

羟基磷灰石表面修饰人工角膜钛支架的生物相容性：电镜观察***

李朝辉¹, 黄一飞¹, 马 骁¹, 黄靖香², 崔福斋³

Biocompatibility of hydroxyapatite surface modified titanium skirt for keratoprosthesis: Scanning electron microscopy observation

Li Zhao-hui¹, Huang Yi-fei¹, Ma Xiao¹, Huang Jing-xiang², Cui Fu-zhai³

Abstract

BACKGROUND: Keratoprosthesis surgery may be alternative in patients with corneal blindness of both eyes. Currently, researches for improving biocompatibility between the keratoprosthesis and the host tissue to achieve biological healing are predominant.

OBJECTIVE: To evaluate the biocompatibility of hydroxyapatite surface modified titanium skirt for keratoprosthesis by scanning electron microscopy.

METHODS: The bioactive hydroxyapatite coating was prepared on pure titanium for keratoprosthesis by an acid-alkali chemical pretreatment. The fibroblasts of rabbit cornea at 4 to 6 passages were directly seeded on hydroxyapatite modified titanium surfaces, pure titanium surfaces and glass surfaces. Cell adhesion, proliferation and morphology were detected at 3, 24, 48, 72 hours by scanning electron microscopy. A total of 18 normal New Zealand white rabbits were randomly divided into two groups. Skirt of hydroxyapatite modified titanium and pure titanium were implanted into the right eye corneal stroma of rabbits for 6 and 12 weeks, respectively. The growth and adhesion of the corneal tissue on the surface of skirt were examined by scanning electron microscopy.

RESULTS AND CONCLUSION: The *in vitro* experiment showed that, cells on hydroxyapatite modified titanium surfaces had greater spreading area and longer stress fibers than that on the pure titanium at 3 and 24 hours. Both hydroxyapatite modified titanium and pure titanium were superior to glass surface. The number of viable cells was the highest on hydroxyapatite modified titanium surfaces ($P < 0.05$). At 72 hours, hydroxyapatite modified titanium surfaces were totally covered by collagen. The *in vivo* experiment showed that, the extracellular matrix deposited well on the surface of hydroxyapatite modified titanium, tightly adhered with hydroxyapatite. The pure titanium was only covered with corneal tissues. Hydroxyapatite surface modification could improve the biocompatibility of pure titanium skirt for keratoprosthesis.

Li ZH, Huang YF, Ma X, Huang JX, Cui FZ. Biocompatibility of hydroxyapatite surface modified titanium skirt for keratoprosthesis: Scanning electron microscopy observation. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(29): 5346-5350. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景：人工角膜是双眼角膜盲患者复明的希望，提高人工角膜材料的生物相容性使人工角膜与宿主角膜达到生物愈合是目前人工角膜的研究方向。

目的：扫描电子显微镜观察羟基磷灰石表面修饰能否增加人工角膜纯钛支架的生物相容性。

方法：采用酸碱两步预处理法在人工角膜钛支架表面快速沉积羟基磷灰石涂层。将第4~6代兔角膜基质成纤维细胞直接接种于羟基磷灰石修饰的钛支架、纯钛支架及玻璃表面，3，24，48，72 h后，扫描电子显微镜观察材料表面的细胞黏附，伸展及增殖情况；将18只正常新西兰白兔随机分为2组，于右眼角膜基质层内分别植入羟基磷灰石修饰的钛支架、纯钛支架，术后6，12周取出人工角膜支架，扫描电子显微镜观察材料表面角膜组织贴附生长状态。

结果与结论：体外实验显示，细胞接种3 h和24 h后，细胞扩展面积及细胞张力丝长度：羟基磷灰石修饰的钛支架>玻璃>纯钛表面，羟基磷灰石修饰的钛支架表面的活细胞数多于其他材料表面($P < 0.05$)。72 h后，羟基磷灰石修饰的钛支架表面完全被胶原覆盖。体内实验显示，扫描电子显微镜观察羟基磷灰石修饰的钛支架表面细胞外基质生长良好，与羟基磷灰石贴附紧密。而纯钛支架仅为角膜组织简单包裹。说明人工角膜纯钛支架经羟基磷灰石表面修饰后，其生物相容性增加。

