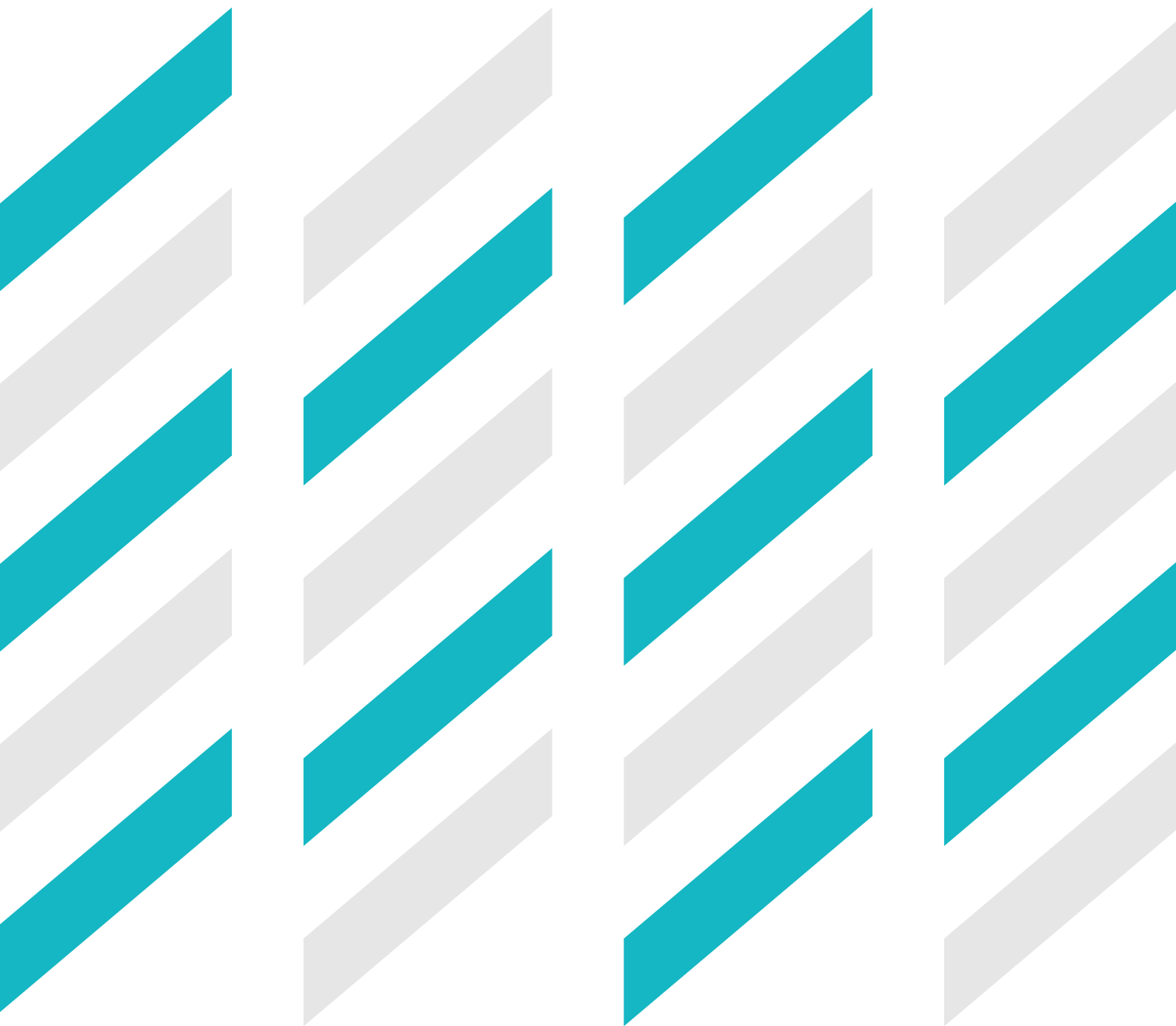


UV 临床论著

UV照射的种植体长期安全性相关论文



目录

04

关于在长期愈合过程中光催化诱导亲水性
对家兔骨重建影响的研究

Photocatalytically induced
hydrophilicity influences bone
remodelling at longer healing
periods: A rabbit study

12

对种植体表面进行紫外线照射处理对种植
体周围炎发展的影响—关于受试犬的初步
研究

Effect of Ultraviolet Irradiation of the
Implant Surface on Progression of
Periimplantitis A Pilot Study in Dogs

临床论著

01

M.Hayashi
R.Jimbo
Y.Xue
K.Mustafa
M.Andersson
A.Wennerberg

关于在长期愈合过程中光催化诱导亲水性对家兔骨重建影响的研究

作者单位:

