

纳米银与纳米羟基磷灰石混合填塞对即刻种植骨结合的作用

郑宇¹, 李冰婷², 王俐杰¹, 樊世锋¹, 侯晓薇¹ (1河北医科大学第三医院口腔内科修复科, 河北省石家庄市 050000; 2韶关市口腔医院修复科, 广东省韶关市 512000)

文章亮点:

1 现今, 防治种植体周围炎的重点集中在局部药物缓释系统的应用上。局部药物缓释系统可直接作用于病变部位, 在局部维持较高药物浓度, 同时保持较低的血药浓度, 避免全身系统用药的不良反应。目前的骨植入型局部药物缓释系统主要负载四环素、万古霉素等抗生素, 但随着耐药菌株的增多, 其药效受到不同程度的限制; 并且受目前技术的限制, 不能达到药物长期稳定释放; 还有研究表明部分抗生素的种类及浓度会影响局部骨组织的生长。所以研发一种更好的药物, 使抗菌、缓释、骨诱导、骨传导达到较完美结合成为目前研究的重点和热点。

2 实验将纳米银与纳米羟基磷灰石混合, 制成新型骨替代材料, 用于填塞兔上下切牙即刻种植时的拔牙窝, 发现纳米银与纳米羟基磷灰石混合植骨有更好的抗菌作用、生物相容性和骨诱导能力, 能够加快骨结合, 促进成骨, 较单纯使用纳米羟基磷灰石效果好。

关键词:

生物材料; 纳米材料; 纳米银; 纳米羟基磷灰石; 骨结合; 即刻种植; 生物相容性; 骨诱导

主题词:

硬羟基磷灰石; 纳米结构; 骨整合; 组织工程

基金资助:

2011 年度留学人员科技活动资助项目

郑宇, 女, 1989 年生, 河北省石家庄市人, 汉族, 河北医科大学在读硕士, 主要从事口腔修复专业。

通讯作者: 侯晓薇, 主任医师, 河北医科大学第三医院口腔内科修复科, 河北省石家庄市 050000

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2015)47-07649-06

稿件接受: 2015-09-20

http://www.crter.org

摘要

背景: 纳米银具有显著的抗菌性能, 纳米羟基磷灰石具有良好的生物活性及机械强度, 将两者混合既可促进骨形成又具有抗菌性能。

目的: 观察纳米银与纳米羟基磷灰石混合填塞在即刻种植骨结合过程中的作用。

方法: 拔除 9 只新西兰大白兔上下颌 4 个切牙后, 随机分为实验组 ($n=6$) 与对照组 ($n=3$), 实验组在拔牙窝内填塞纳米银与纳米羟基磷灰石混合物, 对照组在拔牙窝内填塞纳米羟基磷灰石, 两组均即刻植入钛螺钉。植入后 4, 8, 12 周取完整上下颌骨标本, 进行大体观察、扭矩实验测试、X 射线骨密度分析及组织学观察。

结果与结论: 实验组不同时间点的新生骨灰度值、最大扭矩值均高于对照组 ($P < 0.05$)。植入 12 周内, 实验组成骨速度及新生骨组织成熟度均高于对照组, 且始终无炎细胞浸润; 对照组植入 4 周时可见大量炎细胞浸润, 植入 8 周时仍可见少量炎细胞。表明纳米银与纳米羟基磷灰石混合植骨有更好的抗菌作用、生物相容性和骨诱导能力, 能够加快骨结合, 促进成骨, 较单纯使用纳米羟基磷灰石效果好。

郑宇, 李冰婷, 王俐杰, 樊世锋, 侯晓薇. 纳米银与纳米羟基磷灰石混合填塞对即刻种植骨结合的作用[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(47):7649-7654.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.47.019

Effect of nanosilver and nanohydroxyapatite mixed filling on osseointegration of immediate implants

Zheng Yu¹, Li Bing-ting², Wang Li-jie¹, Fan Shi-feng¹, Hou Xiao-wei¹ (1Department of Oral Medicine Prosthodontics, the Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China; 2Department of Prosthodontics, Stomatological Hospital of Shaoguan City, Shaoguan 512000, Guangdong Province, China)

Zheng Yu, Studying for master's degree, Department of Oral Medicine Prosthodontics, the Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Abstract

BACKGROUND: Nanosilver has significant antibacterial properties, and nanohydroxyapatite has good biological activity and mechanical strength, while their mixture cannot only promote bone formation but also have antibacterial properties.

OBJECTIVE: To observe the effect of nanosilver and nanohydroxyapatite mixed filling on the osseointegration of immediate implants.