关键词：人工角膜；羟基磷灰石；钛；表面改性；生物相容性；扫描电子显微镜

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.29.007

李朝辉，黄一飞，马骁，黄靖香，崔福斋. 羟基磷灰石表面修饰人工角膜钛支架的生物相容性：电镜观察[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(29):5346-5350. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

全球因角膜病而致盲的患者约有4 000万^[1]。角膜移植是其主要复明手段，但对于角膜植床高度血管化、严重干眼上皮角化，Stevens-Johnson综合征(SJS)，眼瘢痕性类天疱疮(OCP)及眼化学

烧伤等严重的角膜病，角膜移植成功率几乎为零，令人遗憾的是，这些患者中以青壮年双眼盲居多。人工角膜可能成为这类患者最终复明的希望。人工角膜多由透明中心镜柱及支架两部分组成，中心镜柱为光学区，支架植入病变角膜层间起固定作用。

目前本院临床上应用的MICOF人工角膜是

以钛金属作为支架材料的, 从已实施的临床病例看, 4~72个月的复明率为93%^[2], 但钛作为生物安全性种植体材料, 植入体内后的反应为非特异及随机性的, 有时会被纤维组织包裹从而与宿主组织隔离^[3], 临床使用中存在着人工角膜移位、漏水、排出等问题^[2]。为使人工角膜材料与宿主角膜组织融为一体, 其不仅仅需具备生物安全性, 更要具备良好的生物活性。表面修饰法是目前最常用的提高材料表面活性的方法^[4], 羟基磷灰石(HA)作为优越的表面修饰材料广泛应用于口腔科及骨科等, 但尚无应用于人工角膜的报道。

本实验拟将羟基磷灰石作为修饰材料固定到人工角膜钛支架表面, 以新西兰白兔为实验对象, 通过体内和体外实验, 观察表面修饰后能否提高钛支架的生物相容性。

1 材料和方法

设计: 观察对照实验。

时间及地点: 实验于2006-11/2008-02在解放军总医院眼科实验室完成。

材料:

实验动物: 健康雌性新西兰白兔17只, 普通级, 体质量2.5 kg(由解放军总医院动物房提供, 合格证号SCXK-2006)。实验过程中对动物的处置符合2006年科学技术部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》^[5]。

主要试剂及仪器:

主要试剂及仪器	来源
商用纯钛箔(纯度 99.5%)	宝鸡市钛星金属有限公司
高糖 DMEM 培养基、胰蛋白酶、II 型胶原酶干粉	Sigma 公司
速眠新 II 号	长春军事医学科学院军事兽医研究所
胎牛血清	北京亨圣马生物技术研究所
NAPCO 5410CO ₂ 孵育箱	美国 NAPCO 公司
超净工作台	天津医药净化设备厂
FS2011 型眼科手术显微镜	德国 Muller 公司
日立 S-2250N 扫描电镜	日本日立公司
眼科显微手术器械	苏州明仁医疗器械有限公司

实验方法:

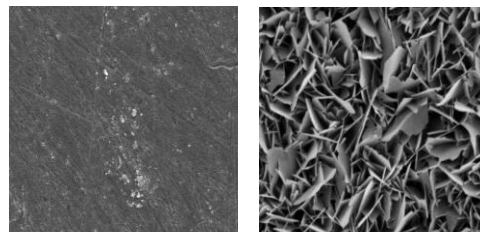
人工角膜支架的制备: 采用电火花机床切割 0.13 mm 厚的钛箔, 手工制作人工角膜襻, 钢珠控制支架的曲率。设计制备曲率半径为 8 mm

的三襻式人工角膜支架共 80 片(图 1)。选择 40 片通过酸碱两步法在钛表面制备厚度约 30 μm 羟基磷灰石涂层^[6](图 2), 由清华大学材料工程学实验室完成; 其余 40 片未经任何处理。所有样品在实验前均经超声清洗, 高温高压消毒以备用。

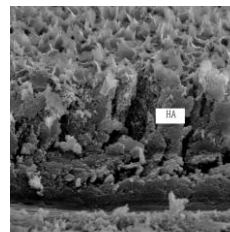


a: Pure titanium skirt b: Hydroxyapatite modified titanium skirt

Figure 1 Skirt of keratoprosthesis
图 1 人工角膜支架大体观



a: Pure titanium face b: Hydroxyapatite surface



c: Hydroxyapatite cutting face

Figure 2 Surface and cutting face texture of titanium and hydroxyapatite coating (Scanning electron microscope, ×2 000)