M.Hayashi、R.Jimbo和A.Wennerberg, 瑞典马尔默市马尔默大学牙科学院口腔修复学系
Y.Xue和K.Mustafa, 挪威卑尔根市卑尔根大学医学与牙科学院临床牙科研究中心临床牙科部门
M.Andersson, 瑞典哥德堡市查尔姆斯理工大学应用表面化学系化学与生物工程学院

通讯作者:

Mariko Hayashi
地址: Department of Prosthodontics, Faculty of Odontology
Malmö University
Carl gustavsvägen 34 SE205 06 Malmö, Sweden
电话: +46 40 665 8679
传真: +46 40 665 8503
电子邮箱: mariko.hayashi@mah.se

日期:

2013年1月17日接受

本文引用方式:

Hayashi M, Jimbo R, Xue Y, Mustafa K, Andersson M, Wennerberg A. Photocatalytically induced hydrophilicity influences bone remodelling at longer healing periods: a rabbit study. (关于在长期愈合过程中光催化诱导亲水性对家兔骨重建影响的研究)

《临床口腔种植研究》25, 2014, 749-754

doi:10.1111/clr.12138

关键词: 基因表达, 亲水性, 骨结合, 光催化剂

摘要

目的: 我们之前已经报告过, 涂于商用纯钛片上的具有光催化活性的锐钛型二氧化钛 (TiO_2) 纳米粒子经紫外线照射后, 亲水性显著提高。由于亲水性增强了骨接合, 因此体内反应令人产生了极大的兴趣。本研究的目的是评估植入时产生的光活化亲水性是否对骨结合较长的愈合期有影响。

材料和方法: 具有光催化活性的 TiO_2 粉体 (Degussa P-25) 为纳米结构, 大约包含80%锐钛矿和20%金红石。将该粉末旋转涂于商用纯钛片上, 之后进行热处理。实验组 (+UV) 纯钛片 (涂有P-25) 经紫外线 (UV) 照射, 对照组 (-UV) 则未经过紫外线照射, 两组钛片均植入受试兔胫骨之中。愈合12周后, 采用实时RT-PCR进行组织学分析和基因表达分析。

结果: 经组织学分析可得, -UV和+UV组无明显差异。而通过基因表达分析发现, +UV组和-UV组相比, ALP、RUNX-2和IL-10明显上调。

结论: 经过12周愈合后, 光催化活性表面的生物强化效果 (即基因响应) 依然存在。

表面亲水性是实现骨结合的重要因素 (Buser等人, 2004; Sawase等人, 2008; Schwarz等人, 2009; Wennerberg & Albrektsson 2009; Rupp等人, 2010)。获取亲水性种植体表面的途径很多, 如表面 (置于液体) 喷砂酸蚀 (改性喷砂酸蚀 (Buser等人, 2004))、等离子清洗 (Carlsson等人, 1989) 和羟磷灰石 (HA, Zhang等人, 2011)。实现亲水性的一种途径是将 TiO_2 置于种植体表面, 经UV照射后可作为催化剂产生亲水性 (Fujishima & Honda 1972; Wang等人, 1997; Jimbo等人, 2008, 2011a, b)。Sawase等人 (2007) 表示, 市售阳极氧化种植

体具有光催化性能, 这一论点具有可信度, 原因在于氧化产生的 TiO_2 层厚度达 $10\mu\text{m}$ (Jimbo等人, 2007)。然而, 在家兔模型中经观察4周后发现, 市售种植体在UV照射前后的骨-种植体结合率 (BIC) 无明显变化。据推测, TiO_2 (主要是非晶型) 的化学组成是造成该情况的根由。Wang等人 (1997) 认为, 特定的晶体结构 (锐钛矿或金红石) 需经大量照射后才能呈现出强烈的光反应性 (Wang等人, 1997)。Rupp等人 (2010) 证实, TiO_2 表面的亲水性可促进骨结合 (Rupp等人, 2010)。据报道, 增大特定 TiO_2 晶体结构表面积后, 在UV照射下, 可促进早期细胞粘附、

增殖和早期骨沉积 (Jimbo等人, 2008; Sawase等人, 2008)。此外, Hirakawa等人 (2012) 报告, 退火后等离子体源离子注入 (PSII) 涂层使得种植体表面呈现出大量锐钛矿晶体结构, 经UV照射并待其愈合两周后发现, 与商用钛种植体 (未经UV照射) 相比, 骨-种植体结合率 (BIC) 从28.4%显著提高到42.7% (Hirakawa等人, 2012)。再次强调, 特定晶体结构经大量UV照射后产生的光催化活性, 是积极影响早期生物结果的重要因素之一。