METHODS: Nine New Zealand white rabbits were randomly divided into experimental group ($n=6$) and control group ($n=3$) after four incisors from the upper and lower jaw were extracted. The mixture of nanosilver and nanohydroxyapatite was filled into the tooth socket in the experimental group, while nanohydroxyapatite was filled into the tooth socket in the control group. Titanium screw was immediately implanted into both groups. The intact

Corresponding author: Hou Xiao-wei, Chief physician, Department of Oral Medicine Prosthodontics, the Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Accepted: 2015-09-20

maxilla and mandibular specimens were harvested at the 4th, 8th, and 12th weeks after operation. Gross observation, X-ray bone density analysis, torque test and histological observation were conducted.

RESULTS AND CONCLUSION: The gray value and maximum torque value of regenerated osseous tissue at different time points in experimental group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). Within 12 weeks of implantation, the bone formation rate and maturity of new bone tissue were higher in the experimental group compared with the control group, and no inflammatory cell infiltration occurred. At the 4th week after implantation, there was a large amount of inflammatory cell infiltration, and few inflammatory existed at the 8th week after implantation. These results demonstrate that compared with nanohydroxyapatite alone, the mixture of nanosilver and nanohydroxyapatite shows better antibacterial effect, biocompatibility and osteoinductive ability, which may accelerate osseointegration and promote osteogenesis.

Subject headings: Durapatite; Nanostructures; Osseointegration; Tissue Engineering

Funding: the Science and Technology Foundation for Overseas Students in 2011

Zheng Y, Li BT, Wang LJ, Fan SF, Hou XW. Effect of nanosilver and nanohydroxyapatite mixed filling on osseointegration of immediate implants. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2015;19(47):7649-7654.

0 引言 Introduction

近年来, 随着口腔种植技术的不断成熟发展, 骨组织替代材料解决了由于各种原因引起的牙种植体植入区骨量不足问题, 使得口腔种植修复逐渐成为牙列缺损甚至牙列缺失的首选修复方式。如何控制术后感染, 减少种植体周围炎发生, 提高种植修复成功率成为种植治疗中的热点及难点。种植体与周围骨组织之间无牙周膜, 炎症一旦发生将在种植体周围扩展迅速, 造成种植体周围骨吸收, 稳定性下降, 最终导致种植失败。研究表明, 种植体周围炎最主要的致病菌是以牙龈卟啉单胞菌、具核梭杆菌等为主的革兰阴性厌氧杆菌。

现今, 防治种植体周围炎的重点集中在局部药物缓释系统的应用上。局部药物缓释系统可直接作用于病变部位, 在局部维持较高药物浓度, 同时保持较低的血药浓度, 避免全身系统用药的不良反应。目前的骨植入型局部药物缓释系统主要负载四环素、万古霉素等抗生素, 但随着耐药菌株的增多, 其药效受到不同程度的限制; 并且受目前技术的限制, 不能达到药物长期稳定释放; 还有研究表明部分抗生素的种类及浓度会影响局部骨组织的生长^[1-2]。所以研发一种更好的药物, 使抗菌、缓释、骨诱导、骨传导达到较完美结合成为目前研究的重点和热点。

纳米银抗菌剂为这一命题提供了新的研究方向。国内外大量研究已证实纳米银具有较强的抗菌性^[3], 尤其对于口腔领域而言更是如此, 张晟等^[4]证实纳米银对牙龈卟啉单胞菌的抗菌率高88.47%。除此之外, 纳米银还具有以下优点: ①安全性高: 纳米银在纳摩尔或微摩尔浓度即表现出强烈的抗菌性^[5-6], 对哺乳动物的毒性较低且并发症少^[6]。②持久性好: 纳米银负载于壳聚糖等载体上可持续释放出AgO, 维系较为恒定的银浓度^[7-8]。③广谱抗菌^[6]: 纳米银能够有效抑制包括真菌在内的650余种致病菌^[4, 9-11], 甚至可杀死HIV-1病毒^[6]。④不易产生耐药性^[12]。纳米羟基磷灰石作为临床商品化的骨组织工程支架材料^[13], 具有良好生物活性及优越的机械性能, 与骨组织结合良好^[14]。本实验旨在将纳米银与纳米羟基磷灰石混合, 制成新型骨替代材料, 用于填充兔上下切牙即

刻种植时的拔牙窝, 探讨其促进骨结合和增强种植体抗菌性能的作用, 为临床制备更有效植骨材料提供实验依据。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 于2015年5至9月在河北医科大学第三医院动物实验室、实验中心完成。

1.3 材料

实验动物: 成年健康新西兰大白兔9只, 普通级, 雌雄不拘, 体质量2.5-3.5 kg, 购于河北医科大学动物实验中心, 许可证号: 1405120。随机抽取6只兔作为实验组, 另3只作为对照组。

主要药品: 纳米银(上海超威纳米科技有限公司); 纳米羟基磷灰石(北京德科岛金科技有限公司)。

实验器械: 钛螺纹钉(2.0 mm×10 mm); 南韩打磨机STRONG 90型; Minray口内牙片机(芬兰SOREDEX公司); DIGORA Optime牙片数字成像系统(芬兰SOREDEX公司); BOSE electroforce 3220-AT(美国BOSE公司)。

