

纯钛材与大变形纯钛材微弧氧化-水热合成复合陶瓷膜层的细胞相容性研究

徐琳^{1,2}, 丁建宁², 许晓静¹, 何远清¹, 雷小春¹

(1. 江苏大学, 江苏 镇江 212013)

(2. 江苏省光伏科学与工程协同创新中心, 江苏 常州 213164)

摘要: 采用微弧氧化-水热法分别在纯钛材及大变形纯钛材表面制备了TiO₂/HA复合陶瓷膜层, 从细胞毒性实验、细胞增殖实验、细胞黏附实验等方面评价膜层的细胞相容性。结果表明: 纯钛材与大变形纯钛材微弧复合陶瓷膜层均无细胞毒性。与纯钛材微弧复合陶瓷膜层相比, 大变形纯钛材微弧复合陶瓷膜层表面粗糙度更适宜, 结晶形核的HA晶粒的形状及Ca/P比更接近人骨HA, 更能有效促进成骨细胞的黏附和铺展, 随着培养时间的延长, 成骨细胞双层重叠生长结构更为明显。成骨细胞在大变形纯钛材微弧复合陶瓷膜层表面各时间点的吸光度值均更高, 细胞相容性更好。

关键词: 大变形纯钛; 微弧氧化; 水热合成; 成骨细胞; 细胞相容性

中图分类号: R318; TB333

文献标识码: A

文章编号: 1002-185X(2017)02-0548-07

钛材是重要的医用植入物材料, 然而在生理环境下存在耐腐蚀性能降低、耐磨性差、金属离子释放等问题, 影响了其长期植入安全^[1,2]。与此同时, 钛及钛合金作为生物惰性材料, 生物活性不够理想, 缺乏骨诱导的能力, 其与宿主骨之间仅为机械锁合, 结合强度低^[3]。为获得综合性能良好的钛医用植入材料, 学者们的研究热点主要集中在研发性能更优异的新型钛合金及其进行表面改性使表面活化^[4-6], 改善生物活性以实现钛植入体与宿主组织间结合牢靠的骨键合。

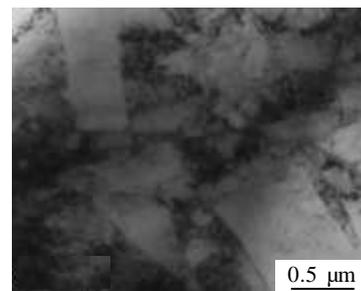
本实验选用经等通道转角大应变技术 (equal channel angular pressing/extrusion, ECAP/E) 制备的具有良好的力学性能、优越的生物相容性、不含对人体有毒的化学元素的大变形纯钛材^[5-7], 采用微弧氧化-水热法对其进行表面改性, 得到具有良好的生物活性与骨诱导性的TiO₂/羟基磷灰石 (hydroxyapatite, HA) 复合陶瓷膜层, 并从细胞毒性实验、细胞增殖实验、细胞黏附实验等方面评价改性后的纯钛材与大变形纯钛材TiO₂/HA复合陶瓷膜层的细胞相容性, 为其作为新型医用金属材料的表面改性提供理论参考和技术支撑。

1 实验

1.1 膜层的制备

实验基材选用纯钛材(titanium, Ti)和经4道次等通道转角大应变技术制得的大变形纯钛材(large plastic deformed titanium, LPD Ti)^[7]。大变形纯钛材的TEM组织如图1所示。纯钛材的平均原始晶粒大小约为50 μm^[8], 经4道次ECAP挤压后, 由于受到强烈塑性变形, 粗大晶粒得到显著细化, 减小至0.6 μm左右, 大晶粒中含有亚晶粒, 并存在位错。

钛基材制备成Φ18 mm×2 mm的圆片, 经打磨、抛光后依次经丙酮、乙醇和去离子水中超声清洗15 min。微弧氧化的频率为600 Hz, 占空比为15%, 氧化时间为5 min, 电流密度为25 A/dm², 电解液主要成分为C₄H₆CaO₄-NaH₂PO₄。微弧氧化试样清洗后于高压反应釜中水热处理, 水热温度为180 °C, 水热时间为7 d, 介质为氨水, 填充度60%, 随釜冷却。



收稿日期: 2016-02-01

基金项目: 江苏省高校自然科学基金重大项目(11KJA430004); 江苏省高校自然科学基金项目 (12KJD460002); 江苏省博士后科研资助计划资助项目 (1501103B)

作者简介: 徐琳, 女, 1982年生, 博士, 江苏大学微纳米科学技术研究中心, 江苏 镇江 212013, 电话: 0511-88780173, E-mail: xulin1982@ujs.edu.cn

