

电参数对钛微弧氧化膜层理化性能及细胞相容性的影响

徐丰源, 李德超, 孙良庆, 李慕勤

佳木斯大学黑龙江省高校生物医学材料重点实验室, 黑龙江 佳木斯 154007

【摘要】目的:研究纯钛微弧氧化电参数(脉冲宽度及脉冲频率)的改变对膜层表面形貌、理化性能及成骨细胞生物行为的影响。**方法:**对喷砂酸蚀钛片进行微弧氧化处理,通过脉宽及频率的变化,研究其对膜层的表面形貌、摩擦性能、耐腐蚀性等影响,分析得出不同表面形貌所对应的参数条件(脉冲频率400 Hz、脉冲宽度60 μ s微弧氧化组为A组,脉冲频率500 Hz、脉冲宽度60 μ s微弧氧化组为B组,脉冲频率500 Hz、脉冲宽度75 μ s的微弧氧化组为C组),进一步比较在该参数下的微弧氧化膜的耐腐蚀性及成骨细胞在其表面的粘附、增殖情况及细胞形态。**结果:**电镜下3组试件表面均形成粗糙多孔的膜层,且A组纯钛微弧氧化膜表面粗糙度最高;C组所制备的微弧氧化膜层耐腐蚀性能及耐磨性优于A、B两组。细胞粘附及增殖实验A、B、C各组之间差异有统计学意义($P<0.05$),实验表明A组表面成骨细胞粘附及增殖均优于B、C两组。**结论:**脉冲宽度及频率变化对微弧氧化膜层表面生物活性及理化性能均有影响,当脉冲频率400 Hz、脉冲宽度60 μ s时,膜层表面的细胞生长最佳。

【关键词】钛;微弧氧化;脉冲宽度;脉冲频率;细胞相容性

【中图分类号】R318;TB34

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2018)11-1334-05

Effects of electrical parameters on physical and chemical properties and cellular compatibility of micro-arc oxidation coat on titanium

XU Fengyuan, LI Dechao, SUN Liangqing, LI Muqin

Key Biomedical Materials Laboratory of Colleges and Universities in Heilongjiang Province, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China

Abstract: Objective To study the effects of pure titanium micro-arc oxidation parameters (pulse width and pulse frequency) on film surface morphology, physical and chemical properties and biocompatibility of osteoblasts. **Methods** The sandblasted and acid-etched titanium plate was treated with micro-arc oxidation. The surface morphology, friction property and corrosion resistance of the film layer were studied by changing the pulse width and frequency of micro-arc oxidation, thus obtaining the parameters corresponding to different surface topography. The pulse frequency and width of micro-arc oxidation were 400 Hz and 60 μ s in group A, 500 Hz and 60 μ s in group B, and 500 Hz and 75 μ s in group C. The corrosion resistance of the micro-arc oxidation film and the adhesion, proliferation and cell morphology of the osteoblasts on the surface were further analyzed. **Results** Under electron microscope, rough and poriferous film layers were observed on the surface of 3 groups of specimens, and the surface roughness of pure titanium micro-arc oxidation film in group A was the highest. The corrosion resistance and wear resistance of the micro-arc oxidation film in group C were better than those of the micro-arc oxidation film in group A and B. The experiment of cell adhesion and proliferation showed that the differences among groups A, B and C were statistically significant ($P<0.05$), and the adhesion and proliferation of osteoblasts in group A were better than those of osteoblasts in group B and C. **Conclusion** Pulse width and frequency have affects on the surface biological activity and the physical and chemical properties of micro-arc oxidation film layer. With the pulse frequency of 400 Hz and the pulse width of 60 μ s, the cells on the surface of the film layer grow best. **Keywords:** titanium; micro-arc oxidation; pulse width; pulse frequency; cellular compatibility

【收稿日期】2018-05-11

【基金项目】国家自然科学基金(31370979)

【作者简介】徐丰源, 硕士研究生, 研究方向: 口腔种植学, E-mail: 934061241@qq.com

【通信作者】李慕勤, 教授, 博士生导师, 主要研究方向: 生物医学材料表面改性, E-mail: jmsdxlimuqin@163.com; 李德超, 教授, 研究生导师, 主要从事口腔颌面外科与口腔种植学工作, E-mail: Dechaoli2004@163.com