在早先的研究中, 我们以纳米晶体型TiO₂粉体 (德国Degussa GmbH Degussa P25) 为主要研究对象, 该类粉体中锐钛矿和红宝石晶体结构之间的平衡可控 (Hayashi等人, 2012)。由于该材料具有工业材料 (Karimi等人, 2010; Zhou等人, 2010; Parussulo等人, 2011) 具备的高光催化性能, 因此我们探究了该材料是否可用作生物材料。研究结果表明, 经UV照射后, 涂有P25的商用纯钛片表面的亲水性显著提高。意外的是, 与未经UV照射的表面相比, 测试期间未见经UV照射后初始细胞响应增强 (Hayashi

等人, 2012)。我们认为出现这种情况的原因可能是纳米形貌促使表面扩张, 因此材料经光活化前, 已经具备很高的亲水性。其独特的化学成分和纳米形貌非常适合用作生物材料涂层, 已获知的试验成果促进我们进一步进行体内测试。

在研究光诱导亲水性种植体表面生物效应的动物研究中, 大部分研究仅关注初期 (大部分研究不超过4周) 骨结合 (Jimbo等人, 2007; Sawase等人, 2008; Hirakawa等人, 2012), 而对骨结合的长期方面则涉入不多。在一般情况下, 若表面形貌差异仅在纳米级可见, 则长期生物结果与Svanborg等人研究的结果一致。 (Svanborg等人, 2011)。Svanborg等人表示, 长期观察9周后发现, 实验组中经HA改良的SLA表面与对照组中未经改良的SLA表面并无明显差异。此外, 人们认为光活化表面亲水性仅在种植体放入后的早期具有活性, 据Sawase等人报告, 活性时间大约为48h, 因此, 光催化效果会慢慢减弱 (Sawase等人, 2007)。因此有人假设, 此效果持续时间不长, 且光诱导亲水性表面和对照表面之间的生物结果不会有任何差异。本研究目

的是采用组织学和基因表达法, 在家兔模型中研究涂P25的种植体经UV照射或不经照射的长期 (12周) 愈合效果。

材料和方法

表面处理

本研究采用商用纯钛片, 中心设有2.0mm的螺丝孔 (cpTi, 直径6mm; 厚度1mm, 4级)。TiO₂粉体 (80%锐钛矿, 20%红宝石, 颗粒大小, 大约为20-50nm) 撒于酒精 (99.5%) 中, 重量百分比为15 wt%。接着用溶液旋涂钛片 (4000 rpm)。为了将TiO₂粉体固定到钛片底部形成薄涂层, 在空气中对涂层钛片进行热处理5分钟 (500°C), 详见之前的报告 (Hayashi等人, 2012)。为确定涂层钛片的表面形态, 在6kV的加速电压情况下使用扫描电子显微镜检查法 (德国奥伯科亨Zeiss, LEO Ultra 55 FEG, SEM)。采用透镜内二次电子探测器实现可视化操作 (图1)。分别从无涂层钛片和有涂层钛片中随机选出3片用于观察, 钛片基底完全覆盖纳米粒子。

钛片分为以下几组;

