金属铝材料的细胞毒性和刺激致敏性研究

林钟石[1],徐 良[3],钟文雨[1],林柏佑[2],徐炜区[2],袁丽欣[2],刘 尧[1]
(深圳市药品检验研究院体外诊断试剂检测部[1],无源医疗器械检测部[2],
医疗器械检测中心[3],广东 深圳 518057)

摘要:目的 评价金属铝的细胞毒性、刺激性和皮肤致敏性,为金属铝材料在医疗器械领域的制造和应用提供安全依据。**方法** 本研究模拟金属铝材料在医疗器械中的常规应用,采用抛光处理后的金属铝片评估该金属铝片的细胞毒性和刺激致敏性。细胞毒性试验选用浓度 1×10^5 个/ml 生长良好的 L929 小鼠成纤维细胞悬液使用 MTT 法检测,并计算细胞存活率;刺激试验将 9 只新西兰兔通过完全随机分成样品极性浸提液和空白对照组、样品非极性浸提液和空白对照组和阳性对照组,每组 3 只。将受试液滴到纱布上,贴敷于脊柱两侧固定 4 h 后去除,观察水清洗后 1、24、48 和 72 h 皮肤表面,计算原发性刺激并后确定反应类型;皮肤致敏试验将 50 只豚鼠通过完全随机分成样品极性浸提液组、空白对照组、样品非极性浸提液组、空白对照组和阳性对照组,每组 10 只。经动物肩膀内侧注射受试液皮内诱导,观察贴敷结束后 24 h 和 48 h 受试部位情况及 Magnusson 和 Kligman 评级。**结果** 细胞毒性试验中 L929 细胞与样品浸提液接触 24h 后与空白对照中的细胞显微镜下观察无形态上的差异且噻唑兰检测存活率大于 70%;刺激试验中,贴敷结束后 1、24、48 和 72h 样品浸提液的皮肤反应均为无红斑无水肿;皮肤致敏试验中,贴敷结束后 24 和 48 h 样品浸提液的皮肤反应均为无红斑无水肿。**结论** 样品浸提液无潜在的细胞毒性、刺激性及皮肤致敏性,金属铝的生物安全性符合现有标准对于与完整皮肤接触和部分与黏膜接触(≤24 h)的表面器械的生物安全性要求,但其在低 pH 环境下的使用,还需要进一步的研究。

关键词:铝;医疗器械;细胞毒性;刺激性;皮肤致敏性
中图分类号:TG113.2 **文献标识码:**A DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2020.19.019
文章编号:1006-1959(2020)19-0062-06

Study on Cytotoxicity and Irritation Sensitization of Metallic Aluminum Materials

LIN Zhong-shi[1],XU Liang[3],ZHONG Wen-yu[1],LIN Bai-you[2],XU Wei-qu[2],YUAN Li-xin[2],LIU Yao[1]
(In Vitro Diagnostic Reagent Testing Department[1],Passive Medical Device Testing Department[2],Medical Device Testing Center[3],
Shenzhen Institute of Drug Inspection Shenzhen 518057,Guangdong,China)

Abstract:Objective To evaluate the cytotoxicity, irritation and skin sensitization of metallic aluminum, and provide a safety basis for the manufacture and application of metallic aluminum materials in the field of medical devices.**Methods** This study simulates the conventional application of metal aluminum materials in medical devices, and use polished metal aluminum sheets to evaluate the cytotoxicity and irritation sensitization of the metal aluminum sheets. In the cytotoxicity test, a well-growing L929 mouse fibroblast suspension with a concentration of 1×10^5 cells/ml was used to detect the MTT method, and the cell survival rate was calculated; in the stimulation test, 9 New Zealand rabbits were completely randomly divided into sample polar extracts and blank control group, sample non-polar extract, blank control group and positive control group, 3 in each group. Drop the test solution onto gauze, stick it on both sides of the spine and fix it for 4 h before removing. Observing the skin surface at 1, 24, 48 and 72 h after washing with water, calculate the primary irritation and determine the type of reaction; skin sensitization in the experiment, 50 guinea pigs were completely randomly divided into a sample polar extract group, a blank control group, a sample non-polar extract group, a blank control group and a positive control group, with 10 in each group. Intradermal induction of the test solution was injected into the inside of the animal's shoulder, and the condition of the test site and the Magnusson and Kligman ratings were observed 24 h and 48 h after the application.**Results** In the cytotoxicity test, the L929 cells were in contact with the sample extract for 24 h, and there was no morphological difference between the cells in the blank control, and the survival rate of thiazolyl was greater than 70%; In the irritation test, the skin reaction of the sample extract at 1, 24, 48 and 72 h after the application was no erythema and no edema; in the skin sensitization test, the skin reaction of the sample extract at 24 and 48 h after the application all were without erythema and edema.**Conclusion** The sample extract had no potential cytotoxicity, irritation and skin sensitization. The biological safety of metallic aluminum meet the existing standards. The biological safety of surface devices that were in contact with intact skin and partly in contact with mucosa (≤24 h) However, its use in a low pH environment requires further research.

