

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2018.07.0770

· 综述 ·

骨科钛植入物表面改性抗感染与促进骨折愈合的研究进展

秦升, 徐凯航, 章浩, 纪方, 唐昊*

海军军医大学(第二军医大学)长海医院创伤骨科, 上海 200433

[摘要] 骨科内植物一旦植入体内, 患者将面临发生感染的风险。感染是骨科内植物植入失败的主要原因之一, 且在开放性骨折手术治疗中较为常见。临床上内固定术后骨折不愈合并不少见, 通常需要二次甚至多次手术干预, 对患者身心及经济造成严重负担。巨噬细胞聚集、活化使其在内植物周围局部浓度增高, 可提高内植物/组织界面免疫功能, 从而发挥预防或治疗感染的作用。此外, 对钛及其合金表面进行改性, 并负载抗生素或生物活性物质, 也可发挥治疗或预防感染及骨折不愈合等作用。本文对目前国内外关于钛及钛合金植入物表面改性的抗感染与促进骨折愈合的研究现状进行综述, 为构建同时具备抗感染与促进骨折愈合能力的骨科植入物材料提供参考。

[关键词] 钛; 纳米管; 表面改性; 抗感染; 骨折愈合

[中图分类号] R 683 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2018)07-0770-05

Surface modification of orthopaedic titanium implant for anti-infection and promoting fracture healing: an update

QIN Sheng, XU Kai-hang, ZHANG Hao, JI Fang, TANG Hao*

Department of Orthopaedic Trauma, Changhai Hospital, Navy Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] Orthopaedic implants in the body brings a high risk of microbial infections. Infection is one of the main reasons for failure of implant in department of orthopaedics, and is more common in open fracture surgery. Fracture nonunion after internal fixations is not rare clinically, and reoperation or even multi-operations are required, which will be a heavy burden for the patients physically, mentally and economically. The aggregation and activation of macrophages can increase the cell count around the implants, which improves the immune function of the implant/tissue interface, thus contributing to prevention or treatment of infection. In addition, surface modification of titanium and its alloys, and loading antibiotics or bioactive substances also play a role in prevention or treatment of infection and nonunion. This review summarizes the current research on anti-infection function and fracture healing promotion in the surface modification of titanium and its alloys, so as to provide references for designing orthopaedic implants with anti-infection and fracture healing promotion functions.

[Key words] titanium; nanotubes; surface modification; anti-infection; fracture healing

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2018, 39(7): 770-774]

感染和骨折不愈合是骨折内固定术后常见的并发症, 一旦发生, 其失败率甚至致残、致死率均会增加。早期诊断内固定术后感染有助于临床医师及时做出决策, 是患者获得有效治疗和功能康复的前提。但早期诊断面临许多挑战, 且至今仍没有公认的诊断标准。此外, 即使获得早期诊断, 患者的治疗效果也差异悬殊。因此设计一种能够预防或治疗感染的内植物材料非常重要。临床上内固定术后骨折不愈合并不少见, 通常需要二次甚至多次手术干预, 对患者身心及经济造成严重负担。对于存

在骨折不愈合高危因素或已经发生骨折不愈合的患者, 提前干预可能会起到预防或有效治疗的作用。通过巨噬细胞聚集、活化, 使其在内植物周围局部浓度增高, 从而提高内植物/组织界面免疫功能, 进而发挥预防或治疗感染作用。此外, 对钛及其合金表面进行改性, 并负载抗生素或生物活性物质, 也可发挥治疗或预防感染及骨折不愈合等作用。本文对目前国内外关于钛及钛合金植入物表面改性的抗感染与促进骨折愈合的研究现状进行综述, 为构建同时具备抗感染与促进骨折

[收稿日期] 2018-02-01 **[接受日期]** 2018-03-28

[基金项目] 军事医学创新工程(16CXZ010). Supported by Military Medical Innovation Project (16CXZ010).