图 2 扫描电子显微镜下钛表面、羟基磷灰石涂层表面及其断层形态(×2 000)

体外实验:

直接接触法观察细胞的黏附和增殖: 直接接触法即将细胞直接接种到生物材料表面进行培养。取 1 只新西兰白兔采用胶原酶消化法原代培养角膜成纤维细胞^[7], 第 4~6 代角膜成纤维细胞用于实验。实验样品分 3 组: HA-Ti 组、Ti 组、盖玻片组(作为正常对照组), 每组 32 个样品。将受试样品放入 12 孔板中, 每孔放置一个样品, 接种 6.3×10^4 个角膜成纤维细胞到材

解放军总医院, 眼科, 骨科研究所, 北京市 100853; ³清华大学材料科学与工程系, 北京市 100084

李朝辉★, 男, 1965 年生, 山东省蓬莱市人, 1999 年解放军总医院毕业, 硕士, 副主任医师, 主要从事眼前节的基础和临床工作。zhaohuili650@hotmail.com

通讯作者: 黄一飞, 教授, 博士, 博士生导师, 解放军总医院眼科, 北京市 100853

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2010)29-05346-05

收稿日期: 2010-02-14
修回日期: 2010-05-11
(20091214003/M · Y)

料表面, 分别于培养后的3, 24, 72, 144 h取出8个样品行扫描电子显微镜观察细胞的形态。

扫描电子显微镜标本的制作流程: 取出样品, PBS溶液漂洗后, 2.5%戊二醛固定, PBS溶液漂洗, 1%锇酸4℃下固定1.0~2.0 h, 梯度丙酮脱水, 乙酸异戊酯替代, 室温下六甲基二硅胺烷干燥, 喷金, 日立S-2250N扫描电镜观察和摄片。

体内实验:

动物分组: 16只正常新西兰白兔按随机分组原则分为HA-Ti支架组、Ti支架组, 每组8只。

手术操作: 16只新西兰白兔经速眠新II号(0.3 mL/kg)肌肉注射麻醉后, 在眼科手术显微镜下, 于右眼角膜缘内2 mm处做平行角膜缘的角膜板层切口, 长6 mm, 深为角膜全层的1/2~2/3; 以角膜板层刀分离角膜板层制成直径8.0~9.0 mm的角膜板层口袋, 并尽量使其位于角膜中央。于角膜板层口袋内植入HA-Ti或Ti支架。角膜切口以10-0尼龙线间断缝合两针。术后给予0.5%金霉素眼膏连续涂眼3 d。7 d后拆除角膜缝线。

扫描电子显微镜检查: 术后6, 12周实验动物速眠新II号肌注麻醉后, 在手术显微镜下沿支架边缘作角膜切口, 板层刀分离支架周围的角膜组织, 取出支架, 置40 g/L多聚甲醛(pH7.2, 4℃, 现配)固定, 行扫描电子显微镜检查, 标本的制作流程同上。

主要观察指标: ①角膜成纤维细胞在HA-Ti支架及Ti支架表面的黏附、伸展及增殖情况。②新西兰白兔角膜组织与人工角膜支架界面的生物愈合情况。

设计、实施、评估者: 实验设计为第一作者及通讯作者, 实施为第一、二、三作者, 均受过动物实验培训。实验评估者为专业统计人员, 采用盲法实施统计及评估。

统计学分析: 实验数据采用SPSS 16.0统计软件包进行分析, 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 3组之间比较采用F检验及单因素方差分析。 $P < 0.05$ 作为显著性检验标准。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 实验选用的大白兔17只, 1只用于细胞培养, 其余16只分为2组用于体内实验, 无脱失, 全部进入结果分析。

2.2 扫描电镜观察材料表面的细胞伸展增殖情况 角膜成纤维细胞接种3 h后, HA-Ti表面即有细胞黏附。接种24 h后, 细胞伸展情况: HA-Ti > 盖玻片 > Ti。接种48 h后, 扫描电镜观察发现HA-Ti表面的细胞扩展面积最大, 细胞张力丝最长(图3)。扫描电子显微镜($\times 200$)观察支架表面黏附的细胞计数: HA-Ti > 盖玻片 > Ti, 见表1, 细胞接种6 d后, HA-Ti表面布满胶原, 细胞被覆

