vivo* studies[J]. Biologicals journal of the international association of biological standardization, 2018, 53: 51-62.
- [62] WANG Z, XIE C, LUO F, et al. P25 nanoparticles decorated on titania nanotubes arrays as effective drug delivery system for ibuprofen[J]. Applied surface science, 2015, 324(1): 621-626.
- [63] CAI K, FENG J, ZHONG L, et al. Temperature-responsive controlled drug delivery system based on titanium nanotubes[J]. Advanced engineering materials, 2010, 12(9): B565-B570.
- [64] WANG Y, YUANL, YAO C, et al. Cytotoxicity evaluation of pH-controlled antitumor drug release system of titanium dioxide nanotubes[J]. Journal of nanoscience & nanotechnology, 2015, 15(6): 4143-4148.
- [65] JIA H, LEI L, KER. Kinetics of drug release from drug carrier of polymer/TiO₂ nanotubes composite-pH dependent study[J]. Journal of applied polymer science, 2014, 132(7): 41570.
- [66] FLAK D, YATE L, NOWACZYK G, et al. Hybrid ZnPc @TiO₂ nanostructures for targeted photodynamic therapy, bioimaging and doxorubicin delivery[J]. Materials science & engineering, 2017, 78: 1072-1085.
- [67] SAFAVIPOUR M, KHARAZIHA M, AMJADI E, et al. TiO₂ nanotubes/reduced GO nanoparticles for sensitive detection of breast cancer cells and photothermal performance[J]. Talanta, 2020, 208: 120369.