Key words: Aluminum;Medical device;Cytotoxicity;Irritation;Skin sensitization

金属铝作为大自然最丰富的元素之一,因为其低成本和特殊的机械特性被广泛用于社会生活中[1,2],含有铝元素的合金材料还拥有较好的血液相容性和抗菌性[3,4]。但铝元素超标时会对人体造成伤害,如帕金森氏病和阿尔兹海默氏病[5,6]。有报道称[7],细胞内铝离子浓度达到 250 μmol/L 会促使大脑细胞内的微管和微管相关蛋白高度磷酸化,这是阿尔兹海默氏病的一个主要临床病理信号。本研究模拟金属铝材料在医疗器械中的常规应用,采用抛光处理后的金属铝片通过细胞毒性试验、刺激试验、皮肤致敏试验评估该金属铝片的细胞毒性和刺激致敏性,为抛光后的金属铝材料从医疗器械监管的角度提供安全性依据。

1 材料和方法

1.1 材料 金属铝材料(深圳圣诺医疗设备有限公司)、L929 小鼠成纤维细胞(中国科学院典型培养物

作者简介:林钟石(1989.8-),男,浙江青田县人,硕士,医疗器械工程师,主要从事医疗器械生物学评价研究
通讯作者:刘尧(1974.1-),男,吉林吉林人,硕士,医疗器械正高级工程师,主要从事医疗器械生物学评价

保藏委员会细胞库）、MEM 培养基（Thermo Fisher Scientific，美国）、胎牛血清（Thermo Fisher Scientific，美国）、噻唑蓝（MTT）（Merck KgaA，德国）、二甲基亚砜（天津市富宇精细化工有限公司）、异丙醇（广州化学试剂厂）、0.9%氯化钠注射液（四川科伦药业股份有限公司）、棉籽油（Thermo Fisher Scientific，美国）、2,4-二硝基氯苯（Merck KgaA，德国）、弗氏完全佐剂（FCA）（Merck KgaA，德国）

1.2 仪器　CO_2 培养箱（Memmert GmbH，德国）、倒置显微镜（Leica Microsystems Dmi8，德国）、酶标仪（Beckman Coulter，美国）。

1.3 实验动物　选取 SPF 级白化豚鼠 50 只，雌雄兼用，雌鼠未产并无孕，体重 300~400 g，周龄 8 周，另选新西兰兔 9 只，雌性未产并无孕，体重 2.6~2.8 kg，周龄 17 周，来源广东省医学实验动物中心，每天供给由广东省医学实验动物中心提供的饲料和城市生活用水，室温控制在 20 ℃~26 ℃，相对湿度控制在 40%~70%。

1.4 方法

1.4.1 铝片浸提液制备　将金属铝（>99.5%）制成 4 cm×4 cm×0.9 cm 立方体的铝片，按照 6 cm^2/ml 的比例分别浸没入非极性浸提介质（棉籽油、含血清培养液）和极性浸提介质（生理盐水、不含血清培养液）中，置于带盖的容器中 37 ℃条件下振荡浸提后备用。