盖已不可见。

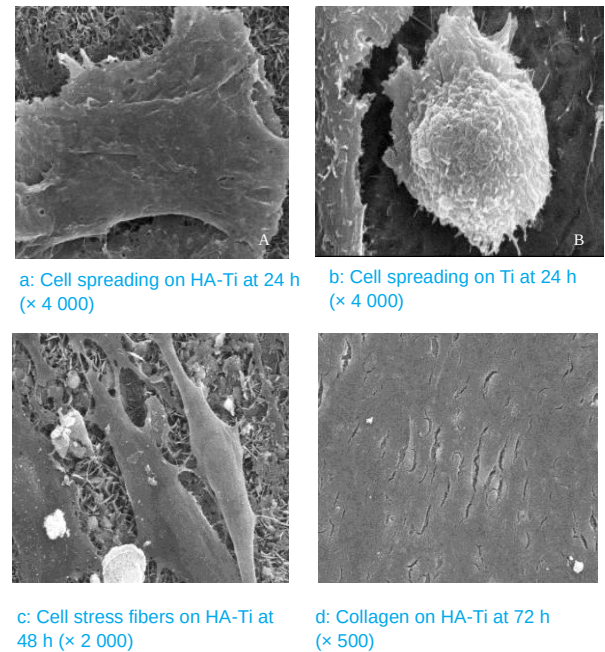


Figure 3 Cell spreading on HA-Ti and Ti under scanning electron microscopy

图3 扫描电子显微镜下细胞伸展情况

表1 HA-Ti、Ti及盖玻片表面黏附的角膜成纤维细胞数目
Table 1 Corneal fibroblasts counts on HA-Ti, Ti and glass surfaces ($\bar{x} \pm s$, $n=8$, cells per 200-fold visual field)

Group	Time after seed (h)		
	3	24	48
Glass	10.50 $\pm$ 1.07	39.15 $\pm$ 2.12	62.34 $\pm$ 1.12
HA-Ti	17.63 $\pm$ 1.19 ^{ab}	52.33 $\pm$ 2.45 ^{ab}	89.51 $\pm$ 2.12 ^{ab}
Ti	6.13 $\pm$ 0.64 ^a	26.75 $\pm$ 1.37 ^a	49.32 $\pm$ 2.02 ^a

^a $P < 0.05$, vs. glass group; ^b $P < 0.05$, vs. Ti group; HA: hydroxyapatite; Ti: titanium

2.3 人工角膜支架植入后临床观察 术后7 d内出现不同程度的畏光、流泪、分泌物增多, 7 d后, 症状消失。观察期内支架均稳定存留, 无角膜溃疡、坏死融解及支架脱出发生, 见图4。

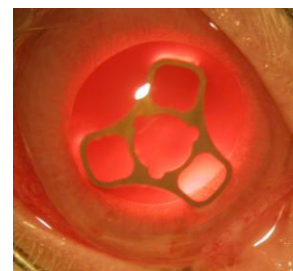
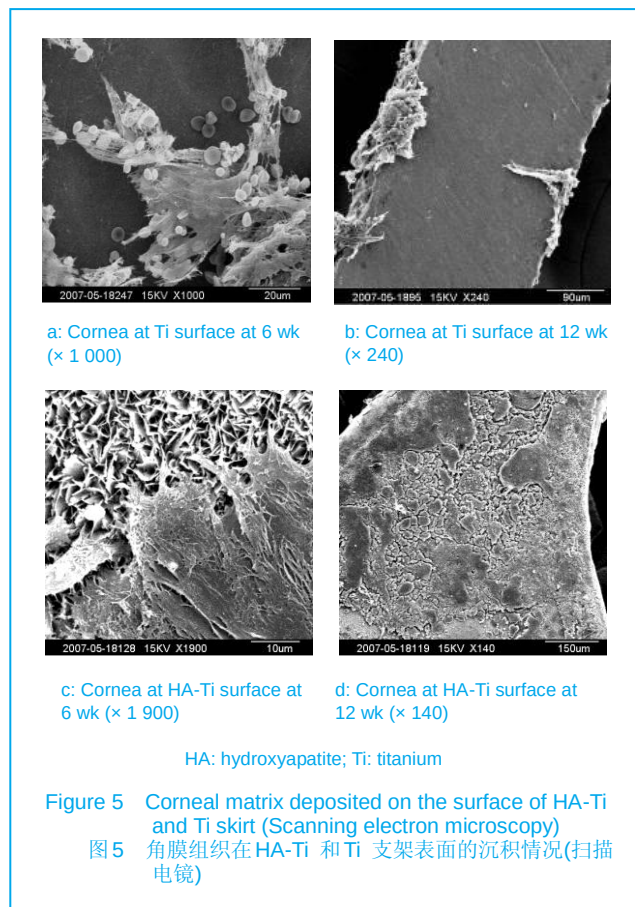


