

口腔医学中骨组织工程相关研究的重点与方向

赵士芳,朱赴东,何福明

(浙江大学医学院 附属口腔医院,浙江 杭州 310006)

[摘要] 在口腔医学中,骨组织工程学研究的重点目前主要集中在牵引成骨、骨组织工程以及口腔种植体等几个方面,临床应用前景十分广阔。然而,临床上面临的难题和未知因素还很多,要解决这些难题任重而道远。

[关键词] 口腔疾病;牵引成骨;骨整合;骨组织工程

[中图分类号] R 780.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2006)05-0465-07

在口腔临床治疗中经常面临着由于各种原因所导致的骨缺损,目前采用的自体移植、同种异体移植和人工骨代用品植入等治疗手段尚不尽人意。以组织工程的原理和方法所产生的新型组织工程化细胞型人工骨的出现为这一研究领域带来了生机。目前与口腔医学相关的骨组织工程学研究的重点主要集中在牵引成骨、骨组织工程以及口腔种植体表面改性与促进成骨等几个方面。有些研究在临床已得到初步应用,但面临的难题和未知因素还很多,要解决这些难题仍任重而道远。

1 牵引成骨

牵引成骨(distraction osteogenesis, DO)是矫治牙颌面发育不全及整复颌骨缺损畸形的一个重要手段。目前的研究主要集中在如何缩短牵引成骨的治疗时间以及牙周膜牵引成骨、牙槽嵴牵引成骨等方面。

1.1 缩短牵引成骨治疗时间 临床上一般将牵引成骨分为4期:手术截骨期、延迟期、牵引期和固定期。对于颅面部牵引成骨总的时间约4个月,其中固定期至少占一半以上,在固定期患者仍需戴用牵引器。这在很大程度上影响了患者的正常生活,也是大多数患者不能接受牵引成骨治疗的主要原因。因此,目前在缩短治疗时间方面,主要集中在如何缩短固定期的时间。一项针对狗的研究发现,在牵引成骨的固

定期使用同种重组生长激素(growth hormone, GH),治疗组血清中IGF-I显著增加,并于8~12天达到高峰,骨矿密度(bone mineral density, BMD)较对照组提高,骨的机械强度较对照组增加300%。组织学的研究还发现GH使用6周后大量编织骨在骨牵引的边缘形成^[1]。研究者认为,重组生长激素能有效地促进牵引成骨中新生骨的早期固化,在加速牵引成骨中新生骨形成的同时又能不改变骨痂的微结构^[2]。然而,GH用药过度,可引起甲状腺功能减退;在未成年人全身使用的有效剂量、最佳剂量在牵引成骨的过程中开始使用及结束时间,与牵引成骨结合的效果以及和局部用药结合的效果等方面,还缺乏相应的研究报道。葛巍立、詹静等的研究显示,在牵引成骨过程中BMP、OPG等表达增高^[3-4],这提示是否可以通过局部用药加速其成骨过程。有研究者在动物的牵引模型上使用重组人类BMP-2(recombinant human BMP-2, rhBMP-2)及其赋形剂—可吸收明胶海绵,结果发现使用rhBMP-2 5天后骨矿含量(bone mineral content, BMC)显著增加,28天后

收稿日期:2006-07-23 修回日期:2006-08-08

基金项目:浙江省科技计划重点资助项目(2005C23006) 浙江省自然科学基金(Y205183)。

作者简介 赵士芳(1952-),男,教授,博导,主要从事口腔颌面外科和口腔种植学研究;E-mail:zhasf@zju.edu.cn

骨皮质和骨髓腔较对照组有显著增加,这一研究有力地支持了 rhBMP-2 在缩短牵引成骨治疗时间方面的作用^[5]。朱赴东等^[6]研究证实,NO 能调节骨组织受到机械应力刺激后产生的适应性变化,使用外源性 NO 供体 SNP 能够加速骨的形成。

与全身用药比局部用药剂量较小,安全性高,副作用小,因此局部用药更具应用前景,是缩短牵引成骨治疗过程中主要的研究方向。

除了药物治疗外,比较著名的是通过低强度脉冲超声(low intensity pulsed ultrasound, LIPUS)来加速骨的形成与重建^[7]。据报道,在固定期每天使用 30 mW/cm²、1.5 MHz 的 LIPUS 20 min,3 个月 BMD、BMC 和骨强度指数(bone strength index, BSI)分别增加了 9.18%、83% 和 94%。还有学者试图通过局部注射成骨细胞来提早成骨细胞的出现时间和增加细胞数量,以促进成骨^[8]。