1.4.2 细胞毒性试验　将浓度 1×10^5 个/ml 生长良好的 L929 小鼠成纤维细胞悬液接种 96 孔板，在 5% CO_2，37 ℃环境下培育 24 h 以使细胞形成近汇合状态。弃去 96 孔板中培养液，将阴性对照、空白对照、阳性对照（10%二甲基亚砜）和样品浸提液（浸提介质：含 10%胎牛血清的 MEM 培养液）用移液器分别加入 96 孔板，每孔 100 μl。5%CO_2，37 ℃环境下继续培育 24 h，然后弃去受试液。每孔中加入 50 μl MTT 溶液，然后再培育 2 h。培育结束后，弃去 MTT 溶液，每孔中加入 100 μl 的异丙醇以溶解 MTT 与活细胞反应生成的甲瓒沉淀。振荡混匀后，用酶标仪在 570 nm 波长（参比波长 650 nm）下测量每孔溶液的吸光度并计算存活率。

1.4.3 刺激试验　将 9 只新西兰兔通过完全随机分成样品极性浸提液和空白对照（极性）组、样品非极性浸提液和空白对照（非极性）组和阳性对照组（2,4-二硝基氯苯）共 3 组，每组 3 只。去除动物脊柱两侧被毛并称重。再将 0.5 ml 受试液滴到纱布上，贴敷于脊柱两侧。用封闭性绷带固定贴敷片 4h。贴敷结束后去除纱布，标记接触部位，并用水清洗以去除残留受试液。贴敷结束后分别在 1、24、48 和 72 h 观察皮肤表面，根据标准 ISO 10993-10 2010 中皮肤反应记分系统对水肿反应和皮肤红斑情况进行记分，计算出原发性刺激记分，最后确定反应类型。

1.4.4 皮肤致敏试验　将 50 只豚鼠通过完全随机分成样品极性浸提液组、空白对照组（极性）、样品非极性浸提液组、空白对照组（非极性）和阳性对照组共 5 组，每组 10 只。经动物肩膀内侧注射 0.1 ml 受试液。注射液分别为：溶液 1（浸提介质与弗氏完全佐剂等比例混合的稳态乳化剂）、溶液 2（受试溶液）、溶液 3（溶液 1 和溶液 2 等比例混合后的稳定性乳化剂）。皮内诱导 6 d 后，导入 10%的月桂醇硫酸钠到受试部位。导入后 24h，将吸附了受试液的纱布贴敷与诱导注射部位进行局部诱导 48 h。诱导结束后 13 d，将吸附了受试液的纱布贴敷于动物的上腹（诱导期未测试部位）24 h。贴敷结束后分别在 24 和 48 h 观察受试部位，再根据 Magnusson 和 Kligman 分级标准进行评级。

1.5 评价标准

1.5.1 细胞毒性试验　活细胞减少导致细胞的活性下降，这与生成的甲瓒的含量有关，从而影响 570 nm 下测量的吸光度值。按下式计算存活率：存活率（%）=100 ×OD570e/OD570b，OD570e 表示试验样品 100% 浸提液光密度平均值，OD570b 表示空白光密度平均值，如存活率下降到<空白的 70%，则具有潜在的细胞毒性。

1.5.2 刺激试验　在除去敷贴片后 1、24、48 和 72 h 分别观察皮肤反应，对每个接触部位在每个规定时间内皮肤红斑和水肿反应情况进行评分，见表 1。在 72 h 评分后，分别将每只动物受试液在 24、48 和 72 h 引起的全部红斑和水肿记分相加，再将所有计分之和除以 6（两个试验/观察部位，3 个时间点）计算出某一动物的原发刺激指数。将每只动物全部原发性刺激记分相加后再除以动物总数（一般为 3）得出试验样品原发性刺激指数。当采用空白或阴性对照时，计算出对照原发性刺激记分，将试验材料原发性刺激记分减去该记分，即得出原发性刺激记分。反应类型：0~0.4 分极轻微，0.5~1.9 分轻度，2~4.9 分中度，5~8 分重度。