图1 大变形纯钛材的 TEM 组织

Fig.1 TEM image of large plastic deformed titanium

1.2 膜层的表征

采用扫描电子显微镜(SEM)观测膜层表面的微观结构,同时由X射线能谱仪分析其表面元素成分。利用ContourGT非接触式三维轮廓仪测量表面粗糙度。

1.3 细胞毒性实验

(1) 材料浸提液的配制

试样浸提液的制备:将待测试样按 0.5 mL/cm^2 的比例浸泡于含 10%小牛血清的 DMEM 培养基中, 37°C 恒温浸提 2 d, 备用。

阴性对照:无菌条件下,将高密度聚乙烯保鲜袋 5 cm^2 , 剪成小块,置于无菌离心管中,加 30 mL RPMI-1640 完全培养基, 37°C 浸提 2d, 备用。

阳性对照:5% DMSO (二甲基亚砷)。

空白对照:10%小牛血清的新鲜 DMEM 培养基。

(2) MTT 检测

用移液管将浓度为 4×10^5 个/mL 的成骨细胞悬液接种于 96 孔细胞培养板,每孔接种 $100 \mu\text{L}$ 细胞悬液, $5\% \text{ CO}_2$, 37°C 培养 1 d, 用移液管小心吸出 96 孔板中的培养液。待测试样组加入试样浸提液,阴性对照组加入高密度聚乙烯浸提液,阳性对照组加入 5% DMSO,空白对照组加入 10%小牛血清的新鲜 DMEM 培养基,每孔 $100 \mu\text{L}$, $5\% \text{ CO}_2$, 37°C 培养 3 d。培养 3 d 后,置显微镜下观察成骨细胞形态。每孔加入 $20 \mu\text{L}$ 的 MTT 溶液(5 g/L 用 PBS 配制),继续培养 4 h。吸弃上清液,向各孔加入 0.1 mL 的 DMSO,置摇床中速振荡 10 min 后,酶标仪在 490 nm 波长处检测每孔的吸光度值,做 3 次平行试验,取平均值,按式(1)计算相对增殖率 (relative growth rate, RGR)。

$$\text{RGR} = \frac{A}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中, A 为实验组平均吸光度值, A_0 为空白对照组平均吸光度值。根据计算得到的实验组的成骨细胞相对增殖

率均值,按 GB/T16886.5-2003/ISO 10993-5:1999 规定的 6 级毒性分级法,对各待测试样进行细胞毒性分级。

1.4 细胞增殖实验

用移液管将配制好的细胞浓度 4×10^5 个/mL 的成骨细胞悬液接种于 96 孔培养板,每孔 $100 \mu\text{L}$ 。试样组加入各待测试样,阳性对照组加入 5% DMSO,阴性对照组加入 10%小牛血清的新鲜 DMEM 培养基,每孔 $100 \mu\text{L}$ 。除第 1 天外,其余各孔 48 h 换液。分别于培养 1, 3, 5 d 后,每孔加入 $100 \mu\text{L}$ 的 MTT 溶液, $5\% \text{ CO}_2$, 37°C 培养箱内继续孵育 4 h, 终止培养,离心后吸弃孔内上清液。每孔加入 $150 \mu\text{L}$ 的 DMSO,置摇床低速振荡 10 min 后,以移液管吸取各孔液体 $200 \mu\text{L}$ 依次转移至一清洁 24 孔培养板上,酶标仪在 490 nm 波长处检测每孔的吸光度值,做 3 次平行试验,取平均值,按式(2)计算成骨细胞增殖率(osteoblasts proliferation)。

$$\text{细胞增殖率} = \frac{A}{A_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中, A 为实验组的平均吸光度值, A_1 为阴性对照组的平均吸光度值。

1.5 细胞黏附实验

用移液管将 2 mL 浓度调整至 4×10^5 个/mL 的成骨细胞悬液接种于放有各待测试样的 96 孔培养板内,于 $5\% \text{ CO}_2$ 、 37°C 培养箱内分别培养 1, 3, 5 d 后,终止培养,将试样取出,用 0.9%氯化钠溶液漂洗,去除试样表面未黏附的成骨细胞,然后于 2.5%戊二醛溶液中固定 12 h,试样取出后再次用氯化钠溶液清洗,无水乙醇梯度脱水 (30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%),每种浓度脱水 2 次,每次 10 min,临界点干燥,喷金,将待测试样置于扫描电子显微镜下观察成骨细胞在不同待测试样表面的黏附形态。