1.2 牙周膜牵引成骨 由于各种原因造成的牙短小却不能进行桩冠修复的牙根,一般的处理方法是将其直接拔除,但上颌牙槽骨在牙齿拔除后的第 1 年便有 40% ~ 60% 的骨组织吸收,严重影响后期修复时种植体的稳定性和唇侧组织的丰满度及美学效果。Liou 等^[9]根据牵引成骨理论经过临床实验提出了牙周膜牵引成骨。在此过程中牙周膜可因受牵张而被拉长,纤维附着的牙槽窝部位的成骨细胞被激活,沉积新骨,形成新的骨组织。然而,在牵引治疗过程中,应施加多大矫治力,目前还没有明确的标准,一般认为牵引安全力量应在 0.98 N 以下。由于在牙周膜垂直牵引中所牵引牙根多数有较重病损,其牙周膜面积、形态学和生理学状况都存在很大差异,所以牵引力值不能一概而论,需因牙而异。一般用较小的力量,放慢牙根牵出的速度,牙龈和牙槽骨的增加会越多。随着骨量的增加,牙龈等软组织会有相应的提升。再则,牙周膜牵引成骨能够获得多少骨量,是否能够获得足够的临床植骨床,各研究者意见还不统一^[10-11],有待进一步研究。对远期预后较差的牙根进行垂直牵引,是改善将要进行种植部位组织形态的可靠方法。牙周膜会因牵引形成新的骨组织,改善口腔内前牙和后牙部位种

植区的组织条件,提高种植体骨性结合的稳固性和美学效果。

1.3 牙槽嵴牵引成骨 牙齿丧失后缺牙区域的牙槽嵴会发生吸收或萎缩,另外,外伤、肿瘤、牙周病等也可造成牙槽嵴缺损。传统修复方法主要是骨移植和引导骨再生(guided bone regeneration, GBR),而近期牵引成骨技术在牙槽嵴修复方面有取代骨移植和 GBR 的趋势。Chin 等^[12]认为,牙槽嵴的牵引成骨与同骨移植和 GBR 相比,其优点在于:①形成新骨的同时伴有软组织的延展;②不必从他处取骨,避免开辟第二术野;③并发症少,避免了移植体和引导膜的暴露;④短期内形成新生天然骨,且新生骨的吸收少;⑤可增高的骨量多,使较长的种植体植入成为可能。牙槽嵴牵引成骨技术与 GBR 孰优孰劣的问题一直有颇多争论,大多认为,牙槽嵴牵引成骨技术的优势主要体现在骨高度的增加上,在种植体的植入成功率方面略胜于 GBR^[13],但在解决牙槽嵴厚度不足方面仍不能取代 GBR。

牙槽嵴牵引成骨技术的普及有待于其牵引器的研制和开发。目前,还没有哪一种牙槽嵴牵引器械得到普遍认可。Iizuka 等^[14]使用的口外牵引器(Medartis V2-Alveolar distractor),能进行二维方向的牙槽嵴牵引,在新生骨组织中能形成大量的高密度矿化骨(约占 78%),并具有多方向复合结构。谢旻等^[15]使用 Ti-Ni 记忆合金制造的牵引器(Ti-Ni SMA),经过 3 ~ 6 个月的牵引后新生骨的 BMD 以及强度完全能够满足种植体植入的要求。此外,还有人使用种植体牵引用于增牙槽嵴厚度方面的探索^[16],经过 10 周的牵引,牙槽嵴高度增加了(8.8 ± 1.0) mm,但是牵引形成的骨皮质显著要比未牵引区域的薄。

随着牙槽嵴牵引成骨技术的逐渐成熟,其应用范围也得到了扩展。Nosaka 等^[17]在水平向牵引增宽牙槽嵴方面作出了积极的探索,有效地改变了牙槽嵴颊舌向骨量不足难以植入种植体的状况。Gaggi 等^[18]在牵张种植体和即刻种植的基础上发展了拔牙后用牵张种植体即刻行牵引成骨,用于因牙周病造成的牙槽嵴萎缩,结果大大缩短了修复时间。Klesper 等^[19]在患