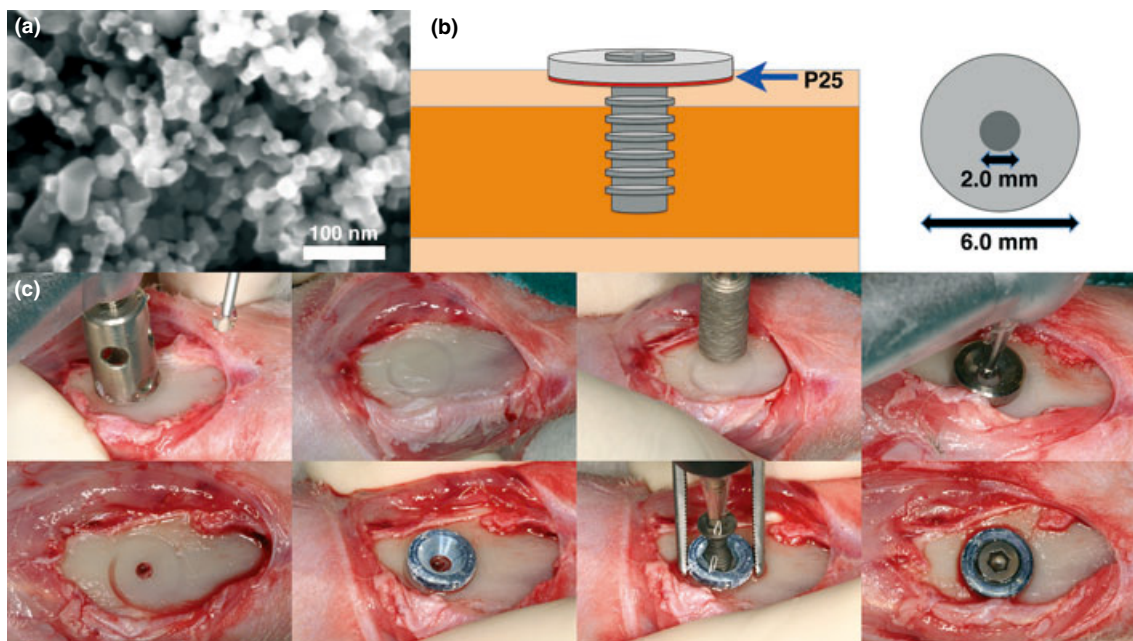


图1 (a) P25涂层表面电镜图像。标尺为100nm。 (b) 研究钛片模型示意图。 (c) 种植手术照片

- 1.对照组：P25涂层钛片，保存于覆有铝箔的塑料盒内，避光存放，以免造成光活化（-UV）。
- 2.实验组：P25涂层钛片，经UV（波长352nm，6W）照射24h（+UV）。

动物和种植

经马尔默/隆德地区动物伦理委员会批准（批件号M282-09），本研究采用9只瑞典垂耳兔（平均体重3.9kg）。术前，剃去受试兔后腿毛发，并以70%酒精和70%洗必泰消毒。肌肉注射0.15ml/kg美托咪定（瑞典索伦蒂纳Orion Pharma；1mg/ml Dormitor）和0.35ml/kg盐酸氯胺酮（50mg/ml盐酸氯胺酮；瑞典索伦蒂纳Pfizer AB）进行麻醉。在各注射部位注射1ml的盐酸利多卡因（利多卡因；瑞典索德塔尔杰AstraZeneca AB）进行局部麻醉。

往各受试兔体内放入2片钛片：偏平近侧皮质左右胫骨分别放置一片实验（+UV）钛片和对照（-UV）钛片，用螺钉固定（Ø2.0×6mm）（图1）。

手术结束后，给予三天盐酸丁丙诺啡（0.5ml Temgesic；英国斯劳利洁时公司）止痛。

愈合12周后，用过量戊巴比妥钠（瑞典斯德哥尔摩Apoteksbolaget AB，60mg/ml）对受试兔进行安乐死。

RNA提取和实时逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR)

用直径4.4mm的空心骨钻（日本东京GC Dental）从6只家兔中小心收集种植体和粘附皮质骨；分析前将组织样本置于RNAlater溶液（德国希尔登QIAGEN GmbH），保存温度为-80℃。采用TissueLyser®仪器（QIAGEN GmbH）将组织样本均质化，并用QiaZol®溶液完成相分离（QIAGEN GmbH）。根据制造说明书，采用RNA组织试剂盒（RNA Tissue Kit SII）在QuickGene提取系统（日本东京Fujifilm Life Science）从水相中

提取全部RNA。提取期间，用Rnase-free DNase set（QIAGEN GmbH）对样本进行DNA酶处理，减少基因组DNA（gDNA）污染。采用NanoDrop ND-1000分光光度计（美国特拉华州威明顿市ThermoScientific NanoDrop Technologies）分析全部RNA样本中的RNA数量。

RNA样本按50ng/μl标准化，接着分别在20-μl反应体系、5-μl RT混合液和15-μl样本中反转录（RT）。采用iScript cDNA合成试剂盒完成全部RT，生成定量信使核糖核酸（mRNA）所需的互补DNA（cDNA）。反转录完成后，将cDNA样本置于-20℃环境中。

在96孔StepOnePlus™系统（美国加利福尼亚州福斯特城Applied Biosystems）中，基于SYBR®绿色检测（英国南安普敦PrimerDesign Ltd），采用定制引物（表1），在20-μl反应体系中对每份样品完成三次RT-PCR。应用比较CT或△△CT法，β-actin用作管家基因（Schmittgen & Livak 2008）。对照组用作参照，计算

时按实验组标准化。

切割和磨片

为观察骨与种植体之间的反应，对三只受试兔的胫骨进行组织学处理（Johansson等人，2011）。简单来说，样本首先置于酒精中进行脱水（70~100%），接着进行一系列树脂渗透最后将样本嵌入光固化树脂中（Technovit 7200 VLC；德国韦尔海姆Heraeus Kulzer）。采用Exakt锯切割各树脂块，并用磨削设备（Donath 1987）磨片。研磨切片至厚度大约为20μm，并用甲苯胺蓝和吡咯红G染色。

组织学分析

为观察对照（-UV）和实验（+UV）钛片之间是否存在生物反应（阳性或阴性），在光学显微镜（Eclipse ME600；日本尼康）下观察组织切片，采用图像分析软件（Image J v. 1.43u；国立卫生研究院）在10倍物镜放大条件下量化BIC和各组全部种