2 结果与分析

2.1 膜层表面形貌及能谱分析

经微弧氧化-水热处理制备的纯钛材复合陶瓷膜层(Ti-MH)和大变形纯钛材复合陶瓷膜层(LPD Ti-MH)的 SEM 微观形貌见图 2。

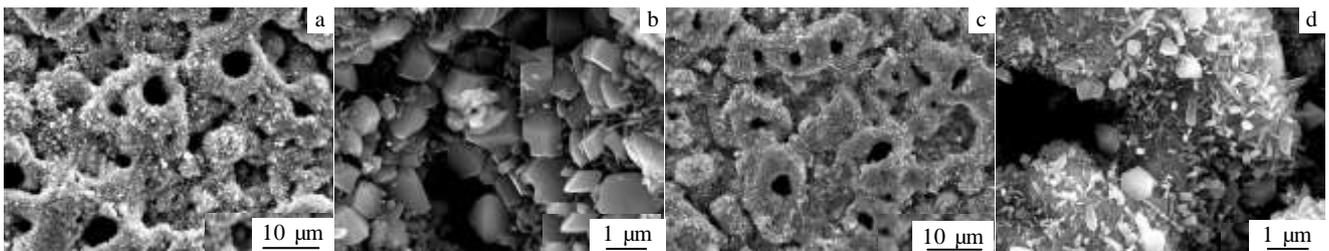


图2 纯钛材及大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面 SEM 形貌

Fig.2 SEM images of MAO coatings on conventional titanium and large plastic deformed titanium after hydrothermal treatment for 7 d: (a, b) Ti-MH^[9], and (c, d) LPD Ti-MH

从图中可以观察到,纯钛材复合陶瓷膜层(Ti-MH)表面密布大量光滑且较规则的条柱状及针状颗粒,填充了大小不等的微弧氧化孔洞。大变形纯钛材复合陶瓷膜层(LPDTi-MH)表面有大量结晶形核的针状、片状与柱状颗粒。在水热处理的高温高压下,微弧氧化膜层内部Ca、P元素被激活扩散到膜层表面与氨水中的-OH基团反应,结晶形核成针状、片状与棒状晶粒,这些大小不等的晶粒交错排列,主要分布在孔洞的内部以及熔融凸起的周边,填充并覆盖了膜层表面的微孔以及部分大孔。与纯钛材复合陶瓷膜层表面面貌相比,具有一定的差异,结晶形核晶粒尺寸更小,更接近人自然骨HA的针状形貌^[10]。这可能是因为纯钛材大变形后组织得到细化,晶界与位错等晶体缺陷增多,晶界区域所占的体积分数更高,自由能增强,晶界的迁移速率降低,抑制了晶粒的生长,具有良好的尺寸稳定性。Shao等研究证实大变形纯钛材组织细化具有明显的“纳米诱导形核效应”及“晶化效应”^[8]。因此大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面结晶形核的HA晶粒尺寸较小。Wennerberg等^[11]指出合成的HA越小,骨植入体的扭转模量、拉伸模量、拉伸强度及疲劳抗力也相应越高,有助于改善骨植入体的力学性能。

图3所示为纯钛材与大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面成分EDS分析谱。

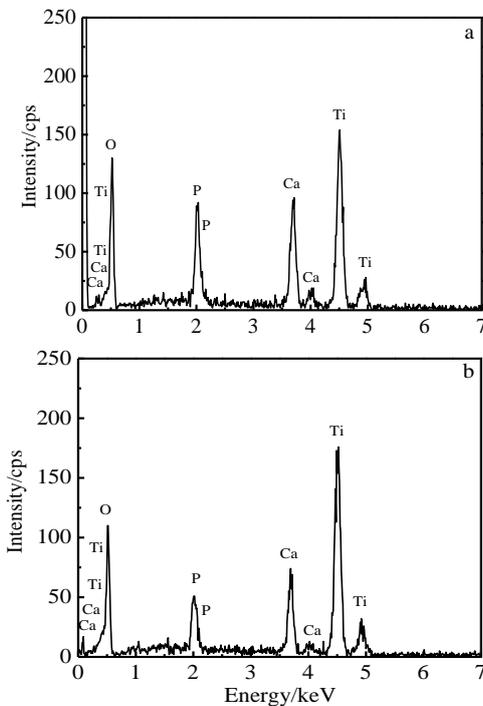


图3 纯钛材及大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面EDS分析谱

Fig.3 EDS spectra of MAO coatings on conventional titanium and large plastic deformed titanium after hydrothermal treatment for 7 d: (a) Ti-MH and (b) LPD Ti-MH

图3能谱分析表明复合陶瓷膜层表面基本组成元素均为Ti、O、Ca、P。纯钛材微弧氧化膜层水热处理7d后表面的Ca/P比仅为1.38,而大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面的Ca/P比为1.68,更接近人骨羟基磷灰石的Ca/P比1.67。