前言

目前, 纯钛因其良好的生物相容性及理化特性, 已大量应用于口腔种植领域^[1]。为了改善种植体与骨组织的早期愈合, 钛表面改性技术得到广泛研究, 近年来钛表面粗化处理成为研究热点^[2]。研究发现, 样品表面的粗糙度和表面形貌在生物材料的生物相容方面起到

重要作用,有助于促进骨形成^[3-4]。微弧氧化技术是在金属表面形成粗化的氧化陶瓷膜,被认为是已开发的表面预处理方法中一种很有发展前途的技术,它能够在钛及钛合金表面形成多孔结构,多孔结构增加钛表面积,从而增加细胞的粘附^[5]。掌握纯钛微弧氧化工艺与膜层表面特征的相关性,对探寻适用于临床的钛表面具有长远的重要意义。纯钛微弧氧化膜在形成过程中受到多种因素的影响,脉宽及频率是主要影响因素^[6]。通过对脉宽及频率的变化,可获得不同尺寸、不同形貌的钛表面,对细胞的增殖、黏附等产生重要影响^[7]。本实验选择3组不同膜层表面所对应的电参数,研究相应纯钛微弧氧化膜的理化性能及细胞活性,通过微弧氧化脉宽、频率的变化,分析得出较优的电参数。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

TA2纯钛(购于西北有色金属研究院),ME3T3-E1细胞(中科院上海细胞库),CCK-8试剂盒(东仁化学科技有限公司),胰蛋白酶(Beyotime),PBS缓冲液(Biotopped), α -MEM培养基(HyClone),Hoechst33342(Beyotime),鬼笔环肽(上海翊圣科技有限公司),TritonX-100(Beyotime),抗荧光淬灭液(碧云天)。蒸器馏水(HS-211-20),培养箱(西蒙公司),扫描电子显微镜(JJSM-6360LV),酶标仪(伯腾),激光共聚焦显微镜(Olympus)。

1.2 钛片的准备

1.2.1 钛片处理 将厚度为1 mm的钛片打孔,再依次用180目、500目砂纸打磨,之后在钛片表面喷涂120目的金刚砂。将装有质量浓度为120 g/mL的氢氧化钠溶液的烧杯放入水浴箱,温度调试至60℃,在钛片穿上铝丝,放入烧杯中浸泡10 min。将试件取出之后放于蒸馏水中超声震荡5 min。配置浓盐酸、浓硫酸及蒸馏水的混合酸溶液,放入水浴锅加热至70℃,再将钛片放入酸溶液中浸泡10 min,重复清洗及超声震荡。配置氢氟酸和硝酸的混合酸溶液,将钛片逐个涮洗,超声清洗5 min,蒸馏水冲洗。配置硅酸盐为主的镀液,将酸蚀后试件进行微弧氧化。电压固定在400 V,分别设定频率400 Hz和脉宽60 μ s、频率500 Hz和脉宽60 μ s、频率500 Hz和脉宽75 μ s,时间5 min。蒸馏水冲洗钛片,自然悬挂晾干。

1.2.2 实验分组 设置脉冲频率400 Hz、脉冲宽度60 μ s的微弧氧化组钛片为A组,脉冲频率500 Hz、脉宽60 μ s的微弧氧化组为B组,脉冲频率500 Hz、脉宽75 μ s的微弧氧化组为C组。

1.3 实验方法

1.3.1 扫描电镜观察和X射线衍射(XRD)分析 选取各组试件,用扫描电子显微镜(SEM)对微弧氧化膜层表面的形貌进行观察和记录。试件表面形貌的观察是将微弧氧化处理后的试件切割成合适尺寸,喷金后再将其放入样品台上的扫描电镜中进行观察拍摄。采用XRD型号为D8-ADVANCE型(德国布鲁特公司),结合不同物质衍射图谱峰强和峰位差异进行分析和测定,用于各种材料的物相鉴定、应力分析等。

1.3.2 摩擦磨损实验 采用SFT-2M型销盘式摩擦磨损试验机(兰州中科凯化科技),在转速300 r/min、转动半径3 mm、加载载荷100 N、试验时间15 min等参数下测试各组试件表面摩擦系数的变化。

1.3.3 膜层耐腐蚀性测试 实验采用IM6e型耐腐蚀性能检测机器(德国),该仪器将试样作为工作电极,腐蚀溶液为9 g/L的NaCl溶液。由于微弧氧化后的纯钛形成致密膜层,可能影响其导电性能,所以实验前用500目的砂纸将微弧氧化钛片的一面膜层磨掉,再用夹具夹好设定参数,检验参数无误后将三电极分别接触好。当膜层的Tafel极化曲线绘画完成后,保存数据并进行图谱数据分析。