1.4 实验方法

纳米银与纳米羟基磷灰石混合物的制备: 使用漩涡混合器将10 g纳米羟基磷灰石与0.1 g纳米银粉末均匀混合, 制备出纳米银浓度为1%的纳米银与纳米羟基磷灰石混合物, 待用。

动物模型制作: 局麻下, 分4次磨除所有兔双侧上下颌切牙至唇侧1/2, 每隔1周磨除1次。全麻下拔除兔上下颌4个切牙后, 实验组填充纳米银与纳米羟基磷灰石混合物于新鲜拔牙窝内, 对照填充单纯纳米羟基磷灰石于新鲜拔牙窝内, 两组即刻种植钛螺纹钉, 缝合。

取材: 植入后第4, 8, 12周, 采用空气栓塞法处死分别实验组动物2只、对照组1只, 并获取双侧上下颌颌骨标本, 去除表面附着组织, 将标本置于体积分数10%中性甲醛溶液中, 保存于4 °C冰箱中, 备用。

1.5 主要观察指标

大体观察: 观察手术后兔一般情况及是否存在伤口感

染现象。获取标本后, 观察钛螺纹钉有无松动、脱落等情况, 探针探查周围骨组织结合情况。

X射线检测骨密度: 采用平行投照法对各组标本拍摄X射线片, 观察拔牙窝内新生骨密度及钛螺纹钉与周围骨组织结合情况。通过Digora Optime影像扫描仪将X射线片转换成数字成像导入电脑中, 使用DFW口腔应用软件对拔牙窝内新生骨情况进行观察, 采集图像上骨密度的细微变化, 测量钛螺纹钉周围新生骨灰度值, 以灰度值表示其密度高低, 灰度值越大骨密度越高。

每标本于钛螺纹钉第1, 5, 10螺纹上下1 mm处取6个点测量该处灰度值, 并将6点平均值作为该标本钛螺纹钉周围骨组织的平均灰度值。该软件设定完全投射区灰度值为0, 完全阻射为256。

扭矩测试: 制作特殊的夹持工具, 以检测台下方夹子固定带有钛螺纹钉标本的夹具, 上方与测试仪传感器连接的夹子固定钛螺纹钉螺丝刀, 测试仪缓缓旋转, 施加扭力直到钛螺纹钉松动, 自动记录运动中的扭矩值。把过程数据转入Microsoft Office Excel制作旋转角度-扭矩相关散点图, 散点图上扭矩峰值为该螺纹钉松动时的扭矩值, 用此值代表螺纹钉与骨的结合力。将同一时间两组钛螺纹钉的扭矩峰值进行 t 检验, 比较同一时间段两组骨结合力是否有差异。

组织学观察: 将骨组织切片(厚度5 μm)进行苏木精-伊红染色, 分别在40倍、100倍光学显微镜下观察种植体周围新骨生长、矿化及纤维组织、血管等的生长情况等。

1.6 统计学分析 采用SPSS 19.0统计分析软件对最大扭矩值、灰度值进行统计。数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 并将结果进行两独立样本 t 检验分析。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 9只兔均进入结果分析。

2.2 大体观察 9只兔术后活动正常, 实验组伤口干燥, 无红肿、无瘻管; 对照组伤口见轻微渗出、化脓及感染现象。实验组术后1周伤口一期愈合, 对照组术后2周伤口达到一期愈合。

实验组钛螺纹钉均无松动、脱落现象, 钛螺纹钉周围骨组织紧密包绕, 探针不能探入。对照组植入4周时钛螺纹钉部分松动, 但并未脱落, 钛螺纹钉周围骨组织与钛钉之间存在缝隙, 探针可探入; 植入8, 12周时钛螺纹钉无松动, 钛螺纹钉周围存在骨组织包绕, 探针不能探入。

2.3 骨密度分析 实验组各时间点钛螺纹钉周围骨组织的灰度值均高于对照组($P < 0.05$), 见表1。

2.4 扭矩测试 实验组各时间点的最大扭矩值均高于对照组($P < 0.05$), 见表2。

2.5 组织学观察

植入后4周: 实验组拔牙窝内钛螺纹钉周围区域内可见新生血管, 成骨较活跃, 骨陷窝形成, 成骨细胞较多, 单

层成骨细胞在新生骨小梁周围紧密排列, 可见为数不多的编织骨形成, 骨小梁排列疏松, 呈网状排列; 对照组可见大量纤维组织, 新生血管稀疏量少, 可见大量炎性细胞浸润, 骨小梁较实验组散在分布, 纤细, 成骨细胞较少, 见图1。