表1 实时RT-PCR使用的引物序列

基因	引物序列	Tm	扩增子大小(bp)	引物来源
ALP	S TGGACCTCGTGGACATCTG A CAGGAGTTTCAGTGC GGTTTC	75	80	家兔
ATPase	S CCTGGCTATTGGCTGTACG A GCTGGTAGAAGGACACTCTTG	77.7	98	家兔
降钙素受体	S CGTTCACCTCTGAAACTACA A GCAACCAAGACTAATGAAACA	72.6	128	家兔
I型胶原蛋白	S GGAACGATGGTGCTACTGG A CCGACAGCTCCAGGGAAG	80.4	83	家兔
IGF-1	S CCGACATGCCCAAGACTCA A TACTTCCTTTCTCTCTCTCTGA	70.3	81	家兔
IL-6	S GAGGAAAGAGATGTGTGACCAT A AGCATCCGCTCTTCTTATCAG	73.5	104	家兔
IL-10	S CCGACTGAGGCTTCCATTCC A CAGAGGGTAAGAGGGAGCT	73.3	75	家兔
I型胶原蛋白	S GCTCAHCCTTCGTGTCCAAG A CCGTCGATCAGTTGGCGC	77.8	70	家兔
Runx-2	S GCAGTTCCTCAAGCATTTTCATC A GTGTAAGTAAGGTGGCTGGATA	72.8	81	家兔
TNF-α	S CTCACCTACTCCAGGTTCTCT A TTGATGGCAGAGAGGAGGTT	78.2	122	家兔
TRAP	S GCTACCTCCGCTTCCACTA A GCAGCCTGGTCTTGAAGAG	78.5	129	家兔
β-actin	S CACCCTGATGCTCAAGTACC A CGCAGCTCGTTGTAGAAGG	76.4	96	家兔