1.3.4 细胞黏附实验 选取3组试件,每组3个平行组,紫外线消毒后置于24孔板中。将传代后的小鼠成骨细胞按照 1×10^4 每孔的密度接种到3组试件上,分别放入培养箱中培养4、6、8、10 h。按照预定时间取出孔板,终止培养,弃去培养基,PBS反复冲洗,将无血清培养基和CCK-8溶液按比例混合,每孔加入200 μ L,培养箱中反应2 h。培养结束后,每孔移出100 μ L加入到96孔板内,放入酶标仪测定其OD值,设置波长为450 nm。

1.3.5 细胞增殖实验 分别取3组试件,消毒后置于48孔板中,将传代后小鼠成骨细胞以 5×10^3 个每孔的密度接种到3组试件上,分别培养1、3、5 d。在预定的时间点进行检测,取出孔板,弃去培养基,PBS反复冲洗,将无血清培养基和CCK-8溶液按比例混合,每孔加入200 μ L,培养箱中反应2 h。培养结束后,每孔移出100 μ L加入到96孔板内,放入酶标仪测定其OD值,设置波长为450 nm。

1.3.6 细胞形态观察 将试件置于24孔板内,每孔接种小鼠成骨细胞以 2×10^4 个、培养24 h后取出,弃去废液,PBS反复清洗,加4%多聚甲醛,常温下固定10 min,弃多聚甲醛后再次PBS冲洗,加0.5%Triton-X-100(1 mL/孔),37℃下处理20 min。PBS清洗3次,每孔加入0.5 mL Hoechst33342,室温5 min。PBS清洗3次,将鬼笔环肽等比例稀释后以300 μ L/孔加入孔板,37℃下震荡30 min,弃染液,PBS清洗后加入抗荧光淬灭剂。清洗干净

后,使用激光共聚焦进行检测,观察细胞形态变化。

1.4 统计学方法

本次实验使用的是SPSS 21统计分析软件,数据为细胞粘附及增殖实验CCK-8测的OD值,应用配对 t 检验作比较,各组之间比较使用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 微弧氧化膜层的表面形貌

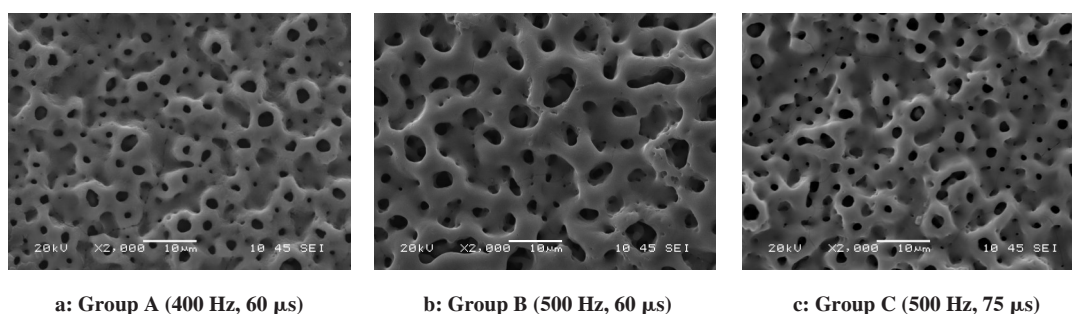


图1 涂层表面SEM形貌

Fig.1 SEM morphology of coating surface

SEM: Scanning electron microscope

2.2 微弧氧化膜层的截面XRD分析

图2是不同电参数处理后微弧氧化膜层相组成的含量。可以看出不同电参数下微弧氧化膜层的组成成分大致相同,主要是由金红石型(Rutile)、钛锐矿型(Anatase) TiO_2 和Ti组成。A组膜层中Rutile和Anatase TiO_2 的含量最少,C组Rutile和Anatase TiO_2 的含量比A组中的含量略多一些。