者下颌骨肿瘤切除后行肋骨移植修复下颌骨节段性缺损,同时还进行了剂量为 55.6 Gy 的放疗,术后成功应用牙槽嵴牵引成骨增加了牙槽嵴的高度;Henkel 等^[20]用水平向的牵引成骨来关闭牙槽嵴裂,研究发现能关闭的牙槽嵴裂的临界宽度可以达到 4 mm 以上,最大可以达到 8 mm。这些研究都为颌骨缺损的修复提供了新的思路。

2 骨组织工程

随着组织工程学的迅速发展使得再生组织或器官成为可能。作为组织工程研究的重要领域,骨组织工程研究在多个方面均取得了令人振奋的研究成果,被认为是组织工程中最具有前途和可行性的领域之一。在口腔医学中骨组织工程的研究主要集中在种子细胞的来源和合适的细胞支架材料等几个方面。

2.1 种子细胞 理想的种子细胞要求来源广泛、取材简便、创伤小,具有明确形成骨组织的能力,在体外扩增达到所要求的细胞数量时能保持其成骨表型。成骨细胞是骨组织工程的种子细胞。成骨细胞的来源主要包括自体或异体的骨组织、骨膜、组织干细胞以及胚胎干细胞。

2.1.1 骨组织以及骨膜组织来源的成骨细胞 是研究最早、也是目前最成熟的种子细胞。研究发现,无论是同种还是异种的组织经体外培养后形成的细胞都有很强的分化为成骨细胞的能力,且能与生物材料复合后形成骨组织,为骨缺损的骨组织工程学修复提供临床应用前景。但取材困难、来源局限,限制了其应用。

2.1.2 组织干细胞可能是近期内能够应用于骨组织工程尤其是临床应用的最佳的种子细胞来源。目前比较明确的能够向成骨细胞转化的组织干细胞是骨髓干细胞(bone marrow stem cells, BMSC)^[21],此外,还有脂肪细胞^[22]和脐带基质细胞^[23]。BMSC 作为种子细胞具有来源丰富、取材方便,对机体损伤小的特点;体外培养易分离纯化,多次扩增传代后生物学行为稳定等特性。而且, BMSCs 可以在体外经诱导分化为具有成骨细胞表型的细胞,有活跃的成骨行为,包括分泌骨钙素至钙结节形成、存在 ALP 活性等。

2.2 支架材料 组织工程支架不仅影响种子细胞的生物学特性,而且还决定移植后自身与受体组织的结合。理想的骨组织支架材料应具有以下特点^[24]:①良好的生物相容性;②能满足细胞代谢及组织血管化的理化性能,并具有一定的降解性;③良好的可塑性;④良好的表面活性和骨诱导性,以及负荷最大量细胞的高渗透性;⑤易消毒性。目前研究比较多的支架材料有以下几种。

2.2.1 人工复合材料:各种基质材料单独使用时很难满足骨组织工程的要求,因此将几种单一材料组合,在性能上互相取长补短,形成复合材料。复合材料包括生物性和非生物性材料,如 HA、珊瑚、松质骨基质、无机骨或胶原等。其中,天然珊瑚类似无机骨,具有多孔性和高孔隙率,可生物降解,生物相容性好,无明显免疫源性,符合作为组织工作支架材料的主要性能。但天然珊瑚降解速率过快,使新生骨组织难以保持原支架形态。再者,其孔洞直径大小不均,一般为 200 ~ 300 μm ,直径过小者,不利于细胞的长入。美国的 Interpore[®] 200 和 500 为珊瑚羟基磷灰石(coral hydroxylapatite, CHA),是将珊瑚经水热交换反应,使其由碳酸钙转变为羟基磷灰石,保留了它的高孔隙率,而且具有较高的机械强度,每年只降解 1% 左右,是一类较理想的骨基质替代材料。

2.2.2 纳米材料;利用纳米科技制备的生物材料。Chen 等^[25]研究了在计算机设计的纳米纤维支架上骨前体细胞 MC3T3-E1 的生长情况,结果发现,在纳米纤维支架上的细胞无论在细胞生长状态还是细胞分化程度上都较 PLLA 支架培养的细胞为优。Chowdhury 等^[26]还研究了使用纳米技术制作的多孔生物陶瓷支架,这种材料能在不降低材料刚性的情况下有效地增加其多孔性,有利于细胞的生长。虽然目前纳米材料在骨组织工程中应用才刚刚起步,但毫无疑问,在骨组织工程研究中发展纳米生物材料将是非常有前途的。总之,新型组织工程化细胞型人工骨可有效诱导新骨形成,其修复重建骨缺损的能力优于以往任何类型的人工骨。从减少创伤、痛苦及免疫排斥反应的角度又优于自体 and 异体移植骨。因此,用纳米科技制备