ALP, 碱性磷酸酶; IGF, 胰岛素样生长因子。

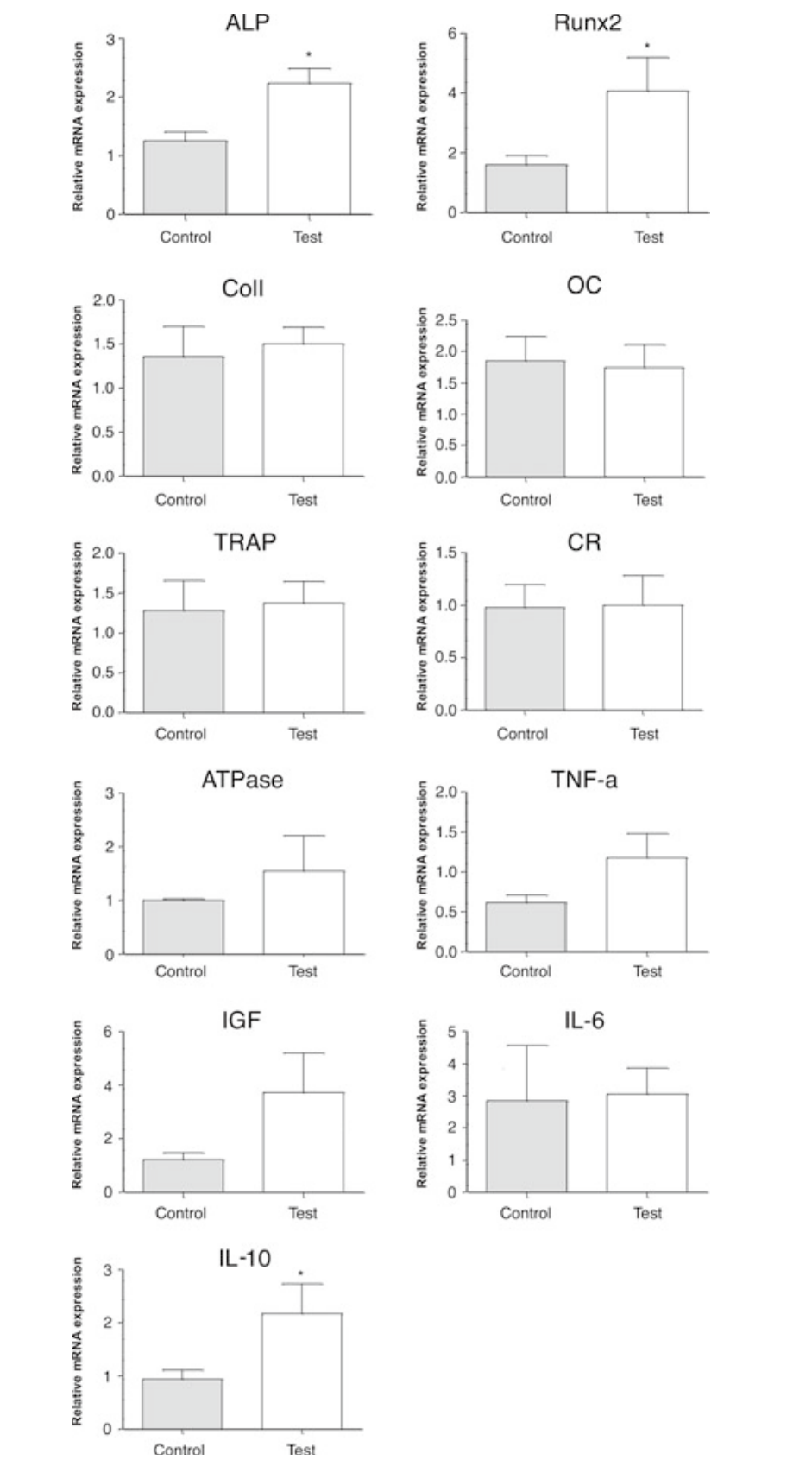


图2 愈合12周时, 选择标志物经实时RT-PCR量化后的基因表达 (n=6)。目标基因的相对表达经管家基因b-actin标准化 (*P < 0.05)。

植体 (Jimbo等人, 2011a)。

组织学分析

为观察对照 (– UV) 和实验 (+UV) 钛片之间是否存在生物反应 (阳性或阴性), 在光学显微镜 (Eclipse ME600; 日本尼康) 下观察组织切片, 采用图像分析软件 (Image J v. 1.43u; 国立卫生研究院) 在10倍物镜放大条件下量化BIC和各组全部种植体 (Jimbo等人, 2011a)。

结果

实时RT-PCR

第12周时的基因表达分析显示, 与对照组 (– UV) 相比, 实验组 (+UV) 的碱性磷酸酶、runt相关转录因子2 (RUNX-2) 和白介素-10 (IL-10) 明显更高 (ALP, 多0.9800倍, P = 0.0229; RUNX-2, 多2.473倍, P = 0.0447; IL-10, 多1.235倍, P = 0.0479) (图2)。

组织学分析

愈合12周后, 对照和实验组的组织切片均形成新的骨小梁, 伴有深染矿化组织, 未见炎症反应迹象 (图3a和b)。对照组和实验组各家兔的组织形态学值见图3c。由于样本数量有限, 不能进行统计比较, 因此, 12周时对照组和实验组的平均BIC (标准差, SD) 参考值分别为37.99% (22.78) 和39.35% (8.05)。

讨论

本研究目的是采用组织学和基因分析技术, 研究涂P25得钛片经UV照射或不经照射的长期 (12周) 愈合效果。

组织学和组织形态学观察结果与假设一致, 即不存在显著的组织学和组织形态学差异。尽管各组仅有3份样本,

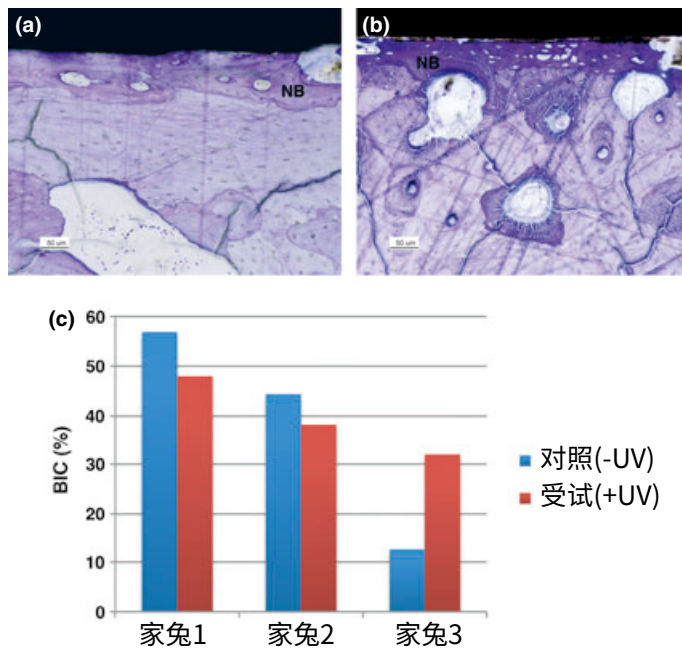


图3 种植12周后 (a) 对照钛片 (-UV) 和 (b) 实验钛片 (+UV) 的光学显微镜图像。NB: 新生骨标尺代表50μm。 (c) 每只家兔的对照和实验钛片 (n=3) BIC组织形态学比较。