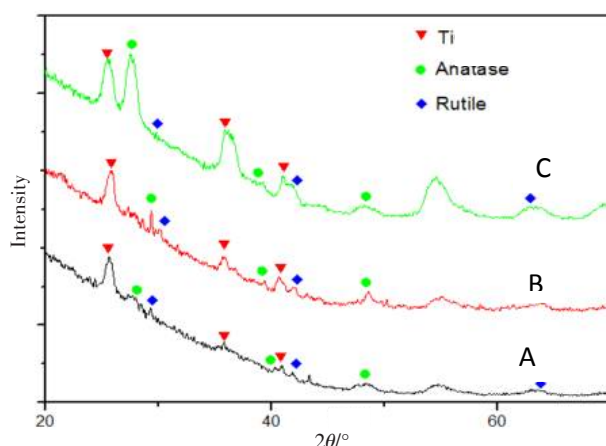


图2 涂层表面XRD分析

Fig.2 X-ray diffraction (XRD) analysis on coating surface

2.3 微弧氧化膜层的粗糙度及耐磨性

3组纯钛合金微弧氧化膜表面粗糙度(R_a)分别为1.906、1.540、1.070 μm 。摩擦系数分析是在不同电

SEM下A组表面可见圆形火山口样凸起,表面不平,孔径较小,部分孔径小于1 μm ;B组可见表面形成明显的网状大孔隙结构,无火山口样凸起,表面相对平坦,孔径较大;C组表面与A组相似,可见火山口样凸起,平均孔径更小,但孔洞与孔洞之间有裂纹产生。图1为电镜下3组不同参数下微弧氧化膜的表面形貌。从图中可以看出,在参数改变后,微弧氧化后孔大小、孔周围的突起均有变化,孔之间的连接形式复杂多样。

参数下得出的数据,用Origin所绘出来的图形,如图3所示。可以根据图中在趋于稳定时的摩擦系数估算3组摩擦系数,其中A组约为0.35、B组约为0.15、C组约为0.05。其中,A组耐磨性能最差,其主要原因是电参数相对脉冲频率小、脉冲宽度小造成微弧氧化生成的陶瓷氧化膜含金红石成分较少(金红石成分含量越高,其陶瓷膜层的耐磨性能越好),C组微弧氧化生成的陶瓷氧化膜含金红石成分比B组含量略多一些,所以陶瓷膜层的耐磨性能也较好。

2.4 电化学腐蚀性能

图4为3组参数下纯钛微弧氧化膜Tafel极化曲线,横轴对应的电流称为腐蚀电流。腐蚀电流的大小能够反应材料的腐蚀速率,电流越大,说明腐蚀速率越快。从图中可知C脉冲频率为500 Hz、脉冲脉宽为75 μs 制备出的陶瓷膜的耐腐蚀性最好,试件的耐腐蚀性能为 $C>B>A$ 。

2.5 MC3T3-E1细胞黏附实验

表1为不同涂层细胞黏附实验OD值统计数据。在各个时间点,3组数值差异都具有统计学意义($P<0.05$)。在10 h时,A、B、C组的吸光度值分别为0.477、0.447、0.408,统计分析表明3组之间数值差异具有统计学意义,说明此时A组细胞粘附的数量高于B、C两组,其他各个时间点对应统计分析结果差异亦具有统计学意义,表明A组早期黏附情况优于B、C组。

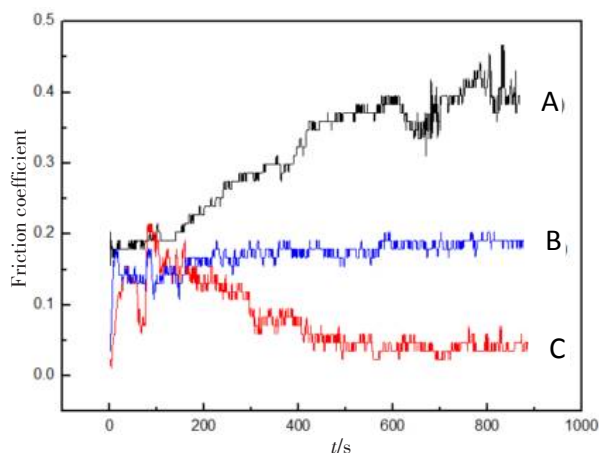


图3 不同电参数下涂层表面摩擦磨损分析

Fig.3 Friction and wear analysis of coating surfaces under different electrical parameters