1.5.3 皮肤致敏试验　除去敷贴片后 24 和 48 h 观察试验组和对照组动物激发部位皮肤，参照 Magnusson 和 Kligman 分级标准对每一激发部位和每一观察时间皮肤红斑和水肿反应进行分级并记录。0 级敷贴试验反应无明显改变，1 级散发性或斑点状红斑，2 级中度融合性红斑，3 级重度红斑和/或水肿。阴性对照组动物等级小于 1，而试验组中等级≥1 时一般提示致敏。如阴性对照组动物等级≥1 时，试验组动物反应超过阴性对照组中最严重的反应则认为致敏。

表 1 皮肤反应记分系统(分)

反应	刺激记分	反应	刺激记分
红斑和焦痂形成		水肿形成	
无红斑	0	无水肿	0
极轻微红斑(勉强可见)	1	极轻微水肿(勉强可见)	1
清晰红斑	2	清晰水肿(肿起边缘清晰)	2
中度红斑	3	中度水肿(肿起约 1 mm)	3
重度红斑(紫红色)至无法进行	4	重度水肿(肿起超过 1 mm,并超出接触区)	4
红斑分级的焦痂形成		刺激最高记分	8

注:应记录并报告皮肤部位的其他异常情况

1.6 统计学方法 利用 Excel 软件对动物实验进行分组,分组方法采用完全随机设计。

2 结果

2.1 细胞毒性试验 铝片浸提液接触细胞 24 h 后细胞胞浆内有离散颗粒,无细胞溶解。与空白对照中的细胞形态显微镜下观察无差异,见图 1,而且其存活率大于 70%,见图 2,表 2,无潜在的细胞毒性。

2.2 刺激试验 刺激试验贴敷结束后 1、24、48 和 72 h,两组样品浸提液和对照组动物皮肤在观察期内的反应均为无红斑、无水肿,并未发现皮肤部位的其他异常情况,反应记分均为 0 分,确定反应类型为极轻微,见表 3、图 3。