植入后8周: 实验组拔牙窝内钛螺纹钉周围可见大量腔内充满血液的新生血管, 成骨较4周更为活跃; 成骨细胞数目明显减少, 骨小梁较4周密集, 粗大, 部分骨小梁融合成岛状; 对照组新生血管较实验组少, 骨小梁仍较稀疏、纤细, 仅有少量岛状新生骨, 周围仍可见少量炎细胞, 成骨细胞数目减少, 骨成熟度明显低于实验组, 见图2。

植入后12周: 实验组拔牙窝钛螺纹钉周围新生骨组织成熟度高, 骨小梁钙化, 形成较多板状新骨, 成骨细胞被成熟骨细胞所替代; 对照组骨小梁部分融合成片, 趋向成熟, 但成熟度不及实验组, 见图3。

表1 实验组与对照组各时间点钛螺纹钉周围新生骨X射线灰度值结果 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 X-ray gray value of the new bone around titanium screw at each time point in experimental and control groups

时间	实验组	对照组	t	P
植入4周	75.79±11.90	63.50±6.93	2.757	0.020
植入8周	91.58±5.53	78.54±9.13	3.125	0.011
植入12周	113.98±21.79	86.50±12.00	2.316	0.043

表2 实验组与对照自各时间点的扭矩测试结果 ($\bar{x}\pm s, \text{N}\cdot\text{m}$)

Table 2 Torque test results at each time point in experimental and control groups

时间	实验组	对照组	t	P
植入4周	0.051±0.018	0.029±0.014	2.534	0.032
植入8周	0.062±0.018	0.028±0.006	3.583	0.005
植入12周	0.089±0.039	0.040±0.021	2.265	0.047

3 讨论 Discussion

目前临床上影响种植成功率的主要因素为种植体周围炎的发生。种植体周围炎不仅会在种植体植入初期影响种植体-骨结合的形成, 还会破坏种植体周骨组织, 引起骨吸收破坏, 导致种植体支持骨丧失, 种植体部分暴露甚至松动脱落。与天然牙不同, 种植体-骨界面之间无牙周膜结构, 缺乏丰富的血供, 容易被周围致病菌内毒素及代谢产物所侵袭, 防御及修复能力极低, 一旦发生炎症, 种植体周围组织破坏进展较快^[15-17]。目前临床上对于种植体周围炎的治疗主要有机械清创与局部用药或联合激光疗法、手术治疗、骨基质蛋白与膜技术等方法^[18], 研发一种新型、长效、安全的抗菌药物, 以预防种植体周围炎的发生成为了研究热点。

纳米银在具有强大抗菌机制的同时, 还具有良好的生物安全性, 起效快, 作用时间长, 且不宜耐药。虽然目前对纳米银的抗菌机制仍处于研究阶段, 但国内外学者已从

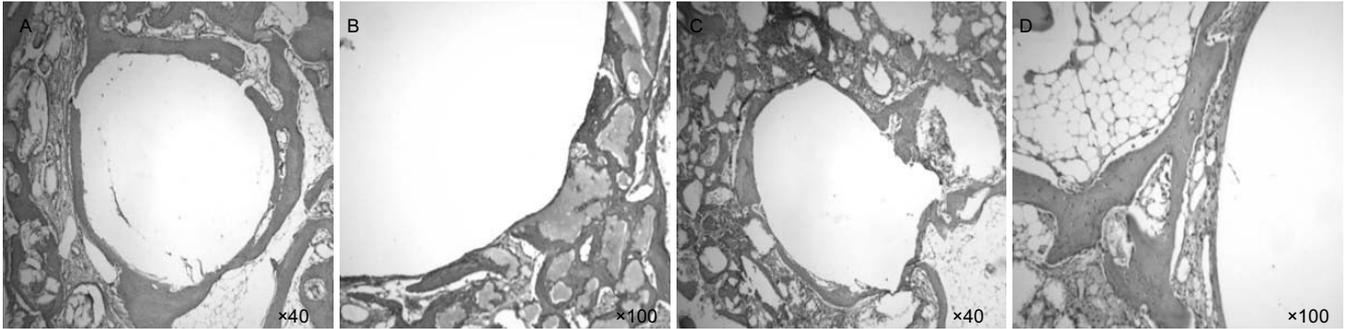


图 1 实验组与对照组植入 4 周时的颌骨标本组织学观察(苏木精-伊红染色)

Figure 1 Histological observation of mandible specimens at the 4th week after implantation in the experimental and control groups (hematoxylin-eosin staining)

图注: 图中 A、B 为实验组, C、D 为对照组。实验组拔牙窝内钛螺钉周围区域内可见新生血管, 成骨较活跃, 骨陷窝形成, 成骨细胞较多, 单层成骨细胞在新生骨小梁周围紧密排列, 可见为数不多的编织骨形成, 骨小梁排列疏松, 呈网状排列; 对照组可见大量纤维组织, 新生血管稀疏量少, 可见大量炎性细胞浸润, 骨小梁较实验组散在分布, 纤细, 成骨细胞较少。