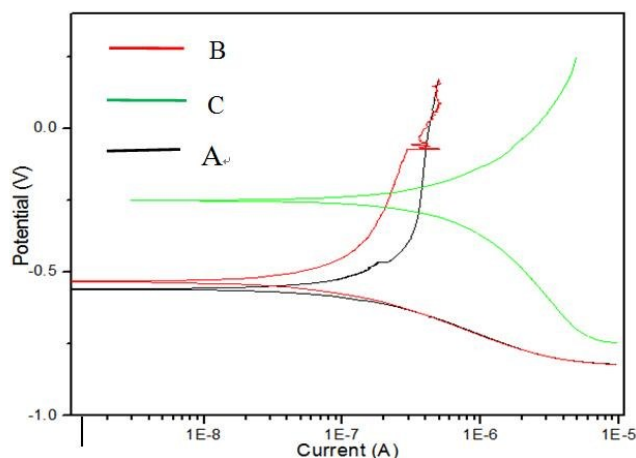


图4 不同电参数下涂层表面耐腐蚀分析

Fig.4 Corrosion analysis of coating surface under different electrical parameters

表1 细胞粘附实验OD值($\bar{x} \pm s$)Tab.1 OD value in cell adhesion experiment (Mean \pm SD)

Group	4 h	6 h	8 h	10 h
A	0.187 \pm 0.015	0.295 \pm 0.004	0.367 \pm 0.047	0.477 \pm 0.003
B	0.188 \pm 0.065	0.254 \pm 0.007	0.346 \pm 0.036	0.447 \pm 0.004
C	0.190 \pm 0.030	0.234 \pm 0.006	0.334 \pm 0.045	0.408 \pm 0.003

2.6 MC3T3-E1 细胞增殖实验

表2为细胞增殖实验OD值统计结果。第1天增殖实验测得的OD值,经过分析表明3组数据之间差异没有统计学意义。第3、5天时A、B、C这3组之间OD值进行比较,结果表明各组在第3、5天时的差异具有统计学意义($P<0.05$)。根据统计分析结果可以间接推断出,第3、5天时A组试件表面细胞增殖状况较另外两组好,第1天各组之间细胞数量没有明显差异,可能是时间较短,试件对细胞增殖影响不明显。

表2 细胞增殖实验OD值($\bar{x} \pm s$)Tab.2 OD value in cell proliferation experiment (Mean \pm SD)

Group	1 d	3 d	5 d
A	0.229 \pm 0.022	0.540 \pm 0.017	0.813 \pm 0.019
B	0.231 \pm 0.008	0.461 \pm 0.010	0.752 \pm 0.016
C	0.214 \pm 0.008	0.361 \pm 0.019	0.578 \pm 0.010

2.7 细胞形态观察

如图5所示,细胞培养24 h后,通过鬼笔环肽荧光染色观察,A组细胞的铺展较好,伪足充分伸展,细胞间关联紧密,互相联通;B组细胞未见明显伪足,细胞间关联不够紧密;C组细胞数量较少,细胞间无紧密联系,形态基本规则。

3 讨论

电参数的改变不仅影响其膜层表面粗糙度,对表面微形态也有较大影响。研究表明钛一定程度的表面粗化,较光滑表面具有更好的细胞活性^[8]。钛表面改性技术目前常用于临床的是喷砂酸蚀技术,能够形成粗化钛表面。本实验在喷砂酸蚀的基础上,进一步进行微弧氧化处理,在不破坏喷砂酸蚀一级表面形貌的基础上形成二级孔洞^[9-10]。已有研究表明在喷砂酸蚀基础上进行微弧氧化不会改变材料表面一级形貌,可形成微纳复合结构^[11]。钛微弧氧化过程受到很多因素的影响,电参数是其主要影响因素之一。由于电参数的改变灵活且较易控制,利于寻找理想表面形貌,其中脉冲电流宽度和脉冲频率在微弧氧化过程中起到重要作用^[12-13]。本实验通过改变脉宽、频率,获得不同形态的微弧氧化膜层,可以看出脉宽及频率对膜层表面形貌均有很大的影响。本实验中脉冲频率增加后,表面膜层的粗糙度下降,钛片微弧氧化后生成的膜层厚度有所增加。膜层中金红石型TiO₂有所增高,耐磨性能得到改善。脉冲宽度对膜层表面性能亦有影响,本实验中脉宽的增加,表面膜层的粗糙度下降,孔的密度变小,并且产生裂纹^[14]。脉宽及频率的改变相互作用,钛片微弧氧化后生成的膜层表面形貌复杂多变。