2.2 膜层表面粗糙度

纯钛材与大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面轮廓三维图如图4所示。由图可以观察到,纯钛材复合陶瓷膜层表面高低起伏,表面轮廓粗糙且出现了大量细小的颗粒状凸起,部分孔洞被水热合成的羟基磷灰石晶粒填充,但仍保有多孔及包状熔融凸起形貌特征。孔洞与凸起间高度差较大,使得 R_a 值较高,达到 $2.41\ \mu\text{m}$ 。大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面孔洞与凸起间高度差较小,分布更均匀细密,表面整体粗糙度较低, R_a 值为 $1.82\ \mu\text{m}$ 。可见,与纯钛材复合陶瓷膜层相比,大变形纯钛材复合陶瓷膜层的粗糙度略低,但二者均为粗糙表面。研究表明成骨细胞在粗糙表面植入体的黏附及增殖要优于光滑表面的植入体,但何种粗糙度的植入体表面是最适宜骨整合的尚有争议,大变形纯钛材复合陶瓷膜层的粗糙度在 $1\sim 2\ \mu\text{m}$ 可能更有效促进骨整合^[12],尚有待进一步研究^[13]。

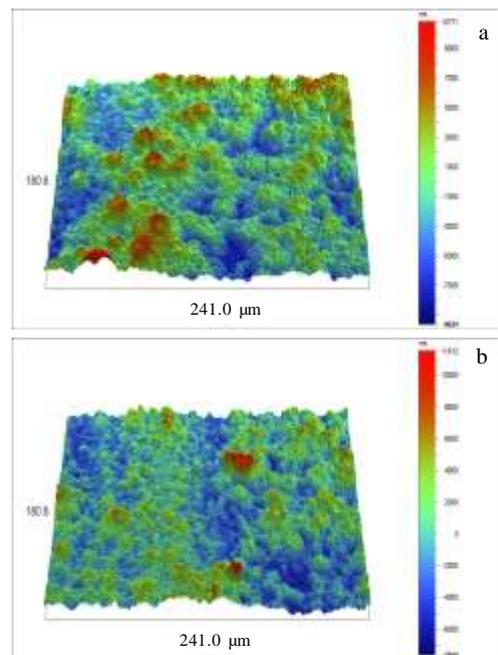


图 4 纯钛材及大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面三维图

Fig.4 Three-dimensional images of MAO coatings on conventional titanium and large plastic deformed titanium after hydrothermal treatment for 7 d: (a) Ti-MH and (b) LPD Ti-MH

2.3 细胞毒性 MTT 测试结果

通过酶标仪测得的各试样浸提液中培养的成骨细胞在 3 d 时的吸光度值如图 5 所示。

由图可知,空白对照组 10%小牛血清的新鲜 DMEM 培养基中培养的成骨细胞吸光度值为 0.261,大变形纯钛材复合陶瓷膜层浸提液、纯钛材复合陶瓷膜层浸提液及阴性对照组中培养的成骨细胞吸光度值分别为 0.314、0.302 和 0.323,明显高于 0.261,对成骨细胞的增殖较强。阳性对照组 5% DMSO 中培养的成骨细胞吸光度值显著最低,仅有 0.077,细胞增殖抑制明显。

图 6 示出了由 MTT 法测定的吸光度值按公式(1)计算出成骨细胞在试样浸提液中培养 3 d 时的相对增殖率。

将图 6 中成骨细胞相对增殖率值转换成毒性级,对试样的毒性程度进行评价。可知大变形纯钛材复合陶瓷膜层浸提液、纯钛材复合陶瓷膜层浸提液及阴性对照组中的成骨细胞在培养 3 d 时的相对增殖率均在 100% 以上,细胞毒性分级均为 0 级。阳性对照组 5% DMSO 的细胞毒性分级为 4 级。可见改性后的纯钛材与大变形纯钛材复合陶瓷膜层均符合生物材料细胞毒性要求,都是无细胞毒性的。

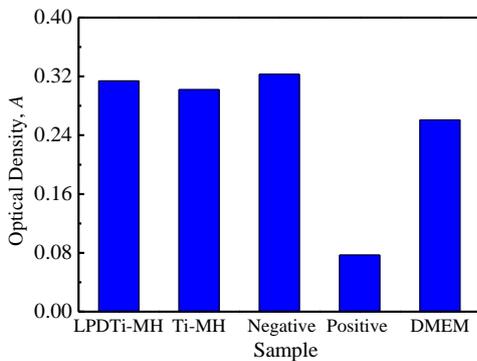


图 5 成骨细胞在试样浸提液中培养 3 d 时的吸光度值

Fig.5 Optical density of osteoblasts cultured with leaching liquor from samples for 3 d