2.3 皮肤致敏试验 贴敷结束后 24 h 和 48 h, 两组样品浸提液组动物皮肤无明显改变, 反应分级均为 0 级,未观察到致敏反应,见表 4、图 4。

阳性对照 空白对照 阴性对照 样品浸提液

图 1 铝片细胞毒性试验显微镜观察结果

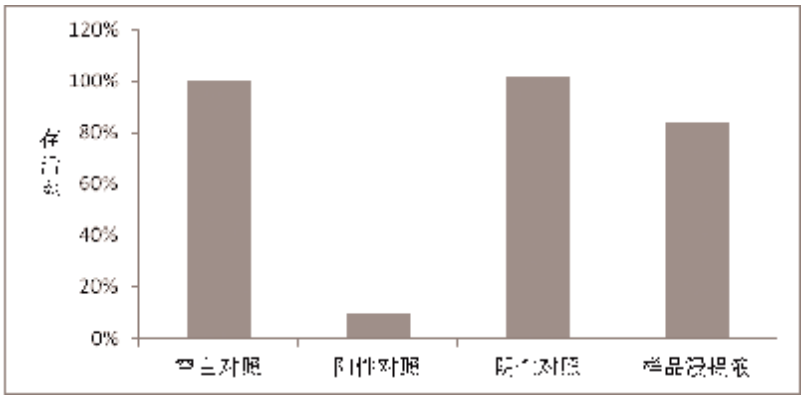


图 2 各组存活率比较

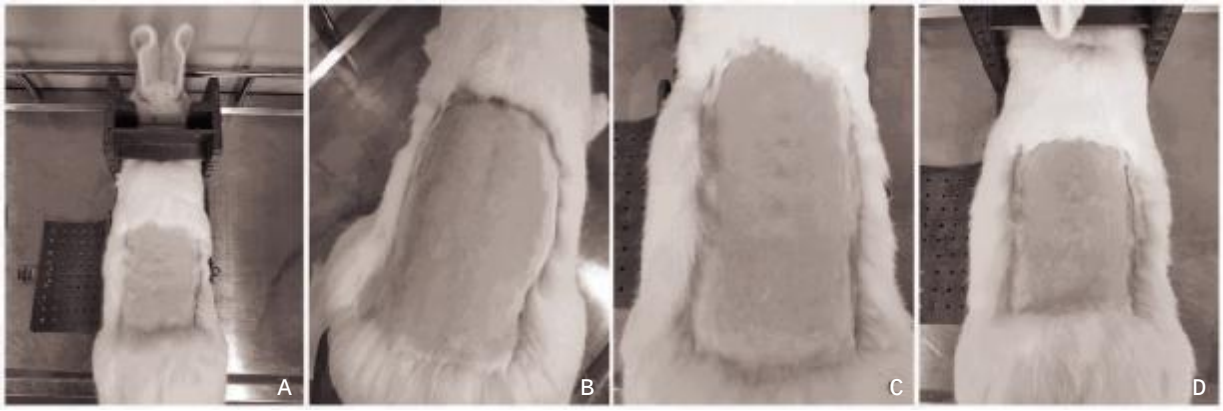
表 2 铝片细胞毒性试验(MTT 法)结果

分组	空白对照	阳性对照	阴性对照	样品浸提液
光密度平均值	1.0973	0.1077	1.1219	0.9246
存活率(%)	/	9.82	102.24	84.26

表 3 铝片刺激试验评分结果

动物编号	组别	1 h		24 h		48 h		72 h		平均记分(分)	刺激记分(分)	原发性刺激指数	反应类型
		ER/OE		ER/OE		ER/OE		ER/OE				(PⅡ)	
1	极性浸提液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0	0		
	极性对照液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0			
2	极性浸提液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0	0	0	极轻微
	极性对照液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0			
3	极性浸提液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0	0		
	极性对照液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0			
4	非极性浸提液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0	0		
	非极性对照液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0			
5	非极性浸提液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0	0	0	极轻微
	非极性对照液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0			
6	非极性浸提液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0	0		
	非极性对照液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0			
7	阳性对照液	1/1	1/1	3/2	2/3	3/2	2/2	2/2	2/2	4.5	4.5		
	极性对照液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0			
8	阳性对照液	1/1	1/1	3/3	3/3	2/2	2/2	2/2	2/2	4.7	4.7	4.6	中度
	极性对照液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0			
9	阳性对照液	1/1	1/1	2/3	3/3	2/2	2/2	2/2	2/2	4.5	4.5		
	极性对照液	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0			

注:ER/OE =红斑/水肿,仅使用 24、48、72 h 的观察数据进行计算



注:A~D:样品贴敷结束后 1、24、48、72 h

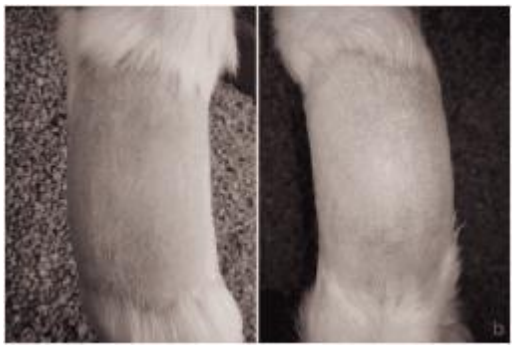
图 3 铝片刺激试验结果

表 4 激发给药后致敏反应情况记录表

组别	动物编号	性别	分级		组别	动物编号	性别	分级	
			24 h	48 h				24 h	48 h
样品极性浸提液组	1	♂	0	0	空白对照组(极性)	11	♂	0	0
	2	♂	0	0		12	♂	0	0
	3	♂	0	0		13	♂	0	0
	4	♂	0	0		14	♂	0	0
	5	♂	0	0		15	♂	0	0
	6	♀	0	0		16	♀	0	0
	7	♀	0	0		17	♀	0	0
	8	♀	0	0		18	♀	0	0
	9	♀	0	0		19	♀	0	0
	10	♀	0	0		20	♀	0	0

表 4 (续)