[作者简介] 秦升, 硕士. E-mail: 596646297@qq.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-31161696, E-mail: tanghao1978@163.com

愈合能力的骨科植入物材料提供参考。

1 巨噬细胞在骨科内植物感染中的作用

钛及钛合金是一种理想的骨科植入材料,其耐磨性、抗腐蚀性、力学性能和生物相容性均较好,被广泛应用于骨科内固定手术中^[1]。但所有植入体内的材料均有发生感染的风险,钛及钛合金等内植物表面容易发生感染的原因主要有2个方面:

- (1) 细菌易在内植物表面黏附并形成生物膜;
- (2) 在内植物植入体内的早期,由于内植物/组织界面血管分布少,防御能力低,细菌易入侵从而发生感染。

巨噬细胞广泛存在于人体的多种组织中,在病原体入侵防御中起着重要作用。活化的巨噬细胞可通过吞噬作用杀灭微生物,但巨噬细胞必须聚集到感染或炎症部位才能执行这种固有免疫功能,因此局部必须存在有利于巨噬细胞趋化及浸润的条件。

巨噬细胞在执行免疫应答反应的过程中,受局部微环境的影响可分化为不同的活化表型,从而分泌多种细胞因子,发挥不同的生物学功能。这种在不同微环境中分化为特定活化表型的过程称为巨噬细胞的极化。极化的巨噬细胞是炎症反应的重要细胞成分,具有促进或抑制炎症反应、损伤或修复邻近组织等功能。按照巨噬细胞极化状态对炎症反应促进和抑制作用的不同可将巨噬细胞分为2个亚群,即经典型(M1型)和替代型(M2型)。通常情况下,M1型巨噬细胞由干扰素 γ (interferon γ , IFN- γ)和脂多糖诱导产生,可分泌白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-23、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)等促炎细胞因子,使炎性细胞在局部聚集并促进炎症反应的发生,造成邻近组织损伤;而M2型巨噬细胞主要由IL-4、IL-13等诱导产生,可分泌IL-10、转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)等抗炎细胞因子^[2-3],同时促进邻近细胞增殖和损伤组织修复^[4]。然而Zanier等^[5]研究发现,体内巨噬细胞极化情况远较上述复杂,仍有其他表型的巨噬细胞存在,如M2a型巨噬细胞可促进组织修复,M2b、M2c型可调节免疫反应。除此之外,研究表明间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)能够调节巨噬细胞极化,使M1型巨噬细胞向M2型巨噬细胞转化,当炎症发生时巨噬细胞主要以M1型存在,促进炎症反应,增加吞噬活性;当炎症进展时机体通过免疫调节使巨噬细胞向M2型转

化,修复炎症损伤,抑制促炎细胞因子表达,从而抑制炎症的进展^[6]。同时,M1、M2型巨噬细胞分泌的生物活性物质、生长因子等可以调节MSC向成骨细胞分化,从而促进骨折愈合^[7]。

2 钛表面改性研究

目前具备抗感染能力骨科内植物材料的构建主要是基于抑制细菌黏附、抑制生物膜形成理论设计的,通过释放其抗菌涂层预载的抗生素、防腐剂、银、锌或一氧化氮等抗菌剂而产生抗菌作用^[8]。然而这种设计目前还存在缺点,植入物局部释放抗菌剂可以杀死细菌,但高剂量时可能存在细胞毒性,抑制成骨细胞活性,从而抑制骨折愈合。

如前文所述,钛及钛合金有优秀的力学性能、耐腐蚀性高、细胞毒性低等特点,使其作为骨科植入物得到广泛的应用^[1]。但钛及钛合金植入体内导致并发症也不容小觑。作为内植物材料,钛及钛合金植入体内后会形成一层惰性氧化层,后者具有良好的生物相容性,可减轻局部排异反应,但也可使植入物表面呈现生物惰性,不利于局部骨折愈合,尤其是在开放性骨折中局部细菌感染可导致骨折延迟愈合甚至不愈合^[9]。然而,目前研究在关注骨科植入物材料抗感染能力的同时,难以兼顾其对骨折愈合的促进作用。因此,设计一种新的钛合金植入物材料涂层,在保留钛及钛合金自身优点的同时,能够有效预防或治疗局部感染、骨折延迟愈合或不愈合等并发症,这是目前备受关注的研究方向。