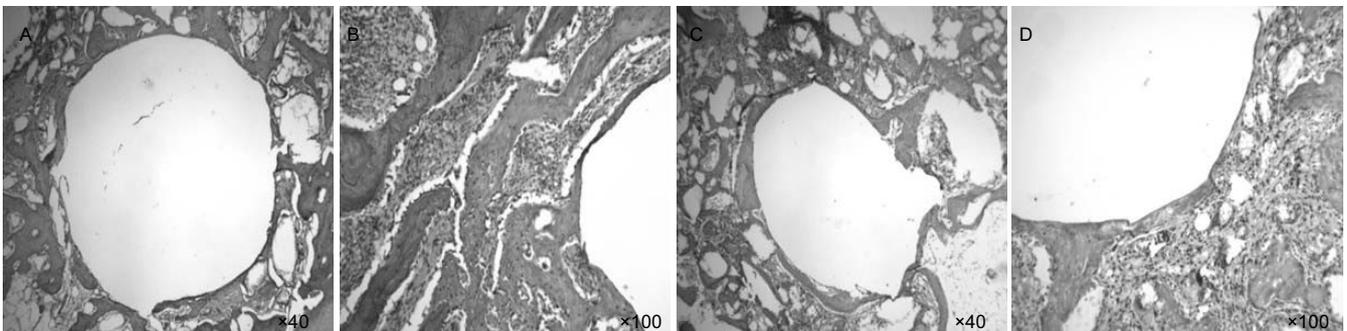


图 2 实验组与对照组植入 8 周时的颌骨标本组织学观察(苏木精-伊红染色)

Figure 2 Histological observation of mandible specimens at the 8th week after implantation in the experimental and control groups (hematoxylin-eosin staining)

图注: 图中 A、B 为实验组, C、D 为对照组。实验组拔牙窝内钛螺钉周围可见大量腔内充满血液的新生血管, 成骨较 4 周更为活跃; 成骨细胞数目明显减少, 骨小梁较 4 周密集, 粗大, 部分骨小梁融合成岛状; 对照组新生血管较实验组少, 骨小梁仍较稀疏、纤细, 仅有少量岛状新生骨, 周围仍可见少量炎细胞, 成骨细胞数目减少, 骨成熟度明显低于实验组。

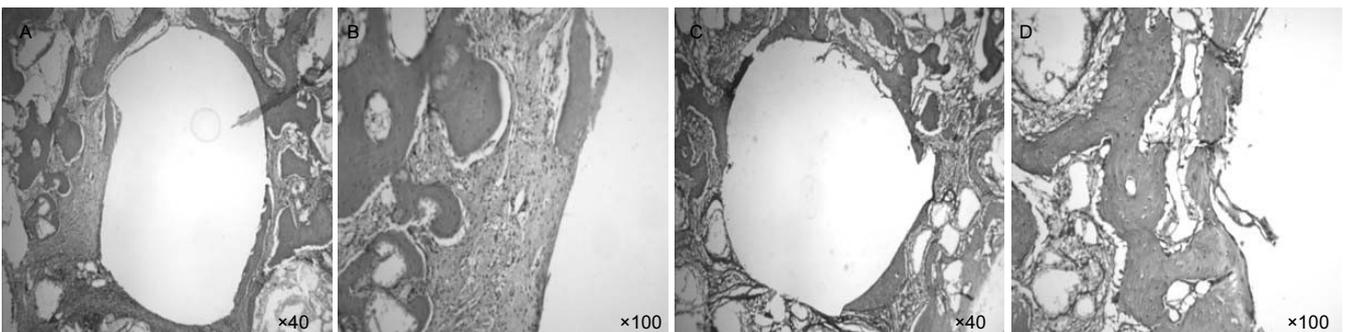


图 3 实验组与对照组植入 12 周时的颌骨标本组织学观察(苏木精-伊红染色)

Figure 3 Histological observation of mandible specimens at the 12th week after implantation in the experimental and control groups (hematoxylin-eosin staining)

图注: 图中 A、B 为实验组, C、D 为对照组。实验组拔牙窝钛螺钉周围新生骨组织成熟度高, 骨小梁钙化, 形成较多板状新骨, 成骨细胞被成熟骨细胞所替代; 对照组骨小梁部分融合成片, 趋向成熟, 但成熟度不及实验组。

影响细菌生活环境、破坏细菌细胞壁和细胞膜、抑制 DNA 复制、抑制酶呼吸作用和抑制其他酶活性 5 个方面进行了阐述^[19], 为进一步研究提供了指导。到目前为止已有许多骨科研究将纳米银作为骨充填材料植入骨缺损中, 取得了良好进展。