难以得出统计结论, 但组织学观察结果表明各组成功实现骨结合, 且无不良反应。有趣的是, 实验组 (+UV) 基因表达中ALP、RUNX-2和IL-10值均高于对照组 (-UV)。

已知RUNX-2为成骨细胞分化不可缺少的转录因子, 位于osterix基因上游 (Ma等人, 2011), ALP则在基质钙化期间起着重要的调节作用 (Suzuki等人, 2006), 在活跃骨重建期间该两种标志物均有表达。Klein等人表示, 采用人成骨细胞培养48h后, 与光滑表面和SLA钛表面相比, 亲水改性SLA钛表面的ALP和RUNX-2的基因表达值更高 (Klein等人, 2010)。Klein等人得出结论, 亚微米粗糙度与表面亲水性结合, 能协同促进成骨细胞粘附和成熟, 以促进骨结合。

本研究中, 实验组 (+UV) 的ALP和RUNX-2的表达水平显著高于对照组 (-UV) (P值分别为0.0229和0.0447)。此外, 胰岛素样生长因子 (IGF) 是骨中含量最丰富的生长因

子, 对骨重建的效果显著 (Canalis等人, 1988; Shinar等人, 1993), 其平均相对表达水平非常接近+UV组 (P = 0.0798)。此外, +UV与-UV组 (P=0.0715) 相比, 促炎细胞因子标志物TNF-α的平均相对表达水平也表现出更高的趋势。已知非病理炎症是骨重建过程的一部分 (Lisignoli等人, 1999), 这一点与Araujo & Lindhe (2005) 的组织学研究结果一致。Araujo & Lindhe指出, 新鲜拔牙窝中骨重建与炎症同时发生 (Araujo & Lindhe 2005)。因此, 人们强烈猜测+UV组在第12周时发生活性骨重建, 并在基因表达分析中观察到此情况。

据报告称, 促炎细胞因子TNF-α产生破骨细胞 (Lam等人, 2000)。在该研究中, 作者报告称随着TNF-α上调, 促炎标志物IL-6和破骨细胞生成标志物TRAP也得到表达。有趣的是, 该研究中-UV和+UV表面的IL-6和TRAP相对表达值并无显著差异 (P分别为0.4658和0.4126)。此外, +UV组由

巨噬细胞和淋巴球生成的抗炎症细胞因子IL-10的相对表达显著高于-UV组 (P = 0.0479)。IL-10在负反馈回路中起作用, 可抑制炎症性细胞因子的释放, 并深化急性炎症反应 (de Vries, 1995)。对破骨细胞生成有潜在的抑制作用 (Xu等人, 1995)。Carmody等 (2002) 称, 病毒IL-10会对体内外粒子诱导的炎症、破骨细胞生成和骨质流失的关键步骤产生干扰 (Carmody等人, 2002)。强烈怀疑光催化活性表面的存在, 导致IL-10表达显著升高, 进而抑制IL-6和TRAP的表达。由此推测, IL-10对促炎症标志物和破骨细胞标志物抑制, 未对骨重建产生扰动, 因此ALP和RUNX-2的高表达。

结论

组织学分析显示, 经过12周的愈合, 紫外线照射组和非照射组在骨形成方面没有定性和定量上的差异。然而, 通过实时PT-PCR进行基因分析发现, +UV组骨重建活性显著增强; 此时, 抗炎细胞因子IL-10显著提高后, 抑制了炎症和破骨反应。因此, “两组在愈合12周后不会有任何差异”的最初假设被否决了。由于光催化活化表面的作用仅局限于骨结合的初始阶段, 因此本研究的结果可能表明, 即使在愈合12周后, 仍然存在生物强化效果。

致谢

作者衷心感谢Humberto Osvaldo Schwartz-Filho博士对手术环节的巨大帮助。当前研究由马尔默大学生物膜博士奖学金、马尔默大学、瑞典研究理事会 (VR) 和斯堪的纳维亚-日本笹川基金会资助。