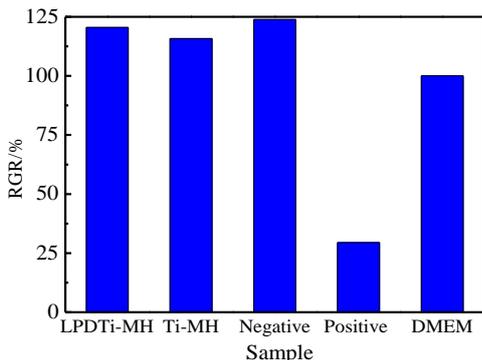


图 6 成骨细胞在试样浸提液中培养 3 d 时的相对增殖率

Fig.6 Relative growth rate of osteoblasts cultured with leaching liquor from samples for 3 d

2.4 细胞增殖评价

图 7 显示采用 MTT 法比较成骨细胞在待测试样表面 1, 3 和 5 d 不同细胞培养时间点的吸光度值的变化。

通过 MTT 法测量的吸光度值的大小反映了试样表面活细胞的多少。如图所示,伴随着培养时间的延长,成骨细胞接种在纯钛材与大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面的吸光度值均呈增长趋势,活的成骨细胞数目增多,成骨细胞增殖明显,具有良好的生物活性。培养 1, 3 和 5 d 时,成骨细胞在各试样表面的吸光度值与阴性对照组并无显著差别,均明显高于阳性对照组,并且成骨细胞在大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面的吸光度值均高于纯钛材复合陶瓷膜层表面的吸光度值,说明大变形纯钛材复合陶瓷膜层对成骨细胞的初期黏附及后期增殖具有更明显的促进作用,生物活性更好。图 8 所示为根据 MTT 法测定的试样表面 1、3 和 5 d 不同细胞培养时间点的吸光度值,计算得到的成骨细胞在各试样表面的增殖率。

从图中可以看出,在 1, 3 和 5 d 不同细胞培养时间点,大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面的细胞增殖率最高,均明显高于纯钛材复合陶瓷膜层表面,能更

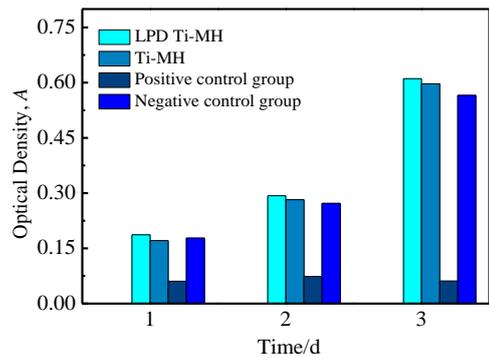


图 7 成骨细胞在试样表面的吸光度值

Fig.7 Optical density of osteoblasts on the surface of samples

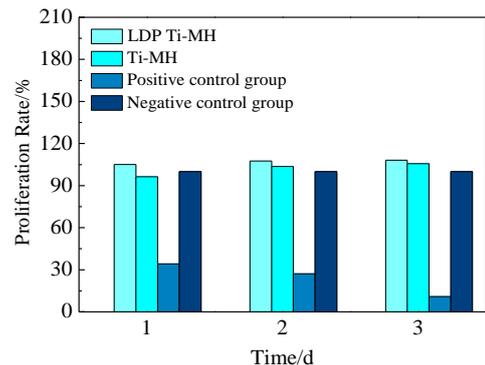


图 8 成骨细胞在试样表面的增殖率

Fig.8 Osteoblasts proliferation rate on the surfaces of samples
好地诱导成骨细胞的增殖。

2.5 细胞黏附行为

图 9 示出了扫描电镜下成骨细胞在大变形纯钛材复合陶瓷膜层、纯钛材复合陶瓷膜层和钛基材表面培养 1 d 后的黏附情况。如图所示，各试样表面都有细胞黏附。钛基材表面的成骨细胞开始铺展，呈椭圆状或三角状，铺展面积小，出现少量丝状伪足。成骨细胞在复合陶瓷膜层表面黏附数量更多、密度更大、铺

展更显著。纯钛材复合膜层表面黏附的成骨细胞呈单层生长状态，单个细胞形状较扁平，覆盖了膜层表面众多的 HA 晶粒及孔洞，部分细胞伪足相连，并攀附于膜层表面的孔洞边缘。大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面成骨细胞伪足伸展更长，甚至有的成骨细胞已完全钻入孔洞生长，与膜层表面形成了更加紧密的锚合作用，可见大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面更好地诱导了成骨细胞的附着与生长。

图 10 所示为扫描电镜下成骨细胞在大变形纯钛材复合陶瓷膜层、纯钛材复合陶瓷膜层和钛基材表面培养 3 d 后的黏附情况。可观察到随着培养时间的延长，各试样表面的细胞密度增加，铺展面积增大，细胞黏附情况更好。当培养 3 d 后，未经改性的纯钛基材表面成骨细胞数目显著增多，细胞形状扁平，呈梭形