本实验将纳米银与纳米羟基磷灰石混合填塞入即刻种

植的拔牙窝内, 组织学研究显示, 实验组不同时间位点均未见植体周围有明显炎性细胞浸润, 表明纳米银在种植体植入后具有良好的抗炎作用, 可减少感染的发生, 促进成骨细胞聚集和黏附, 加速种植体-骨界面的形成, 并且可防止种植体长时间植入后细菌沉积过多, 进而影响种植体的长期稳定性。另外, 目前纳米银载体多使用乳化法^[20]、常

压共溶法等制备而成^[2], 用时间长且过程复杂, 本实验使用单纯物理混合法制备纳米银与纳米羟基磷灰石复合物, 方法简便易行, 价格低廉, 无需大型设备。

尽管纳米银材料抗菌优势明显, 但也暴露出一些问题, 特别是银积累和迁移造成的生理和环境安全问题^[21]。如银富集到较高浓度时对人体和哺乳动物有较大危害, 会伴随呼吸进入线粒体、胚胎及肝脏和循环系统等^[11], 因此纳米银抗菌材料的应用范围和使用剂量非常值得关注^[12,22]。目前对纳米银生物毒性的机制仍处于研究阶段, Bhattacherjee等^[23]认为, 纳米银独特的量子效应、小尺寸效应和极大的比表面积, 使其与生物分子间发生化学反应和物理吸附作用, 从而随细胞摄入而产生毒性效应。因此, 对纳米银的生物安全性评估, 应从纳米银粒子的浓度、粒径大小、吸附量、银离子释放量、载体形式及作用时间等多因素加以综合考虑。虽然大量体外实验证明纳米银具有较强的生物毒性, 但随着越来越多实验的进行, 又给临床带来了新思路。Gorth等^[24]将果蝇卵暴露于不同浓度的纳米银溶剂中, 发现20–30 nm纳米银并未产生明显遗传毒性。Munger等^[25]采用随机单盲的交叉设计, 在符合伦理学要求的情况下给60例健康受试者口服商品型纳米银制剂14 d, 之后通过多项检测证明未发生可检测的重要临床毒性标记。甚至有学者通过体外实验发现纳米银对肝癌细胞高度敏感, 可作为今后新型抗癌药物的发展方向^[26]。可以看出, 纳米银的毒性是双刃剑, 只要使用得当, 并不会产生不良后果。

在将纳米银作为骨充填材料的相关研究中, 刘玉等^[27]发现20–40 nm的银离子对原代培养的人牙龈成纤维细胞无明显细胞毒性; 廖娟等^[28]研究发现, 纳米银抗菌钛板对体外培养成骨细胞早期增殖及碱性磷酸酶活性均无不良影响。王守立^[29]在纳米银骨水泥预防关节置换后感染的体内外实验中得出结论, 1%纳米银骨水泥能完全抑制待检测的细菌, 并未检测出体外细胞毒性。余文琚等^[30]通过使用MTT法比较不同浓度纳米银抗菌剂的细胞毒性, 结果其浓度 \leq 10%时生物安全性良好。本实验使用直径20 nm、浓度为1%的纳米银, 组织学观察中未发现对周围成骨细胞聚集及早期增殖有不良影响。通过以上研究可以得出结论, 即纳米银的毒性并非绝对的, 同时具有良好的抗菌性能和较高的生物安全性是可行的。

本实验采用大体观察、X射线影像学观察、灰度值测试、生物力学扭矩实验、组织学观察等宏观和微观检测方法, 克服了单个测试方法的不足。1991年Johansson和Albrektsson研究发现种植体骨结合程度和种植体抗扭转力间呈明显正相关关系, 此后种植体扭力测试作为一种生物机械方法被用于检测种植体骨结合程度^[31]。种植体骨界面作为一个整体, 在功能状态下承受载荷, 并将载荷分布和传递, 骨界面的应力大致有压应力、拉应力、剪应力3种形式, 相关生物力学测试方法有推出实验、拔除实验和扭转实验^[32]。扭矩测试是采用旋出扭矩法测试骨与种植体

之间结合强度的一种方法, 是在对种植体施加逆时针扭矩直到种植体松动、种植体骨界面破坏为止, 并使用仪器记录下扭矩峰值, 以此来衡量种植体周围骨结合的抗剪切破坏的强度^[33], 该值越大说明钛螺纹钉与周围骨组织结合越牢固, 稳定性就越高。本实验采用扭矩测试作为观察种植体-骨界面结合强度的方法之一, 受力尽量模拟临床牙合力加载方向, 结果可信度较高且对临床有指导意义。

骨缺损的修复需要具有良好支持细胞生长的桥接材料, 本实验采用成品纳米羟基磷灰石粉末直接填塞, 方法简便易行, 其三载体支架结构, 特别是支架内部广泛存在的大交通孔^[34-35], 利于骨和基质的形成, 可为拔牙窝内成骨细胞的生长提供稳定的空间微环境, 有利于细胞附着^[36], 促使细胞增殖分化, 加速拔牙窝内骨重建, 对照组即显示出骨修复效果和局部成骨现象, 说明纳米羟基磷灰石具有良好的理化特性、支持作用及骨整合作用。