本实验对3组不同电参数下纯钛微弧氧化膜细胞相容性进行研究,表明较粗糙表面具有更好的生物活性^[15-16]。研究表明粗糙的种植体相对于光滑的种植体表面,更有利于成骨细胞的粘附和增殖,表面形态的改变会影响细胞在膜层表面的附着^[17-18]。相关体内外实验发现,粗糙钛表面能够有效促进成骨细胞的早期黏附与增殖,而且能增强钛与骨组织的结合强度,有助于骨组织达到早期稳定^[19]。细胞染色实验表明表面形貌的改变可能对细胞形态无明显影响,但较粗糙的膜层

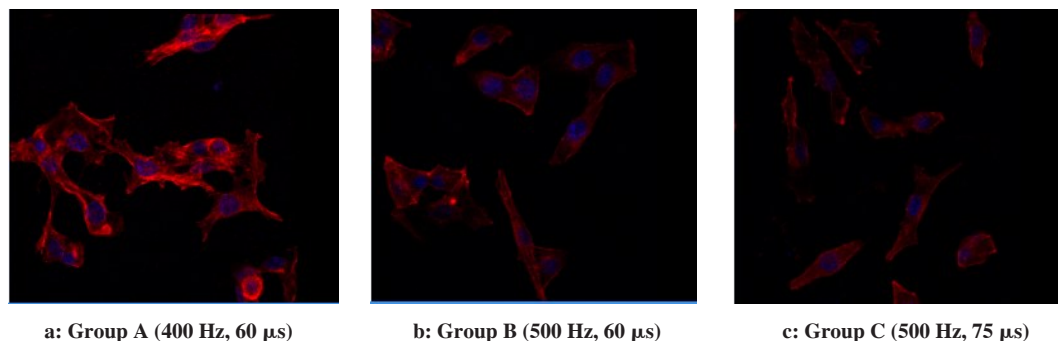


图5 涂层表面细胞骨架形态

Fig.5 Cytoskeleton morphology of cells on the coating surface

表面细胞伪足更多^[20]。或许是由于粗化的表面处理材料表面形成的微纳复合结构,提供了更多的表面接触面积,有利于伪足的附着。

4 结论

脉宽、频率的变化对纯钛微弧氧化膜层的理化性能及生物学性能均有影响,频率400 Hz、脉宽60 μs时,钛表面粗糙度较大,成骨细胞粘附及增殖效果最好,细胞铺展充分,生物活性优异。