利用物理或化学方法将钛表面纳米化构建局部药物释放体系已经引起学者们的广泛关注。研究表明,与普通钛表面相比,具有纳米管结构的钛表面有利于骨前体细胞的增殖,且可有效抑制细菌生物膜形成^[10]。目前制备纳米管结构的常用材料为二氧化钛。纳米管结构制备工艺简单,通过阳极氧化的电化学方法,将作为阳极的已清洗、抛光的钛和作为阴极的铂片在体积分数为0.005的氟化氢水溶液中氧化,得到具有纳米级管腔样结构的钛表面,其长轴垂直于钛表面。通过调节氧化的电压、时间调控纳米管的孔径及深度,可满足钛纳米管装载不同物质所需合适纳米尺寸的需要^[11-12]。已有学者对具有纳米表面金属钛的生物力学性能进行了研究,认为与普通钛相比,具有纳米表面的钛在性能与组织结构上有所不同,主要表现为强度增高、塑性降低、表面硬度提高、弹性模量降低,可有效改

善其生物力学相容性^[13]。但该纳米材料是通过表面机械研磨处理技术获得,而利用阳极氧化技术制备的具有纳米管表面钛植入物的生物力学特性的变化需要进一步证实。

3 钛表面改性与抗感染

3.1 钛纳米管负载抗生素 Popat 等^[14]利用阳极氧化技术制备具有合适孔径纳米管表面的钛合金,在其表面滴加适量抗生素溶液后,将其置于真空环境中,室温干燥 2 h,重复此过程直至纳米管内装载了预期含量的抗生素。此方法可使内植物负载的抗生素在局部有效释放,使局部药物浓度较全身应用时明显提高,避免全身应用抗生素时为了提高局部药物浓度而加大药物剂量导致的不良反应。

尽管纳米管有良好的载药特性,但单纯载药后其管腔内所载药物的释放速度不可控。内植物植入体内数小时内约有 70% 的药物释放到周围组织,随时间延长所载药物大部分释放,局部药物浓度在短暂升高后逐渐降低,当其降至最低抑菌浓度以下时,残留的细菌有可能再度繁殖,从而发生植入物周围感染;此外,早期药物快速释放可使局部药物浓度过高,产生毒性反应^[15-16]。临床上常见的骨科植入物相关感染往往并非由单一细菌引起,而是由多种致病菌共同作用,因此,单纯应用某一种抗生素往往不能彻底杀灭所有致病菌,可见探索更有效的载药方式或负载更高效的抗菌药物以应对多重细菌感染非常重要。Popat 等^[14]认为庆大霉素抗菌谱广,可杀灭多种细菌,尤其是对革兰阴性菌;同时庆大霉素具有热稳定性,在高压蒸汽灭菌后仍保留抗菌活性,因而可将其作为预防内植物周围感染的常用药物。Feng 等^[17]在纳米管中装载硫酸庆大霉素后,在纳米管表面封堵一层硫酸庆大霉素/壳聚糖复合物薄膜以控制药物释放;与单纯纳米管载药相比,载药后进行表面封堵可显著改变药物释放特征。表面封堵后纳米管的药物释放更缓慢、持续时间更长,明显不同于单纯纳米管载药的早期突释特征。尽管封堵后早期药物释放比例小于单纯载药纳米管,但封堵后药物释放的总量与单纯载药纳米管相差很小,并且在实现抗菌药物缓慢释放的同时使早期局部药物浓度维持在有效抗菌浓度之上。此外,用于封堵的复合物薄膜中,壳聚糖本身也具有抗菌活性,其对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌等均有抑制作用^[18],将壳聚糖与其他抗菌剂联合应用可

杀灭多种细菌,从而发挥预防或治疗感染的作用。但当所装载药物发生改变时,能否继续应用这一复合物薄膜进行表面封堵,以及是否应选择更合适的表面封堵材料,仍是今后的研究方向。

3.2 钛纳米管负载单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)、IL-12 在抗感染治疗中的应用 MCP-1 是趋化因子家族成员,有较强的趋化作用^[19]。MCP-1 通过与 CC 趋化因子受体 2 (CC motif chemokine receptor 2, CCR2) 相互作用诱发趋化功能,可干预单核细胞介导的趋化活性,诱导单核细胞分化,增强抗原递呈细胞 (antigen presenting cell, APC) 递呈抗原,促进生物活性物质分泌,诱导组织细胞增殖等,从而促使炎症局限化,清除病原体。