本实验将纳米银与纳米羟基磷灰石混合, 结果显示混合产物不仅具有纳米羟基磷灰石的促成骨作用, 还具备了纳米银良好的抗菌特性, 可有效抵抗感染, 使纳米羟基磷灰石的作用发挥得更加突出, 二者联合作用, 为种植体-骨结合提供良好的微环境, 最终达到促进成骨, 诱导骨结合, 稳定种植体的目的, 组织学观察中均未发现对成骨细胞有明显毒性, 达到预期实验效果。但本实验样本量较少, 实验条件及实验周期所限, 远期效果如何尚无实验数据支持, 还需要进一步大量的体内外实验研究论证。

致谢: 感谢河北医科大学第三医院动物实验室、实验中心、骨研所的全体老师。

作者贡献: 第一作者与通讯作者完成实验构思与实验设计, 第一作者与第二作者收集资料、完成实验, 通讯作者与第三、四作者进行实验评估, 第一作者起草成文, 通讯作者审核。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 实验动物在水合氯醛麻醉下进行所有的手术, 并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡, 符合动物伦理学要求。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 本刊实行双盲外审制度, 文章经国内小同行外审专家审核, 符合本刊发稿宗旨。

学术术语: 纳米银的优点? ①广谱抗菌: 一种抗生素能杀灭大约6种病原体, 而纳米银可杀灭数百种致病微生物, 可杀灭细菌、真菌、滴虫、支/衣原体、淋球菌, 杀菌作用强, 对抗生素耐药菌有同样杀灭作用! ②强效杀菌: 据研究发现, Ag可在数分钟内杀死650多种细菌。纳米银颗粒与病原菌的细胞壁/膜结合后, 能直接进入菌体、迅速与氧化代谢酶的巯基(-SH)结合, 使酶失活, 阻断呼吸代谢使其窒息而死。独特的杀菌机制, 使得纳米银颗粒在低浓度就可迅速杀死致病菌。③渗透性强: 纳米银颗粒具有超强的渗透性, 可迅速渗入皮下2 mm 杀菌, 对普通细菌、顽固细