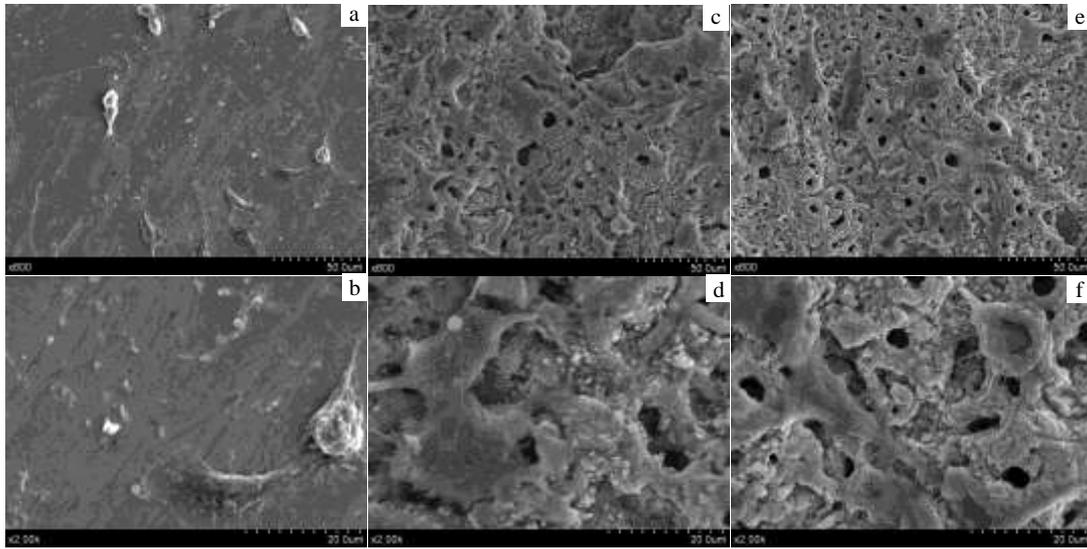


图 9 成骨细胞在试样表面培养 1 d 后的形态

Fig.9 SEM images of osteoblasts cultured on the surfaces of samples for 1 d: (a, b) Ti, (c, d) Ti-MH, and (e, f) LPD Ti-MH

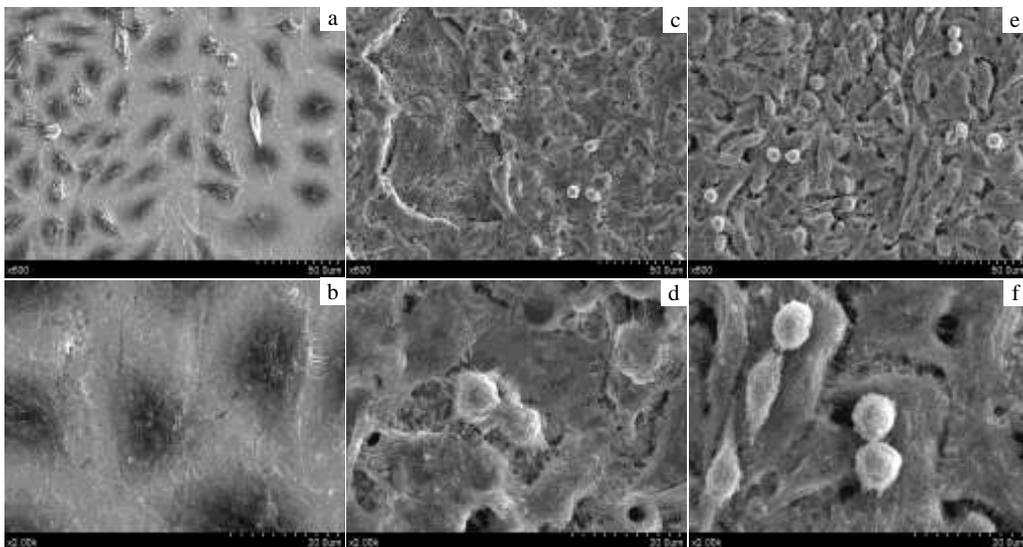


图 10 成骨细胞在试样表面培养 3 d 后的形态

Fig.10 SEM images of osteoblasts cultured on the surfaces of samples for 3 d: (a, b) Ti; (c, d) Ti-MH; (e, f) LPD Ti-MH

或三角形铺展, 伪足伸长。纯钛材复合陶瓷膜层表面黏附了更大量的成骨细胞, 成骨细胞几乎完全铺展开, 细胞覆盖住的膜层表面面积更大, 成骨细胞出现了双层生长结构, 伪足数目更多, 向周围的孔洞伸入, 与膜层表面形成牢固地锚定作用。与纯钛材复合陶瓷膜层相比, 大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面成骨细胞间伪足相连呈网状, 双层重叠生长结构更为明显, 第 2 层成骨细胞数目更多并且伸出了丝状与板状伪足, 具有更良好的伸展状态, 表明大变形纯钛材复合陶瓷膜层更能有效促进成骨细胞的黏附和铺展, 细胞相容性更好。