生物材料是未来口腔颌面骨损伤修复重建的理想方法。

3 种植体表面改性与促进成骨

经过长期的临床随访研究,人们已普遍接受粗糙表面带螺纹结构的种植体,认为这种种植体有利于骨结合,特别是以喷砂酸蚀处理形成的粗糙表面更利于引导成骨细胞趋化加速骨结合。然而,近来国内外研究的热点已从表面粗糙度转移到表面化学成分上,而且主要集中在对种植体表面的处理上。将种植体表面附上一层具有生物活性的物质,以诱导骨组织的形成,达到生物化学的结合^[27]。

3.1 具有生物活性的种植体表面的制备

Kokubo 等^[28]认为,钛金属表面钛羟基(Ti—OH)具有诱导钙磷晶体沉积的功能。据此,目前已发展了多种形成表面活化钛方法,如碱热处理、酸碱两步处理、酸处理、 H_2O_2 或 H_2O_2 (或 $TaCl_5$)/HCl、阳极氧化处理、阴极电化学处理、离子注入法、水热处理、预钙化处理以及微弧氧化法等。我们采用喷砂、双重酸蚀技术和双氧水法制备了一种新的生物活性种植体,并对其表面进行了表征^[29]。该种植体表面结合了粗糙表面形貌和生物活性,对骨组织具有双重效应。动物实验结果表明,植入骨内 2 周后其表面可以诱导沉积形成富含钙、磷层,在植入 8 周时表面直接形成矿化的骨组织^[30]。

微弧氧化(micro-arc oxidation, MAO)或微等离子体表面陶瓷化技术,是指在普通阳极氧化的基础上,利用弧光放电增强并激活在阳极上发生的反应,从而在以铝、钛、镁金属及其合金为材料的工件表面形成优质的强化陶瓷膜的方法^[31]。此时形成的 TiO_2 氧化膜不仅是多孔状的,而且与基体粘附牢固。MAO 方法的另一优点是控制电解质溶液的成分和浓度,可使种植体表面层结合钙和磷离子,再通过水热处理,钙和磷离子分别结晶化形成 HA 或者其他的磷酸钙化合物^[32-33]。采用该技术制备的种植体(如多孔 TiUnite 表面),经近 5 年的临床应用已取得良好的疗效^[34-35]。但羟基磷灰石涂层及 TiUnite 表面只有骨传导作用,没有骨诱导作用。为此,有研究者考虑在此基础上通

过改变表面化学成分(加氟离子、镁离子等无机成分)或表面组装上多肽(RGD)、细胞外基质(ECM,如 I 型胶原)等有机物质来促进成骨^[36]。

Habibovic 等^[37]报道,钛合金片经喷砂、低浓度的 HF/HNO₃ 混合液酸蚀处理后浸泡在高浓度的仿生液中,其表面可以快速沉积形成磷灰石涂层。该方法在低温下($<100^\circ\text{C}$)操作,可应用于任何对热敏感的材料如高分子材料;可以形成类似骨组织的磷灰石,具有高生物活性和良好的吸收特性。涂层不受基材形状的限制,可在任何形状或材质的材料上沉积涂层,可与骨诱导生长因子(BMP、IGF、TGF 等)联合应用,可控制晶体的结构,而且操作简单、成本廉价^[37-38]。我们采用 Habibovic 等的喷砂酸蚀方法^[37]处理纯钛片,发现表面可以形成大量的微孔,直径在 200 ~ 700 nm 之间,但表面残留大量的喷砂颗粒,颗粒的形态不规则,大小不等^[29];然后,经 HCl/H₂SO₄ 混合液酸蚀后,钛片表面形成多级微孔的波浪状形貌,看不到任何杂质,有大量纳米级微孔,孔缘较锐利,孔壁可见细小的凹陷,再经仿生快速制备钙磷涂层,表层形成多孔片状结构或细小球形结晶,经 X 射线衍射分析证实为骨样羟基磷灰石^[39-40]。动物实验表明,该涂层在植入动物骨内 8 周后完全被吸收,而且钛基底表面有不同面积的新骨覆盖。目前,这方面研究的热点是钙磷涂层作为骨诱导因子、药物等局部缓释的载体,来达到促进成骨和缩短骨愈合时间的目的。