组别	动物编号	性别	分级		组别	动物编号	性别	分级	
			24 h	48 h				24 h	48 h
样品非极性浸提液组	21	♂	0	0	空白对照组(非极性)	36	♀	0	0
	22	♂	0	0		37	♀	0	0
	23	♂	0	0		38	♀	0	0
	24	♂	0	0		39	♀	0	0
	25	♂	0	0		40	♀	0	0
	26	♀	0	0	阳性对照组	41	♂	2	2
	27	♀	0	0		42	♂	2	2
	28	♀	0	0		43	♂	2	2
	29	♀	0	0		44	♂	2	3
	30	♀	0	0		45	♂	2	2
空白对照组(非极性)	31	♂	0	0		46	♀	2	3
	32	♂	0	0		47	♀	2	2
	33	♂	0	0		48	♀	2	3
	34	♂	0	0		49	♀	2	3
	35	♂	0	0		50	♀	2	3



注:A~B:样品贴敷结束后 24、48 h

图 4 铝片皮肤致敏试验结果

3 讨论

医疗器械按照其生物安全要求从低到高被分为表面器械、外部接入器械和植入器械 3 大类,每个大类下又按照与人体的接触时间长短分为了短暂接触(≤24 h)、长期接触(>24 h~30 d)和持久接触(>30 d)3 个小类。医疗器械的生物安全等级要求越高,与人体接触时间越长,其需要评价的生物学评价终点就越多。同理,相关生物材料能够满足的生物学安全性评价终点越多,其能被应用于医疗器械的范围就越广。细胞毒性和刺激性和皮肤致敏性是现行国际法规标准对医疗器械及其材料生物安全性的基础要求。根据 ISO 10993-1,生物安全性能够满足这 3 项生物安全性评价终点的生物材料能够被应用于与完整皮肤接触和部分与黏膜接触(≤24 h)的表面器械。

细胞毒性试验按照与样品与细胞的接触方式分为直接接触法、间接接触法和浸提液法。其中间接接触法只适合于对生物材料细胞毒性初筛的定性评价,能够对生物材料进行准确的定量评价的只有直接接触法和浸提液法。然而,金属材料的密度较大,在直接接触法中会导致材料下方的细胞机械性损伤,会产生细胞毒性的假阳性结果。因此本研究采用浸提液法作为金属铝材料的细胞毒性评价手段。皮肤致敏试验也分为 3 种,分别为豚鼠最大剂量试验、封闭式贴敷试验和小鼠局部淋巴结试验,其中豚鼠最大剂量试验为最为最敏感的皮肤致敏性检测手段,而且适用于不能渗透皮肤的金属物质的评价,因此,本研究中选择豚鼠最大剂量试验作为金属铝材料皮肤致敏性评价手段。

由于铝元素对人体的神经会产生伤害,国内外鲜有关于金属铝在医疗器械方面应用的研究。然而当金属铝材料暴露于大气中时,由于铝的性质非常活泼,会在其表面形成一层氧化铝的保护膜厚度,厚度约为 0.5~4 μm,而氧化铝在国内外的研究报道中都具有良好的生物安全性。Kahbasi S 等[8]用人真皮成纤维细胞和人成骨细胞与包裹了氧化铝外壳的纳米微球接触,结果发现氧化铝有着很好的生物相容性。Kahbasi S 等[9]将氧化铝纳米微球的浸提液与人红细胞接触,没有观察到明显的溶血现象。Alejandro Carnicer-Lombarte A 等[10]测定了一种以氧化铝为主要成分的电极片的体外生物安全性,结果发现该电极片对 L929 小鼠成纤维细胞和 PC-12 神经细胞都没有毒性。王佳宁将氧化铝陶瓷复合材料与人牙周膜细胞接触,没有观察到氧化铝对人牙周膜细胞的细胞增殖、凋亡和骨诱导活性有任何影响[11]。此外,氧化铝由于其化学惰性、高强度和硬度也被广泛的用于牙科植入物和外科假体[12]。

本研究采用细胞毒性试验、刺激试验和皮肤致敏试验观察了金属铝材料的生物安全性,结果表明,

金属铝材料作为生物材料能够满足现行法规标准对与完整皮肤接触和部分与黏膜接触(≤24 h)的表面器械的生物安全性要求。由此推测,金属铝在表面自然氧化形成的这层氧化铝的保护膜能一定程度上防止金属铝中铝元素的释出,从而使金属铝具有一定的生物安全性。但 Hashimoto M 等[13]将氧化铝纳米微球与巨噬细胞 RAW264 接触时,发现在低 pH 的环境下,氧化铝也会释放铝离子从而干扰细胞的正常功能。因此,金属铝材料如果作为在低 pH 环境下使用的医疗器械,例如胃肠道内窥镜,其毒性作用还需进一步研究。此外,由于金属铝材料天然形成的氧化膜厚度较薄,且耐磨性和抗腐蚀性较差,如若要增加金属铝材料的生物安全性,可以通过阳极氧化[14]、等离子体喷涂[15]等方法增加其表面氧化铝保护膜的厚度和强度。