IL-12 是一种具有广泛生物学功能的生物活性物质,主要由单核-巨噬细胞、树突状细胞等炎性细胞激活后产生,作为一种免疫调节因子,其主要作用于淋巴细胞,在辅助性 T 细胞 (helper T cell, Th) 1 免疫应答中起决定性作用,可有效促进 IFN- γ 等 Th1 类生物活性物质的合成,因此 IL-12 在治疗和预防细菌感染中具有潜在的临床作用^[20]。有学者将 IL-12 装载到骨科内植物纳米涂层中以达到缓释 IL-12 的效果,并发现其可有效降低感染的发生率^[21-22]。这一抗感染机制可能是通过增强 Th 分泌 Th1 型生物活性物质如 IFN- γ ,从而激活巨噬细胞,活化的巨噬细胞进一步产生更多的 IL-12 发挥杀灭致病菌的作用^[23]。

MCP-1、IL-12 等免疫活性物质均为小分子蛋白质,具有蛋白质的共有特性,即对环境变化敏感、稳定性差、体内易降解。相对分子量小于 50 000 的蛋白质在体内快速通过肾脏排泄,从血液循环中清除,故其生物半衰期短,生物利用度低。将这种小分子蛋白质类药物封装于纳米管载体中,构建的药物纳米控释系统具有非常明显的优势: (1) 增加蛋白质类药物的稳定性。纳米管载体以合适的方法将蛋白质类药物包封后,既不影响蛋白质活性,又能有效保护蛋白质免遭降解,维持蛋白质的生物活性; (2) 以可控的方式缓慢释放药物,可避免由于药物突释引起局部药物浓度过高导致的不良反应,且药物控释还可提高生物利用度,减少给药总剂量; (3) 靶向定位于致病组织。在致病组织中持续释放药物,减少药物在其他部位的分布,从而提高疗效,降低毒性^[24-25]。

4 钛表面改性与促进骨折愈合

骨折愈合过程是一个复杂的创伤修复过程,成骨细胞、破骨细胞等多种细胞及生物活性物质参与其中,共同作用完成骨再生过程并恢复原始生物学结构。研究表明,多种生物活性物质如胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)-1、TGF- β 2、血管内皮生长因子等均参与骨折愈合的全过程并发挥重要作用^[26]。

IGF是一种在分子结构上与胰岛素相似的多肽类物质,由骨、软骨等多种组织分泌,其分泌受生长激素调控,是调节骨细胞功能与代谢的重要因子,具有减少骨胶原退化,增加骨质沉积,促进成骨细胞分化、成熟及补充,促进软骨增殖与骨化的功能,在骨折愈合及重建过程中发挥重要作用。IGF包括IGF-1和IGF-2 2种类型。IGF-2的氨基酸序列与IGF-1高度同源,但其成骨活性较IGF-1弱。早期临床研究发现,骨折合并颅脑损伤患者的骨折愈合速度明显快于单纯骨折而无颅脑损伤者,且其X线片显示骨痂过度生长,甚至软组织中可出现异位骨化^[27]。Wildburger等^[28]发现颅脑损伤合并骨折患者血清中IGF-1水平在伤后14周内均高于单纯骨折患者。Wakisaka等^[29]研究发现,给脑外伤老年大鼠局部注射外源性IGF-1后,骨组织成骨细胞数,骨化面积,骨小梁体积、数量及厚度均增加。Wang等^[30]利用基因敲除技术敲除大鼠IGF-1基因后,其胫骨骨折后的愈合速度较正常大鼠减慢。然而,尽管这些生物活性物质来源于体内,有较高生物安全性,但目前关于其促进骨折愈合能力的相关研究仍局限于动物实验和体外实验水平,尚无相关临床报道。

研究发现,与30 nm及200 nm孔径的钛表面相比,100 nm孔径的钛表面更有利于骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cell, BMSC)发挥其生物学活性,具有促进BMSC早期黏附、增殖、成骨分化和骨化等作用^[31]。此外,钛表面进行纳米结构修饰后,其体内生物相容性良好。Popat等^[32]将纳米管材料植入大鼠皮下4周后进行组织分析,发现纳米管表面具有良好的生物相容性及生物安全性。Xia等^[33]对纳米和微米结构表面进行体内外实验研究,发现纳米表面碱性磷酸酶活性更强,纳米表面培养成骨细胞后骨钙素、骨保护素、I型胶原等表达明显增加。

将具有促进骨折愈合能力的生物活性物质装

载于合适孔径的纳米管材料中,表面覆盖封堵膜以使预装载的生物活性物质缓慢释放,从而达到促进骨折愈合的目的,存在理论上的可能性。尽管尚无相关报道,也将是未来的研究方向之一。