3.2 具有骨诱导作用的种植体表面的制备

骨形成蛋白(BMP)分子生物学特性及成骨活性决定了其在矫形外科、骨科和口腔科等学科具有潜在的应用前景。目前已将重组人 rhBMP 用于一系列临床前期动物实验和临床实验中,并证明其具有治疗骨缺损的功能。国外多家知名公司正在开发具有骨诱导作用的新型种植体,如 ITI 在开发表面有骨诱导生长因子的种植体^[41-42]。Liu 等报道在钛合金表面沉积钙磷涂层的过程中同时沉积 BMP-2,从而得到全涂层均含生物活性 BMP 的新材料,通过大鼠皮下异位成骨试验证实具有持续的骨诱导和异位成骨作用^[42]。但含骨诱导生长因子的钙磷涂层

种植体需冷藏保存才能保持其生物活性,因此该种植体在生成、运输、保存及临床应用上还是比较困难;而含药物的钙磷涂层种植体可以室温保存。

近来研究显示,双膦酸盐类、他汀类药物可以刺激成骨细胞前体增殖、分化和成骨细胞的成熟,并抑制成骨细胞凋亡^[43-44]。Yoshinari 等报道在钙磷涂层种植体表面固定上双膦酸盐可以有效促进种植体周围骨形成,认为药物释放的时间、持续性等都影响新骨形成,建议药物需逐渐缓慢地释放^[45]。Peter 等^[46]研究认为,等离子喷涂的羟基磷灰石涂层种植体浸泡唑来膦酸后可以提高种植体周围骨组织密度、机械结合强度。但上述方法的缺点还是药物在短时间内爆发性的释放而起不到缓慢持续性的释放。如能制备出表面全钙磷涂层均含药物的纯钛种植体,使局部药物缓慢而持续释放,达到持续的骨诱导作用,这将是一种具有临床应用前景的种植体表面处理技术,为即刻负载种植技术提供了生物材料基础。但还需解决如何将药物组装到涂层中以及最佳药物浓度、涂层的最佳厚度等一系列问题。

References :

- [1] CHO B C, MOON J H, CHUNG H Y, et al. The bone regenerative effect of growth hormone on consolidation in mandibular distraction osteogenesis of a dog model [J]. *J Craniofac Surg*, 2003, 14 (3) : 417-425.
- [2] BAIL H J, RASCHKE M J, KOLBECK S, et al. Recombinant species-specific growth hormone increases hard callus formation in distraction osteogenesis [J]. *Bone*, 2002, 30 (1) : 117-124.
- [3] GE Wei-li, XIE Zhi-jian, HE Jian-feng (葛巍立, 谢志坚, 何剑锋). Expression of c-fos, OPG, OPGL in rabbit mandibular distraction osteogenesis zone [J]. *Journal of Zhejiang University : Medical Sciences* (浙江大学学报 : 医学版), 2006, 35 (5) : 496-500. (in Chinese)
- [4] ZHAN Jing, WU Hui-ling, FENG Jian-ying, et al (詹 静, 吴慧玲, 冯剑颖, 等). Expression of BMP/Smads in rabbit condylar cartilage during mandibular forward positioning [J]. *Journal of Zhejiang University Medical Sciences* (浙江大学学报 : 医学版), 2006, 35 (5) : 485-490. (in Chinese)
- [5] LI G, BOUXSEIN M L, LUPPEN C, et al. Bone consolidation is enhanced by rhBMP-2 in a rabbit model of distraction osteogenesis [J]. *J Orthop Res*, 2002, 20 (4) : 779-788.
- [6] ZHU Fu-dong, ZHAO Shi-fang, TONG Xiao-yan, et al (朱赴东, 赵士芳, 童晓艳, 等). Nitric oxide regulates c-fos expression in osteoblastic cells induced by wall-shear [J]. *Journal of Zhejiang University Medical Sciences* (浙江大学学报 : 医学版), 2006, 35 (5) : 479-484. (in Chinese)
- [7] CHAN C W, QIN L, LEE K M, et al. Low intensity pulsed ultrasound accelerated bone remodeling during consolidation stage of distraction osteogenesis [J]. *J Orthop Res*, 2006, 24 (2) : 263-270.
- [8] RICHARDS M, WINEMAN AS, ALSBERG E, et al. Viscoelastic characterization of mesenchymal gap tissue and consequences for tension accumulation during distraction [J]. *J Biomech Eng*, 1999, 121 (1) : 116-123.
- [9] LIOU E J, HUANG C S. Rapid canine retraction through distraction of the periodontal ligament [J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 1998, 114 (4) : 372-382.
- [10] FABER J, AZEVEDO R B, BAO S N. Distraction osteogenesis may promote periodontal bone regeneration [J]. *J Dent Res*, 2005, 84 (8) : 757-761.
- [11] KAJIYAMA K, MURAKAMI T, YOKOTA S. Gingival reactions after experimentally induced extrusion of the upper incisors in monkeys [J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 1993, 104 (1) : 36-47.
- [12] CHIN M, TOTH B A. Distraction osteogenesis in maxillofacial surgery using internal devices : review of five cases [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 1996, 54 (1) : 45-54.
- [13] CHIAPASCO M, ROMEO E, CASENTINI P, et al. Alveolar distraction osteogenesis vs. vertical guided bone regeneration for the correction of vertically deficient edentulous ridges : a 1-3-year prospective