相关研究表明植入体材料表面的微观形貌、粗糙度、化学组成、表面能等极大地影响了细胞在其表面的黏附、增殖与分化^[14-16]。与钛基材、纯钛材复合陶瓷膜层相比, 大变形纯钛材复合陶瓷膜层具有更好的细胞相容性的原因在于: (1) 大变形纯钛材经微弧氧化-水热复合处理后, 在分布有众多的火山口状孔洞和凸起的微弧氧化膜层表面结晶形核出大量交错排列的针状、片状与柱状的HA晶粒, 凹凸不平的膜层表面的孔洞及晶粒的形成, 有利于成骨细胞的附着、攀爬与向内长入, 增强植入体材料与成骨细胞的机械嵌合, 促进骨整合^[17]。(2) Wennerberg等认为植入体材料的粗糙度 R_a 可分为微度粗糙(0.5~1 μm)、中度粗糙(1~2 μm)、粗糙(2~3 μm)。一般认为植入体材料的 $R_a > 1 \mu\text{m}$ 为粗糙表面^[11,18]。大变形纯钛材复合陶瓷膜层的表面粗糙度为1.82 μm , 为中度粗糙表面, 较钛基材提高了1个数量级。与光滑表面相比, 粗糙的植入体表面更适宜成骨细胞的早期附着和繁殖^[16], 但是, 并不是越粗糙的植入体表面越有利于成骨细胞的黏附, 究竟何种粗糙度的植入体表面是最适宜成骨细胞的附着与生长尚有争议。Schwartz等^[12]研究发现与微粗糙度、高粗糙度表面相比, 具有1~2 μm 中粗糙度的植入体可能是更有效促进骨整合的最好选择。(3) 大变形纯钛材复合陶瓷膜层为富含生物活性元素Ca、P的HA/TiO₂复合陶瓷膜层, 影响了其表面吸附的蛋白的构形与构象, 进而介导了成骨细胞的黏附, 可达到更有效地骨整合^[19,20]。(4) 经微弧氧化-水热处理后, 膜层比表面积增大, 使得其表面活性位点增多, 表面色散力分量与极性力分量大幅度提高, 表面能显著增加^[9]。表面能较高的植入体有助于诱导成骨细胞的黏附、增殖等^[21]。张玉梅等^[22]也证实了成骨细胞在纯钛材TiO₂/HA复合陶瓷层表面的早期附着率明显高于纯钛材与纯钛材微弧氧化

膜层, 其原因在于纯钛材TiO₂/HA复合陶瓷层表面具有较高的表面能。由此可见, 微弧氧化-水热复合处理组能更好地促进成骨细胞的黏附与生长。(5) 与纯钛材复合陶瓷膜层相比, 大变形处理后钛基材晶体缺陷增多, 自由能增强, 提高了HA结晶物在缺陷处的初始形核率, 大变形纯钛材微弧氧化水热合成复合陶瓷膜层表面结晶形核的晶粒尺寸较小, 结晶形核的HA晶粒的形貌与1.68的Ca/P比更接近人骨HA, 结晶度较高, 具有更适宜的粗糙度, 使得大变形纯钛材复合陶瓷膜层表面的成骨细胞的黏附与增殖更好, 生物活性更优。

3 结 论

1) 与纯钛材微弧复合陶瓷膜层相比, 大变形纯钛材微弧复合陶瓷膜层表面粗糙度更适宜, 结晶形核的HA晶粒的形状及1.68的Ca/P比更接近人骨HA, 这归因于大变形纯钛材组织的超细化, 晶体缺陷增多, 自由能增加, 为结晶物的形核提供了更多的能量, 有利于驱动膜层Ca、P元素的扩散及其重新结晶成HA的化学反应速度, 同时晶界的迁移速率降低, 使得其结晶的晶粒较小。

2) 纯钛材与大变形纯钛材微弧复合陶瓷膜层的细胞毒性分级为0级, 均满足细胞毒性安全要求。

3) 与纯钛材微弧复合陶瓷膜层相比, 成骨细胞在大变形纯钛材微弧复合陶瓷膜层表面各时间点的吸光度值均高于其他试样表面的吸光度值, LPD Ti-MH对成骨细胞的初期黏附及后期增殖具有更明显的促进作用, 细胞增殖率最高。

4) 大变形纯钛材微弧复合陶瓷膜层表面更能有效促进成骨细胞的黏附和铺展, 细胞相容性更好。培养初期, 成骨细胞铺展显著, 且有的成骨细胞已完全钻入孔洞生长与膜层表面形成了更加紧密的锚合作用。随着培养时间的延长, 成骨细胞双层重叠生长结构更为明显, 第2层成骨细胞数目更多并且伸出了丝状与板状伪足。