5 小结

随着社会经济的发展,车祸、工业事故等造成开放性骨折、骨缺损的发病率逐年上升,骨折内固定术后感染、骨不连等并发症的发生率居高不下,抗感染、促进骨折愈合是目前骨科医师面临的重要问题。通过物理或化学方法,使钛及钛合金等内植物表面发生改性,以利于巨噬细胞趋化及极化,可能达到预防或治疗感染、促进骨折愈合的效果。将MCP-1或IL-12等蛋白质活性药物装载到钛纳米管内实现原位释放,释放的MCP-1可趋化巨噬细胞到特定部位,IL-12刺激局部机体自然防御系统,间接提高修饰后的钛对细菌的免疫能力,达到预防钛内植物感染的效果。此外,将合适的抗生素及IGF-1、TGF- β 2等生物活性物质利用类似方法加载于纳米管内,也可起到促进骨折愈合的作用,但需要进一步研究证实。

[参考文献]

- [1] DURMUS N G, WEBSTER T J. Nanostructured titanium: the ideal material for improving orthopedic implant efficacy[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2012, 7: 791-793.
- [2] MOORE L B, SAWYER A J, CHAROKOPOS A, SKOKOS E A, KYRIAKIDES T R. Loss of monocyte chemoattractant protein-1 alters macrophage polarization and reduces NF κ B activation in the foreign body response[J]. *Acta Biomaterialia*, 2015, 11: 37-47.
- [3] MANTOVANI A, BISWAS S K, GALDIERO M R, SICA A, LOCATI M. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling[J]. *J Pathol*, 2013, 229: 176-185.
- [4] HUME D A. The many alternative faces of macrophage activation[J/OL]. *Front Immunol*, 2015, 6: 370. doi: 10.3389/fimmu.2015.00370.
- [5] ZANIER E R, PISCHIUTTA F, RIGANTI L, MARCHESI F, TUROLA E, FUMAGALLI S, et al. Bone marrow mesenchymal stromal cells drive protective M2 microglia polarization after brain trauma[J]. *Neurotherapeutics*, 2014, 11: 679-695.
- [6] FREYTES D O, KANG J W, MARCOS-CAMPOS I, VUNJAK-NOVAKOVIC G. Macrophages modulate the viability and growth of human mesenchymal stem cells[J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114: 220-229.