Figure 4 One month after skirt of keratoprosthesis was inserted into the corneal stroma

图4 人工角膜支架植入兔角膜层间术后1个月

2.4 扫描电镜观察支架表面的角膜组织生长情况 术后6周, Ti支架表面可见细胞及细胞外基质附着, 但数量少并呈简单贴附生长(图5a); 术后12周, Ti支架表面细胞数目减少, 支架表面仍大部分呈裸露状态, 局部区域可见少量角膜组织包裹Ti支架, Ti/角膜界面未真正愈合(图5b)。术后6周, HA-Ti支架表面可见角膜成纤维细胞跨越HA微孔表面向孔内生长, 角膜组织呈爬行生长并已连接成片(图5c), 12周后HA-Ti支架表面已大部分被密集的眼膜细胞外基质及细胞紧密抓附覆盖, HA-Ti/角膜界面粘连紧密, 愈合良好(图5d)。



3 讨论

临床中使用的人工角膜(Kpro)支架材料, 如合金、PMMA、HEMA、PTFE等, 生物活性差, 与宿主角膜的结合多是简单的黏附, 因而Kpro难以在眼内长期稳定的存留^[8]。调节材料的生物活性使其能与角膜牢固结合, 融为一体已成为人工角膜进一步发展的方向^[9-10]。

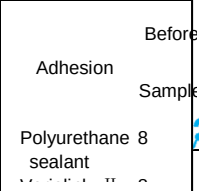
羟基磷灰石作为优良的生物功能性材料, 已广泛应用于整形外科、骨科及牙科等并取得了巨大成功。羟基磷灰石作为表面修饰材料, 其促间质干细胞黏附和伸展的能力优于其他修饰材料如纤维粘连蛋白、玻璃粘连蛋白及精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp, RGD短肽)序列等^[11-12], 基于此, 在作者研究中, 使用羟基磷灰石

对Kpro钛支架进行表面修饰以提高其生物活性, 并取得了预期效果: 与纯钛相比, HA-Ti更能促进角膜成纤维细胞在其表面的黏附伸展及增殖分化, HA-Ti与角膜组织的黏附更紧密牢固。

对于研究与宿主组织融为一体的材料来讲, 细胞黏附和细胞扩散是非常重要的参数。Kpro植入宿主角膜后引发的反应首先发生在Kpro材料表面, 材料表面性质直接影响细胞的黏附伸展, 而细胞在支架材料表面的黏附伸展又将影响Kpro在角膜内的稳定性。作者研究中发现, 角膜成纤维细胞接种3 h后, HA-Ti表面即有少量细胞黏附, 细胞伸展良好呈梭形。Ti表面偶见细胞黏附, 细胞未展开呈圆形。这与Matsuura等^[13]在成骨细胞中的观察结果一致。Matsuura等^[13]认为HA-Ti表面的细胞黏附伸展优于Ti的原因可能是HA-Ti和Ti在血清中吸附的蛋白成分不同。实验发现, HA-Ti吸附的是富含RGD序列的纤维粘连蛋白和玻璃粘连蛋白^[14-16]; 而Ti吸附的则是含有少量RGD序列和唾液酸残基的其他蛋白多糖和糖蛋白。纤维粘连蛋白和玻璃粘连蛋白是最重要的促进细胞黏附的蛋白, 通过其含有的RGD序列(整合素配体)与成骨细胞表面的 αV 整合素发生结合从而间接促使细胞黏附于材料表面。但角膜成纤维细胞与成骨细胞的细胞型不同, 羟基磷灰石促角膜成纤维细胞的黏附伸展是否也是通过纤维粘连蛋白、玻璃粘连蛋白与整合素相互作用的这一经典途径, 需进一步探讨。