参考文献 References

- [1] Kawanabe K, Ise K, Goto K *et al.* *J Biomed Mater Res B*[J], 2009, 90(1): 476
- [2] Zaffer D, Bertoldi C, Consolo U. *Biomaterials*[J], 2003, 24(6): 1093
- [3] Ng B S, Annergren I, Soutar A M *et al.* *Biomaterials*[J], 2005, 26(10): 1087

- [4] Li Y, Ng H P, Jung H-D *et al. Mater Lett*[J], 2014, 114: 144
- [5] Medvedev A, Ng H P, Lapovok R *et al. Mater Lett*[J], 2015, 145: 308
- [6] Xu Xiaojing(许晓静), Sheng Xinlan(盛新兰), Zhang Tifeng(张体峰) *et al. Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与工程)[J], 2013, 42(10): 2053
- [7] Valiev R Z, Langdon T G. *Prog Mater Sci* [J], 2006, 51(7): 881
- [8] Shao H H, Yu C H, Xu X J *et al. Appl Surf Sci*[J], 2010, 257(5): 1649
- [9] Xu Lin(徐琳), Ding Jianning(丁建宁). *Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与工程)[J], 2016, 45(8): 2080
- [10] Pidaparti R M V, Chandran A, Takano Y *et al. J Biomech*[J], 1996, 29(7): 909
- [11] Wennerberg A, Hallgren C, Johansson C *et al. Clin Oral Implan Res*[J], 1998, 9: 11
- [12] Schwartz Z, Nasazky E, Boyan B D. *Alpha Omegan*[J], 2005, 98(2): 9
- [13] Lossdörfer S, Schwartz Z, Wang L *et al. J Biomed Mater Res A*[J], 2004, 70(3): 361
- [14] Rausch-Fan X, Qu Z, Wieland M *et al. Dent Mater*[J], 2008, 24(1): 102
- [15] Wang Y J, Wang L, Zheng H D *et al. Appl Surf Sci*[J], 2010, 256(7): 2018
- [16] Lange R, Lüthen F, Beck U *et al. Biomol Eng*[J], 2002, 19(2-6): 255
- [17] Han C M, Kim H E, Kim Y S *et al. J Biomed Mater Res B*[J], 2009, 90(1): 165
- [18] Lang N P, Jepsen S. *Clin Oral Implan Res*[J], 2009, 20: 228
- [19] El-Ghannam A, Ducheyne P, Shapiro I M. *J Orthop Res*[J], 1999, 17(3): 340
- [20] Loty C, Sautier J M, Boulekbache H *et al. J Biomed Mater Res*[J], 2000, 49(4): 423
- [21] Zhao G, Schwartz Z, Wieland M *et al. J Biomed Mater Res A*[J], 2005, 74(1): 49
- [22] Zhang Yumei(张玉梅), Zhao Yimin(赵钦民), Huang Ping(黄平) *et al. Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与工程)[J], 2004, 33(5): 518

Cytocompatibility of Composite Ceramic Coating on Titanium and Large Plastic Deformed Titanium by Micro-arc Oxidization-Hydrothermal Synthesis

Xu Lin^{1,2}, Ding Jianning², Xu Xiaojing¹, He Yuanqing¹, Lei Xiaochun¹

(1. Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

(2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Photovoltaic Science and Engineering, Changzhou 213164, China)

Abstract: Micro-arc oxidation (MAO) and hydrothermal synthesis (HS) methods were used to prepare hydroxyapatite (HA) and anatase TiO₂ composite ceramic coatings on the surface of conventional titanium and large plastic deformed titanium. The cellular compatibility of the modified coatings was evaluated by a cytotoxicity experiment, cell proliferation assay and adhesion behavior of osteoblasts. The results demonstrate that all samples are noncytotoxic. Compared with the composite ceramic coating of conventional titanium, needle-like HA crystallization, which is closer to the Ca/P ratio of natural human bone, appears on the composite ceramic coating surface on large plastic deformed titanium. The composite ceramic coating of large plastic deformed titanium shows smoother and more level surface and could better promote adhesion and spreading of osteoblasts. Optical density of osteoblasts cultured on the composite ceramic coating of large plastic deformed titanium is also significantly higher, and the two-tier growing structure of osteoblasts is more obvious with the progression of cultural time, which implies better optimal cytocompatibility.

Key words: large plastic deformed titanium; micro-arc oxidation (MAO); hydrothermal synthesis (HS); osteoblast; cytocompatibility

Corresponding author: Xu Lin, Ph. D., Center of Micro/Nano Science and Technology, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, P. R. China, Tel: 0086-511-88780173, E-mail: xulin1982@ujs.edu.cn