- [7] MA Q L, ZHAO L Z, LIU R R, JIN B Q, SONG W, WANG Y, et al. Improved implant osseointegration of a nanostructured titanium surface via mediation of macrophage polarization[J]. *Biomaterials*, 2014, 35: 9853-9867.
- [8] GOODMAN S B, YAO Z, KEENEY M, YANG F. The future of biologic coatings for orthopaedic implants[J]. *Biomaterials*, 2013, 34: 3174-3183.
- [9] DONLAN R M. Biofilms and device-associated infections[J]. *Emerg Infect Dis*, 2001, 7: 277-281.
- [10] LIN W T, TAN H L, DUAN Z L, YUE B, MA R, HE G, et al. Inhibited bacterial biofilm formation and improved osteogenic activity on gentamicin-loaded titania nanotubes with various diameters[J]. *Int J Nanomedicine*, 2014, 9: 1215-1230.
- [11] NARENDRAKUMAR K, KULKARNI M, ADDISON O, MAZARE A, JUNKAR I, SCHMUKI P, et al. Adherence of oral streptococci to nanostructured titanium surfaces[J]. *Dent Mater*, 2015, 31: 1460-1468.
- [12] MINAGAR S, WANG J, BERNDT C C, IVANOVA E P, WEN C. Cell response of anodized nanotubes on titanium and titanium alloys[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2013, 101: 2726-2739.
- [13] 张保华,张小农. 纳米结构钛的生物力学性能研究[J]. *医用生物力学*, 2007, 22: 282-286.
- [14] POPAT K C, ELTGROTH M, LATEMPA T J, GRIMES C A, DESAI T A. Decreased *Staphylococcus epidermis* adhesion and increased osteoblast functionality on antibiotic-loaded titania nanotubes[J]. *Biomaterials*, 2007, 28: 4880-4888.
- [15] QIN H, CAO H, ZHAO Y, ZHU C, CHENG T, WANG Q, et al. *In vitro* and *in vivo* anti-biofilm effects of silver nanoparticles immobilized on titanium[J]. *Biomaterials*, 2014, 35: 9114-9125.
- [16] RATHBONE C R, CROSS J D, BROWN K V, MURRAY C K, WENKE J C. Effect of various concentrations of antibiotics on osteogenic cell viability and activity[J]. *J Orthop Res*, 2011, 29: 1070-1074.
- [17] FENG W, GENG Z, LI Z, CUI Z, ZHU S, LIANG Y, et al. Controlled release behaviour and antibacterial effects of antibiotic-loaded titania nanotubes[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2016, 62: 105-112.
- [18] KAYA M, BARAN T, ASAN-OZUSAGLAM M, CAKMAK Y S, TOZAK K O, MOL A, et al. Extraction and characterization of chitin and chitosan with antimicrobial and antioxidant activities from cosmopolitan Orthoptera species (Insecta)[J]. *Biotechnol Bioprocess Eng*, 2015, 20: 168-179.
- [19] SUN W, LI W J, WEI F Q, WONG T S, LEI W B, ZHU X L, et al. Blockade of MCP-1/CCR4 signaling-induced recruitment of activated regulatory cells evokes an antitumor immune response in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 37714-37727.
- [20] HAMZA T, BARNETT J B, LI B. Interleukin 12 a key immunoregulatory cytokine in infection applications[J]. *Int J Mol Sci*, 2010, 11: 789-806.
- [21] LI B, JIANG B, DIETZ M J, SMITH E S, CLOVIS N B, RAO K M. Evaluation of local MCP-1 and IL-12 nanocoatings for infection prevention in open fractures[J]. *J Orthop Res*, 2010, 28: 48-54.
- [22] LI B, MCKEAGUE A L. Emerging ideas: interleukin-12 nanocoatings prevent open fracture-associated infections[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2011, 469: 3262-3265.
- [23] LI B, JIANG B, BOYCE B M, LINDSEY B A. Multilayer polypeptide nanoscale coatings incorporating IL-12 for the prevention of biomedical device-associated infections[J]. *Biomaterials*, 2009, 30: 2552-2558.
- [24] BYSELL H, MÅNSSON R, HANSSON P, MALMSTEN M. Microgels and microcapsules in peptide and protein drug delivery[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63: 1172-1185.
- [25] TAN M L, CHOONG P F, DASS C R. Recent developments in liposomes, microparticles and nanoparticles for protein and peptide drug delivery[J]. *Peptides*, 2010, 31: 184-193.
- [26] EINHORN T A. The cell and molecular biology of fracture healing[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1998(355 Suppl): S7-S21.
- [27] KUSHWAHA V P, GARLAND D G. Extremity fractures in the patient with a traumatic brain injury[J]. *J Am Acad Orthop Surg*, 1998, 6: 298-307.
- [28] WILDBURGER R, ZARKOVIC N, LEB G, BOROVIC S, ZARKOVIC K, TATZBER F. Post-traumatic changes in insulin-like growth factor type 1 and growth hormone in patients with bone fractures and traumatic brain injury[J]. *Wien Klin Wochenschr*, 2001, 113(3/4): 119-126.
- [29] WAKISAKA A, TANAKA H, BARNES J, LIANG C T. Effect of locally infused IGF- I on femoral gene expression and bone turnover activity in old rats[J]. *J Bone Miner Res*, 1998, 13: 13-19.
- [30] WANG T, WANG Y, MENENDEZ A, FONG C, BABEY M, TAHIMIC C G, et al. Osteoblast-specific loss of IGF1R signaling results in impaired endochondral bone formation during fracture healing[J]. *J Bone Mineral Res*, 2015, 30: 1572-1584.
- [31] 许志强,黄斯佳,贺于奇,邹耿森,邱著文,陈江. 不同管径二氧化钛纳米管对骨髓间充质干细胞生物学行为的影响[J]. *口腔医学研究*, 2017, 33: 737-741.
- [32] POPAT K C, LEONI L, GRIMES C A, DESAI T A. Influence of engineered titania nanotubular surfaces on bone cells[J]. *Biomaterials*, 2007, 28: 3188-3197.
- [33] XIA L, FENG B, WANG P, DING S, LIU Z, ZHOU J, et al. *In vitro* and *in vivo* studies of surface-structured implants for bone formation[J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 4873-4881.