细胞黏附伸展是其后续细胞增殖及分化的前提条件^[17], 其中, 黏附后的细胞是否伸展更是调节细胞增殖的关键^[18]。作者研究发现, 细胞接种24 h后, HA-Ti表面的细胞伸展度优于Ti表面, 48 h和72 h后其表面的细胞增殖度也明显快于Ti。理论上讲, 角膜成纤维细胞黏附后会分泌大量细胞外基质, 从而加快Kpro/角膜组织的界面愈合过程, 促进Kpro与角膜基质的生物整合^[19]。体内实验的观察结果证实了这一点: 在Ti支架植入组, 宿主角膜的胶原纤维环绕于Ti支架表面, 扫描电镜证实这些环绕的角膜组织与钛表面的结合仅是简单的贴附, 与钛作为口腔种植体时, 牙龈纤维与钛的结合情况相似。这种简单的附着在眼睑和眼球运动等外力作用下将可能发生分离。因此临床中MICOF人工角膜植入眼内后会发生人工角膜移位及漏水等并发症。而在HA-Ti支架植入组, 扫描电镜见角膜成纤维细胞跨越HA微孔表面向孔内生长, HA-Ti支架表面大部分被密集的眼膜细胞外基质及细胞紧密抓附, HA-Ti与角膜组织界面愈合良好。研究发现生物陶瓷从体内排出的难度是钛排出的10倍, 其原因即是生物陶瓷与体液接触后在其表面形成了一层羟基磷灰石, 从而限制了其排出^[20]。

纯羟基磷灰石脆性大、质硬、可塑性差^[21], 单独作为人工角膜支架时无法承受眨眼时眼睑对角膜的加压, 易发生碎裂。而采用牙齿及骨头等(主要成分为羟基磷灰



石)作为支架材料(如Osteo-odonto人工角膜)又存在骨质吸收问题^[22],将羟基磷灰石涂覆到钛支架表面制成复合材料,可使其兼有羟基磷灰石的生物活性和金属较强的力学性能。为临床改良MICOF人工角膜提供了新方法。

4 参考文献

- [1] Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP. Corneal blindness: a global perspective. Bull World Health Organ. 2001;79(3):214-221.
- [2] Huang YF,Wang DJ,Wang LQ.Zhonghua Yanke Zazhi. 2007; 43(4): 297-302.
黄一飞,王大江,王丽强. 人工角膜在治疗严重化学烧伤眼中的研究[J]. 中华眼科杂志,2007,43(4):297-302.
- [3] Das K, Bose S, Bandyopadhyay A. Surface modifications and cell-materials interactions with anodized Ti. Acta Biomater. 2007; 3(4): 573-585.
- [4] Puleo DA, Nanci A. Understanding and controlling the bone-implant interface. Biomaterials. 1999;20(23-24):2311-2321.
- [5] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30.
中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30.
- [6] Wang LY,Wang XP,Cui FZ.Shengwu Guke Cailiao yu Linchuang Yanjiu. 2007;4(1):49-51.
王乐耘,王小平,崔福斋. 钛合金经酸碱两步预处理快速沉积HA涂层[J]. 生物骨科材料与临床研究,2007,4(1):49-51.
- [7] Ma X,Li ZH,Huang YF,et al. Hydroxyapatite modified titanium promotes superior adhesion and proliferation of corneal fibroblast in comparison with pure titanium. International Journal of Ophthalmology. 2007;7(1):6-9.
- [8] Ciolino JB, Dohlman CH. Biologic keratoprosthesis materials. Int Ophthalmol Clin. 2009;49(1):1-9.
- [9] Sandeman SR, Lloyd AW, Tighe BJ,et al. A model for the preliminary biological screening of potential keratoprosthetic biomaterials. Biomaterials. 2003;24(26):4729-4739.
- [10] Liu C, Hille K, Tan D,et al. Keratoprosthesis surgery. Dev Ophthalmol. 2008;41:171-186.
- [11] Viitala R, Franklin V, Green D,et al. Towards a synthetic osteo-odonto-keratoprosthesis. Acta Biomater. 2009;5(1):438-452.
- [12] Kilpadi KL, Sawyer AA, Prince CW,et al. Primary human marrow stromal cells and Saos-2 osteosarcoma cells use different mechanisms to adhere to hydroxylapatite. J Biomed Mater Res A. 2004;68(2):273-285.
- [13] Matsuura T, Hosokawa R, Okamoto K,et al. Diverse mechanisms of osteoblast spreading on hydroxyapatite and titanium. Biomaterials. 2000;21(11):1121-1127.
- [14] Na K, Kim SW, Sun BK,et al. Osteogenic differentiation of rabbit mesenchymal stem cells in thermo-reversible hydrogel constructs containing hydroxyapatite and bone morphogenic protein-2 (BMP-2). Biomaterials. 2007;28(16):2631-2637.
- [15] Turhani D, Weissenböck M, Stein E,et al. Exogenous recombinant human BMP-2 has little initial effects on human osteoblastic cells cultured on collagen type I coated/noncoated hydroxyapatite ceramic granules. J Oral Maxillofac Surg. 2007;65(3):485-493.
- [16] Kilpadi KL, Chang PL, Bellis SL. Hydroxylapatite binds more serum proteins, purified integrins, and osteoblast precursor cells than titanium or steel. J Biomed Mater Res. 2001;57(2):258-267.
- [17] Bigi A, Bracci B, Cuisinier F,et al. Human osteoblast response to pulsed laser deposited calcium phosphate coatings. Biomaterials. 2005;26(15):2381-2389.
- [18] Ghosh K, Ingber DE. Micromechanical control of cell and tissue development: implications for tissue engineering. Adv Drug Deliv Rev. 2007;59(13):1306-1318.