根据上述的研究,抛光后的金属铝材料能够满足现行国际法规标准对于与完整皮肤接触和部分与黏膜接触(≤24 h)的表面器械的生物安全性要求,但在低 pH 环境下的毒理作用还需要进一步研究。

参考文献:

[1]Barceló J,Poschenrieder C.Fast root growth responses,root exudates,and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance:a review [J].Environmental&Experimental Botany,2002,48(1):75-92.

[2]Krejpcio Z,Wojciak.The Influence of Al 3+Ions on Pepsin and Trypsin Activity in Vitro[J].Polish Journal of Environmental Studies,2002(11):251-254.

[3]Gugala N,Lemire JA,Turner RJ.The efficacy of different anti-microbial metals at preventing the formation of,and eradicating bacterial biofilms of pathogenic indicator strains[J].Journal of Antibiotics,2017,70(6):775-780.

[4]Tanaka Y,Kurashima K,Saito H,et al.In vitro short-term platelet adhesion on various metals[J].Journal of Artificial Organs,2009,12(3):182-186.

[5]Liu Y,Bi A,Gao T,et al.A novel self-assembled nanoprobe for the detection of aluminum ions in real samples and living cells [J].Talanta,2018(194):38-45.

[6]Chen YC,Lee IL,Sung YM,et al.Colorimetric detection of Al3+ions using triazole-ether functionalized gold nanoparticles [J].Talanta,2013,117(Complete):70-74.

[7]Shevtsov PN,Shevtsova EF,Savushkina OK,et al.Influence of Al^{3+}, Fe^{3+} and Zn^{2+} Ions on Phosphorylation of Tubulin and Microtubulo-Associated Proteins of Rat Brain [J].Bulletin of Experimental Biology&Medicine,2018,165(4):512-515.

[8]Mestres G,Espanol M,Xia W,et al.Evaluation of Biocompatibility and Release of Reactive Oxygen Species of Aluminum Oxide-Coated Materials[J].ACS Omega,2016,1(4):706-713.

[9]Kahbasi S,Samadbin M,Attar F,et al.The effect of aluminum oxide on red blood cell integrity and hemoglobin structure at nanoscale [J].International Journal of Biological Macromolecules,2019(138):800-809.

[10]Carnicer-Lombarte A,Lancashire HT,Vanhoestenberghe A.In vitro biocompatibility and electrical stability of thick-film platinum/gold alloy electrodes printed on alumina [J].J Neural Eng,2017,14(3):36012.

[11] 王佳宁.氧化锆氧化铝陶瓷复合材料对人牙周膜细胞增殖、凋亡和骨诱导活性的影响[J].中国组织工程研究,2017,21(26):4155-4159.

[12]Wong HM,Zhao Y,Tam V,et al.In vivo stimulation of bone formation by aluminum and oxygen plasma surface-modified magnesium implants[J].Biomaterials,2013,34(38):9863-9876.

[13]Hashimoto M,Imazato S.Cytotoxic and genotoxic characterization of aluminum and silicon oxide nanoparticles in macrophages[J].Dental Materials,2015,31(5):556-564.

[14]Ekwe NB,Aloko DF.Anodization of Aluminum [J].International Journal of Scientific and Research Publications (IJSRP),2013,3(3):1-3.

[15]Khalid M,Mujahid M,Khan AN,et al.Plasma Sprayed Alumina Coating on Ti6Al4V Alloy for Orthopaedic Implants:Microstructure and Phase Analysis [J].Key Engineering Materials,2012(510-511):547-553.

收稿日期:2020-08-06;修回日期:2020-08-14

编辑/肖婷婷