菌、耐药细菌及真菌引起的较深处组织感染均有良好的杀菌作用。
④修复再生: 纳米银可促进伤口愈合, 促进受损细胞的修复与再生, 去腐生肌, 抗菌消炎, 改善创伤周围组织的微循环, 有效激活并促进组织细胞的生长, 加速伤口愈合, 减少瘢痕生成。⑤抗菌持久: 纳米银颗粒利用专利技术生产, 外有一层保护膜, 在人体内能逐渐释放, 所以抗菌效果持久。⑥无耐药性: 纳米银属于非抗菌素杀菌剂, 能杀灭各种致病微生物, 比抗生素更强, 10 nm大小纳米银颗粒独特的抗菌机制可迅速直接杀死细菌, 使其丧失繁殖能力, 能有效避免因耐药性而导致反复发作久治不愈。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] McLaren AC. A lternative materials to acrylic bone cement for delivery of depotantibiotics in orthopaedic infections. *Clin Orthop*.2004;427:101-106.
- [2] 卢昱鹏. 载银纳米抗菌复合骨填充材料治疗兔胫骨慢性骨髓炎的实验研究[D]. 重庆医科大学, 2010.
- [3] Xiu ZM, Zhang QB. Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles. *Nano Lett*.2012;12(8): 4271-4275.
- [4] 张晟, 麦理想, 柳大烈, 等. 纳米Ag/TiO₂涂层托槽对牙龈卟啉单胞菌的抗菌性能[J]. *广东医学*, 2012, 33(9):1220-1222.
- [5] Shipra T, Mehrotra GK. Chitosan-silver oxide nanocomposite film: Preparation and antimicrobial activity. *Mater Sci*.2011; 34(1):29-35.
- [6] Humberto HL, Nilda VA, Liliana IT. Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1. *Nanobiotechnology*. 2010; 8(1):21-28.
- [7] Li W R, Xie XB, Shi QS, et al. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on Escherichia coli. *Appl Microbiol Biotechnol*.2010;85(4):1115-1122.
- [8] 吴宗山, 李莉. 天然产物绿色合成小尺寸纳米银及抗菌性[J]. *精细化工*, 2014, 31(8):964-973.
- [9] You CG, Chun MH, Xin GW, et al. The progress of silver nanoparticles in the antibacterial mechanism, clinical application and cytotoxicity. *Mol Biol Rep*.2012;39(9): 9193-9201.
- [10] 朱玲英, 郭大伟, 顾宁. 纳米银细胞毒性体外检测方法研究进展[J]. *科学通报*, 2014, 22(59):2145-2152.
- [11] Silver S. Bacterial silver resistance: Molecular biology and uses and misuses of silver compounds. *FEMS Microbiol Rev*. 2013;27(2):341-353.
- [12] Sukumaran P, Eldho KP. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *Int Nano Lett*.2012;2(32):1-10.
- [13] Xu C, Su P, Wang Y, et al. A novel biomimetic composite scaffold hybridized with mesenchymal stem cells in repair of rat bone defects models. *J Biomed Mater Res A*.2010;95(2): 495-503.
- [14] 宋华, 任向前, 未东兴. 纳米羟基磷灰石对缺损骨再生的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(8):1155-1159.
- [15] Heuer W, Elter C, Demling A, et al. Analysis of early biofilm formation on oral implants in man. *J Oral Rehabil*.2007; 34(5):377-382.
- [16] 张筱薇, 张强, 周力伟. 种植修复后牙周菌群在不同时期变化的定量研究[J]. *中国微生态学杂志*, 2008, 20(6):577-579.
- [17] 霍晓敏. 种植体周围炎的治疗方法及其评价[J]. *口腔医学研究*, 2008, 24(1):99.
- [18] 杜腾飞, 商红国. 种植体周围炎防治方法的研究进展[J]. *临床口腔医学杂志*, 2015, 31(2):114-115.
- [19] 吴宗山, 胡海洋, 任艺, 李莉. 纳米银的抗菌机理研究进展[J]. *化工进展*, 2015, 34 (5):1349-1370.
- [20] 隋洪艳. 骨粉内缓释纳米银缓释及抗菌性能研究[D]. 吉林大学, 2013.
- [21] 孙倩, 李明春, 马守栋. 纳米银抗菌活性及生物安全性研究进展[J]. *药学研究*, 2013, 32(2):103-105.
- [22] Georgios AS, Sotiris EP. Antibacterial activity of nanosilver ions and particles. *Environ Sci Technol*.2010;44(14)5649-5654.
- [23] Bhattacharjee S, Ershov D, Fytianos K, et al. Cytotoxicity and cellular uptake of tri-block copolymer nanoparticles with different size and surface characteristics. *Par Fibre Toxicol*. 2012;9(11):1-19.
- [24] Gorth DJ, Rand DM, Webster TJ. Silver nanoparticle toxicity in Drosophila: size does matter. *Int J Nanomedicine*.2011;6: 343-350.
- [25] Munger MA, Radwanski P, Hadlock GC, et al. In vivo human time-exposure study of orally dosed commercial silver nanoparticles. *Nanomedicine*. 2014;10(1):1-9.
- [26] Faedmaleki F, H Shirazi F, Salarian AA, et al. Toxicity Effect of Silver Nanoparticles on Mice Liver Primary Cell Culture and HepG2 Cell Line. *Iran J Pharm Res*. 2014;13(1):235-242.
- [27] 刘玉, 尹伟, 史春. 20-40nm银的体外生物安全性研究[J]. *口腔医学研究*, 2015, 31(2):120-122.
- [28] 廖娟, 费伟, 郭俊. 纳米银抗菌钛表面对成骨细胞早期生物学行为的影响[J]. *实用医院临床杂志*, 2014, 5(11):47-49.
- [29] 王守立. 纳米银骨水泥预防关节置换术后感染的实验研究[D]. 第二军医大学, 2013.
- [30] 余文珺, 傅远飞, 张富强. 纳米载银无机抗菌剂对义齿基托树脂细胞毒性的影响[J]. *上海交通大学学报:医学版*, 2006, 26(10): 1102-1104.
- [31] Johansson CB, Alhrektsson T. A removal torque and histomorphometric study of commercially pure niobium and titanium implants in rabbit bone. *Clin Oral Implants*. 1991; (2):24-29.
- [32] 高劲松, 孙伟. 种植体-骨整合情况的数据化观察方法[J]. *中国临床医药研究杂志*, 2005, 11(140):15205-15207.
- [33] 康博, 刘成军, 刘国红, 等. 牙种植体周围骨缺损引导骨组织再生后骨结合的生物力学研究[J]. *中国口腔种植学杂志*, 2009, 14(1): 1-3.
- [34] Verma D, Katti KS, Katti DR. Osteoblast adhesion, proliferation and growth on polyelectrolyte complex-hydroxyapatite nanocomposites. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci*.2010; 368(1917):2083-2097.
- [35] Murphy CM, O'Brien FJ. Understanding the effect of mean pore size on cell activity in collagen-glycosaminoglycan scaffolds. *Cell Adh Migr*.2010;4(3):321-329.
- [36] 桑裴铭, 张明. 医用纳米羟基磷灰石/聚酰胺66复合生物材料研究现状及进展[J]. *医学综述*, 2012, 18(13):2072-2074.