【参考文献】

- [1] 郭泽鸿,周磊. 钛种植体表面微弧氧化膜的生物改性研究进展[J]. 口腔颌面外科志, 2007, 17(4): 362-365.
GUO Z H, ZHOU L. Advancement of the study in the surface bio-modification titanium implant using micro-arc oxidation technology [J]. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2007, 17(4): 362-365.
- [2] 李莺,李长义. 钛种植体表面改性策略及对骨整合的影响[J]. 中国组织工程研究, 2013, 29(2): 5395-5402.
LI Y, LI C Y. Titanium implants: strategies on surface modification and effect on osseointegration [J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2013, 29(2): 5395-5402.
- [3] 么远. 纯钛表面不同处理对成骨细胞生长的影响[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2011.
YAO Y. The effect of different treated pure titanium surfaces on the growth of osteoblasts [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2011.
- [4] 范震,贾爽,苏剑生,等. 种植体表面粗糙度对成骨细胞增殖及ALP含量的影响[J]. 口腔颌面外科志, 2009, 19(2): 128-131.
FAN Z, JIA S, SUN J S, et al. Microrough implant surface and osteoblast adhesion [J]. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2009, 19(2): 128-131.
- [5] 荣晖,马凤仓,刘平,等. 微弧氧化工艺对Ti-6Al-4V钛合金表面氧化膜厚度及表面形态的影响[J]. 金属热处理, 2014, 39(12): 23-26.
RONG H, MA F C, LIU P, et al. Effects of micro-arc oxidation process on thickness and surface morphology of oxide film on the surface of Ti-6Al-4V titanium alloy [J]. Heat Treatment of Metals, 2014, 39(12): 23-26.
- [6] 孟庆国,吴汉华,龙北玉,等. 处理频率对TC4钛合金微弧氧化膜特性的影响[J]. 吉林大学学报(理学版), 2007, 45(6): 1011-1014.
MENG Q G, WU H H, LONG B Y, et al. Effects of treatment frequency on characteristics of MAO coatings on TC4 titanium alloy [J]. Journal of Jilin University (Science Edition), 2007, 45(6): 1011-1014.
- [7] 王彦佳,孙荣禄. 钛合金表面微弧氧化技术研究进展及影响因素[J]. 材料导报, 2013, 27(8): 98-102.
WANG Y J, SUN R L. Research progress and effect factors of micro-arc oxidation on titanium alloy [J]. Material Review, 2013, 27(8): 98-102.
- [8] 张扬. 纯钛表面不同处理对骨髓间充质干细胞矿化的影响[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2011.
ZHANG Y. The influence of different treatment for pure titanium surface on the mineralization of marrow mesenchyma stem cell [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2011.
- [9] 严洪海,胡玲华,黄海蓉. 不同粗糙表面的纯钛种植体与骨组织界面剪切强度的评价[J]. 中国口腔种植学杂志, 2008, 13(1): 13-15.
YAN H H, HU L H, HUANG H R. Evaluation of the shearing bond strength of the pure titanium implant with different surface roughness to bone [J]. Chinese Journal of Oral Implantology, 2008, 13(1): 13-15.
- [10] CARDAROPOLI F, ALFIERI V, CAIAZZO F, et al. Manufacturing of porous biomaterials for dental implant applications through selective laser melting [J]. Adv Mater Res, 2012, 535-537(3): 1222-1229.
- [11] 邓飞龙,张佩芬,刘臣汉. 喷砂酸蚀纯钛表面微弧氧化的形态学研究[J]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2010, 4(3): 261-267.
DENG F L, ZHANG P F, LIU C H. Analysis of titanium surface treated with combination of sandblast-acid etching and micro-arc oxidation [J]. Chinese Journal of Stomatological Research (Electronic Edition), 2010, 4(3): 261-267.
- [12] 李兴照. 医用钛合金表面微弧氧化膜层制备工艺及性能的研究[D]. 长春: 长春工业大学, 2016.
LI X Z. Preparation technology and performance of ceramic coatings on biomedical Ti-6Al-4V alloys through micro-arc oxidation [D]. Changchun: Changchun University of Technology, 2016.
- [13] MA C F, LI D M, JIANG B L. Study on surface bio-modification of titanium implant using microarc oxidation technology [J]. Journal of the Fourth Military Medical University, 2004.
- [14] 徐琳. 大变形纯钛材生物陶瓷膜层的制备与生物摩擦学性能研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2014.
XU L. Research on the preparation and bio-tribological properties of bioceramic coating on large plastic deformed titanium [D]. Zhengjiang: Jiangsu University, 2014.
- [15] CHENG S, WEI D Q, ZHOU Y. The effect of oxidation time on the micro-arc titanium dioxide surface coating containing Si, Ca and Na [J]. Procedia Eng, 2012, 27(2): 713-717.
- [16] SADER M S, BALDUINO A, SOARES G D, et al. Effect of three distinct treatments of titanium surface on osteoblast attachment, proliferation, and differentiation [J]. Clin Oral Implants Res, 2005, 16(6): 667-675.
- [17] UEDA M, IKEDA M, OGAWA M. Chemical-hydrothermal combined surfacemodification of titanium for improvement of osteointegration [J]. Mat Sci Eng C, 2009, 29(3): 994-1000.
- [18] WANG N, LI H, LÜ W, et al. Effects of TiO₂ nanotubes with different diameters on gene expression and osseointegration of implants in minipigs [J]. Biomaterials, 2011, 32(29): 6900-6911.
- [19] 李敏,邱憬. 钛表面微形貌影响成骨细胞行为及其分子机制的研究进展[J]. 口腔医学, 2015, 35(3): 596-600.
LI M, QU J. Advances in the effect of titanium surface micro-topography on osteoblast behavior and its molecular mechanism [J]. Stomatology, 2015, 35(3): 596-600.
- [20] 黄静燕,王安训,黄沁,等. 纯钛不同形貌表面对骨髓间充质干细胞体外生物学行为的影响[J]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2017, 11(1): 25-30.
HUANG J Y, WANG A X, HUANG Q, et al. The influence of different titanium topographies on the biological functions of mesenchymal stem cells [J]. Chinese Journal of Stomatological Research (Electronic Edition), 2017, 11(1): 25-30.

(编辑:陈丽霞)