- [19] Patel S, Thakar RG, Wong J,et al. Control of cell adhesion on poly(methyl methacrylate). Biomaterials. 2006;27(14):2890-2897.
- [20] Sletteberg O, Høvdig G, Bertelsen T. Keratoprosthesis. I. Results obtained after implantation of 12 one-piece prostheses. A retrospective, follow-up study. Acta Ophthalmol (Copenh). 1990; 68(4):369-374.
- [21] Zhao J, Lu X, Duan K,et al. Improving mechanical and biological properties of macroporous HA scaffolds through composite coatings. Colloids Surf B Biointerfaces. 2009;74(1):159-166.
- [22] Michael R, Charoenrook V, de la Paz MF,et al. Long-term functional and anatomical results of osteo- and osteodonto-keratoprosthesis. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2008;246(8):1133-1137.

来自本文课题的更多信息——

基金资助: 中国人民解放军十五课题(01MA109), 课题名称: 一体式人工角膜研制及实验研究; 中国人民解放军十一五课题(06MA281), 课题名称: 复合人工角膜研制及应用研究。

致谢: 感谢北京市钟表公司的陆玉杰在人工角膜制备过程中提供的帮助; 感谢清华大学材料科学与工程系的王乐云同学在制备人工角膜羟基磷灰石涂层过程中提供的帮助。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

课题的意义: MICOF 人工角膜是目前临床中常用的人工角膜,其支架材料为钛金属。但钛作为常用的种植体材料,生物活性不足,难以与宿主角膜组织达到生物愈合。植入物引发的生物反应首先发生在宿主组织/材料界面,提高材料的表面活性将有助于材料及组织的生物整合。羟基磷灰石作为优越的表面修饰材料已广泛应用于口腔科及骨科等,但尚无应用于人工角膜的报道。基于此,本实验拟将羟基磷灰石作为修饰材料固定到人工角膜钛支架表面,以新西兰白兔为实验对象,通过体内和体外实验,观察表面修饰后是否能提高钛支架的表面活性,为临床改良 MICOF 人工角膜提供新方法。

课题评估的“金标准”: 实验主要观察羟基磷灰石表面修饰的人工角膜纯钛支架的生物相容性。对于研究与宿主材料融为一体材料来讲,目前没有公认的“金标准”,细胞的黏附,扩散及增殖是评价的重要参数,本实验通过扫描电子显微镜观察这些指标。

设计或课题的偏倚与不足: 由于实验时间较短,不能进一步观察人工角膜在眼内的长期存留情况。另外,本实验采用的新西兰白兔其角膜修复愈合能力优于人类,不能完全反映人工角膜植入人类角膜后的情况。

提供临床借鉴的价值: 在人工角膜钛金属表面采用酸碱两步法制备羟基磷灰石涂层,技术成熟,其制备的涂层厚度仅约 30 μm ,临床中植入带涂层的人工角膜,手术无难度,对临床改良 MICOF 人工角膜提供了新方法,有可行性。