- study on humans [J]. *Clin Oral Implants Res*, 2004,15(1) 82-95.
- [14] IIZUKA T, HALLERMAN W, SETO I, et al. Bi-directional distraction osteogenesis of the alveolar bone using an extraosseous device [J]. *Clin Oral Implants Res*, 2005,16(6) 700-707.
- [15] XIE M, HU M, LIU H C, et al (谢旻, 胡敏, 刘洪臣, 等). Bone mineral density and biomechanical characters of the augmented alveolar ridge by distraction osteogenesis using Ti-Ni shape memory alloy distractor [J]. *Chinese Journal of Symptomatology (中华口腔医学杂志)*, 2006,41(1) : 49-51. (in Chinese)
- [16] BLOCK M S, GARDINER D, ALMERICO B, et al. Loaded hydroxylapatite-coated implants and uncoated titanium-threaded implants in distracted dog alveolar ridges [J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2000,89(6) :676-685.
- [17] NOSAKA Y, KOBAYASHI M, KITANO S, et al. Horizontal alveolar ridge distraction osteogenesis in dogs :radiographic and histologic studies [J]. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2005,20(6) :337-342.
- [18] GAGGL A, SCHULTES G, RAINER H, et al. Immediate alveolar ridge distraction after tooth extraction--a preliminary report [J]. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 2002,40(2) :110-115.
- [19] KLESPIER B, LAZAR F, SIESSEGGER M, et al. Vertical distraction osteogenesis of fibula transplants for mandibular reconstruction——a preliminary study [J]. *J Cranio-maxillofac Surg*, 2002,30(5) 280-285.
- [20] HENKEL K O, MA L, LENZ J H, et al. Closure of vertical alveolar bone defects with guided horizontal distraction osteogenesis :an experimental study in pigs and first clinical results [J]. *J Cranio-maxillofac Surg*, 2001,29(5) 249-253.
- [21] KASSEM M. Mesenchymal stem cells :biological characteristics and potential clinical applications [J]. *Cloning Stem Cells*, 2004,6(4) 369-374.
- [22] DUDAS J R, MARRA K G, COOPER G M, et al. The osteogenic potential of adipose-derived stem cells for the repair of rabbit calvarial defects [J]. *Ann Plast Surg*, 2006,56(5) 543-548.
- [23] EBLENKAMP M, AIGNER J, HINTERMAIR J, et al. Umbilical cord stromal cells (UCSC) :Cells featuring osteogenic differentiation potential [J]. *Orthopade*, 2004,33(12) : 338-345.
- [24] DI SILVIO L, GURAV N, SAMBROOK R. The fundamentals of tissue engineering :new scaffolds [J]. *Med J Malaysia*, 2004,59 (Suppl B) :89-90.
- [25] CHEN V J, SMITH L A, MA P X. Bone regeneration on computer-designed nano-fibrous scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2006,27(21) : 973-979.
- [26] CHOWDHURY S, THOMAS V, DEAN D, et al. Nanoindentation on porous bioceramic scaffolds for bone tissue engineering [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2005,5(11) : 816-820.
- [27] ALBREKTSSON T, WENNERBERG A. Oral implant surfaces Part 1——review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them [J]. *Int J Prosthodont*, 2004,17(5) :536-543.
- [28] KOKUBO T, KIM H M, KAWASHITA M, et al. Bioactive metals :preparation and properties [J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2004,15(2) :99-107.
- [29] HE F M, ZHAO S S, LIU L, et al (何福明, 赵姗姗, 刘丽, 等). The preparation of the multilevel holes and analyzed on pure titanium surface [J]. *Shanghai Journal of Stomatology (上海口腔医学)*, 2005,14(6) :639-644. (in Chinese)
- [30] HE Fu-ming, CHEN Song, ZHAO Shan-shan, et al (何福明, 陈松, 赵姗姗, 等). Analysis of apposition on differently treated implant surface at early stage of implantation [J]. *Journal of Zhejiang University Medical Sciences (浙江大学学报 医学版)*, 2006,35(5) :472-478. (in Chinese)
- [31] CHIESA R, SANDRINI E, SANTIN M, et al. Osteointegration of titanium and its alloys by anodic spark deposition and other electrochemical techniques :A review [J]. *Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics*, 2003,1 :91-107.
- [32] KIM K H, KWON T Y, KIM S Y, et al. Preparation and characterization of anodized titanium surfaces and their effect on osteoblast responses [J]. *J O-*

- ral *Implantol*,2006,32(1) 8-13.
- [33] SUL Y T, JOHANSSON C, BYON E, et al. The bone response of oxidized bioactive and non-bioactive titanium implants [J]. *Biomaterials*,2005,26(33) 720-6 730.
- [34] SCHUPBACH P, GLAUSER R, ROCCI A, et al. The human bone-oxidized titanium implant interface :A light microscopic, scanning electron microscopic, back-scatter scanning electron microscopic, and energy-dispersive X-ray study of clinically retrieved dental implants [J]. *Clin Implant Dent Relat Res*,2005,7(Suppl 1) S36-S43.
- [35] BALSHI S F, WOLFINGER D J, BALSHI T J. Analysis of 164 titanium oxide-surface implants in completely edentulous arches for fixed prosthesis anchorage using the pterygoma-xillary region [J]. *Int J Oral Maxillofac Implants*,2005,20(6) : 946-952.
- [36] MORRA M. Biochemical modification of titanium surfaces :peptides and ECM proteins [J]. *Eur Cell Mater*,2006,12 1-15.
- [37] HABIBOVIC P, BARRERE F. Biomimetic hydroxyapatite coating on metal implants [J]. *J Am Ceram Soc*,2002,85 517-522.
- [38] YANG Y, KIM K H, ONG J L. A review on calcium phosphate coatings produced using a sputtering process——an alternative to plasma spraying [J]. *Biomaterials*,2005,26(3) 327-337.
- [39] HE F M, LIU L, ZHAO S F, et al(何福明,刘丽,赵士芳,等). Fast formation of biomimetic apatite coatings on pure porous titanium implant's surface [J]. *Journal of Biomedical Engineering* (生物医学工程学杂志). (in Chinese,in press)
- [40] HE F M, CHEN S, LIU L, et al(何福明,陈松,刘丽,等). Experimental study of fast formation of biomimetic apatite coatings on pure titanium surface [J]. *Chinese Journal of stomatology* (中华口腔医学杂志),2006,41(4) 240-241. (in Chinese)
- [41] LIU Y, HUNZIKER, LAYROLLE P, et al. Bone morphogenetic protein 2 incorporated into biomimetic coatings retains its biological activity [J]. *Tissue Eng*,2004,10(1-2) 101-108.
- [42] LIU Y, DE GROOT K, HUNZIKER E B. BMP-2 liberated from biomimetic implant coatings induces and sustains direct ossification in an ectopic rat model [J]. *Bone*,2005,36(5) 745-757.
- [43] FROMIGUE O, BODY J J. Bisphosphonates influence the proliferation and the maturation of normal human osteoblasts [J]. *J Endocrinol Invest*,2002,25 539-546.
- [44] HORIUCHI N, MAEDA T. Statins and bone metabolism [J]. *Oral Dis*,2006,12(2) 85-101.
- [45] YOSHINARI M, ODA Y, INOUE T, et al. Bone response to calcium phosphate-coated and bisphosphonate -immobilized titanium implants [J]. *Biomaterials*,2002,23(14) 2 879-2 885.
- [46] PETER B, PIOLETTI D P, LAIB S. Calcium phosphate drug delivery system :influence of local zoledronate release on bone implant osteointegration [J]. *Bone*,2005,36(1) 52-60.

[责任编辑 黄晓花]