作者未指出任何利益冲突。

参考文献

- Araujo, M.G. & Lindhe, J. (2005), 拔牙后牙槽嵴的变化犬类研究. 牙周病学杂志32: 212-218.
- Buser, D., Broggini, N., Wieland, M., Schenk, R.K., Denzer, A.J., Cochran, D.L., Hoffmann, B., Lussi, A. & Steinemann, S.G. (2004), 化学改性SLA钛金属表面促进骨沉积. 牙科研究杂志 83: 529-533.
- Canalis, E., McCarthy, T. & Centrella, M. (1988), 生长因子和骨重建调节. 临床研究杂志81: 277-281.
- Carlsson, L.V., Albrektsson, T. & Berman, C. (1989), 骨头对等离子清洗钛种植体的反应. 口腔与上颌面植入国际杂志 4: 199-204.
- Carmody, E.E., Schwarz, E.M., Puzas, J.E., Rosier, R.N. & O'Keefe, R.J. (2002), 对钛颗粒的反应过程中, 病毒白介素-10基因对炎症、破骨细胞生成和骨吸收的抑制. 关节炎和风湿病杂志 46: 1298-1308.
- Donath, K. (1987), 采用切割研磨技术制备硬组织和其他不能经常规方法切割材料的组织学切片. 诺德斯泰特: Exakt-kulzer-publication.
- Fujishima, A. & Honda, K. (1972), 半导体电极中对水进行电化学光解. 自然 238: 37-38.
- Hayashi, M., Jimbo, R., Lindh, L., Sotres, J., Sawase, T., Mustafa, K., Andersson, M. & Wennerberg, A. (2012), 纳米结构二氧化钛光催化涂层的体外表征和成骨细胞反应. 生物材料学报8: 2411-2416.
- Hirakawa, Y., Jimbo, R., Shibata, Y., Watanabe, I., Wennerberg, A. & Sawase, T. (2012), 光诱导亲水性钛种植体上骨加速形成: 犬下颌骨试验研究. 临床口腔种植研究, doi:10.1111/j.1600-0501.2011.02401.x.
- Jimbo, R., Coelho, P.G., Vandeweghe, S., Schwartz-Filho, H.O., Hayashi, M., Ono, D., Andersson, M. & Wennerberg, A. (2011a), 纳米磷酸钙涂层种植体骨结合的组织学和三维评估. 生物材料学报 7: 4229-4234.
- Jimbo, R., Ono, D., Hirakawa, Y., Odatsu, T., Tanaka, T. & Sawase, T. (2011b), 加速光诱导亲水性促进骨结合: 动物研究. 临床植入牙科学及相关研究13: 79-85.
- Jimbo, R., Sawase, T., Baba, K., Kurogi, T., Shibata, Y. & Atsuta, M. (2008), 化学改性阳极化钛的增强的初始细胞反应. 临床植入牙科学及相关研究 10: 55-61.
- Jimbo, R., Sawase, T., Shibata, Y., Hirata, K., Hishikawa, Y., Tanaka, Y., Bessho, K., Ikeda, T. & Atsuta, M. (2007), 细胞纤连蛋白阳性细胞血浆纤连蛋白趋化反应促进骨结合. 生物材料28: 3469-3477.
- Johansson, C. B., Jimbo, R. & Roeser, K. (2011) 3.313-组织学分析. 收录于: 总编: PAUL, D., ed. 综合内容生物材料, 215-233. 牛津: 爱思唯尔.
- Karimi, L., Mirjalili, M., Yazdanshenas, M.E. & Nazari, A. (2010), 纳米二氧化钛对紫外光照射下交联棉织物琥珀酸自洁性的影响. 光化学与光生物学86: 1030-1037.
- Klein, M.O., Bijelic, A., Toyoshima, T., Gotz, H., von Koppenfels, R.L., Al-Nawas, B. & Duschner, H. (2010), 微米和亚微米结构亲水性钛表面生骨细胞的长期反应: 细胞增殖序列和细胞分化. 临床口腔种植研究21: 642-649.
- Lam, J., Takeshita, S., Barker, J.E., Kanagawa, O., Ross, F.P. & Teitelbaum, S.L. (2000), TNF-alpha通过直接刺激与rank配体(允许水平)接触的巨噬细胞来诱导破骨细胞生成. 临床研究杂志 106: 1481-1488.
- Lisignoli, G., Toneguzzi, S., Pozzi, C., Piacentini, A., Riccio, M., Ferruzzi, A., Gualtieri, G. & Facchini, A. (1999), 人成骨细胞(非类风湿性关节炎和骨关节炎患者)生成和表达促炎性细胞因子和趋化因子. 风湿病学杂志26: 791-799.
- Ma, H.P., Ming, L.G., Ge, B.F., Zhai, Y.K., Song, P., Xian, C.J. & Chen, K.M. (2011), 淫羊藿苷比染料木素更能在体内促进成骨细胞分化和矿化. 细胞生物化学杂志112: 916-923.
- Parussulo, A.L., Huila, M.F., Araki, K. & Toma, H.E. (2011), 在介孔TiO₂薄膜上N3染料诱导的可见激光锐钛矿-金红石相变. 朗缪尔27: 9094-9099.
- Rupp, F., Haupt, M., Klostermann, H., Kim, H.S., Eichler, M., Peetsch, A., Scheideler, L., Doering, C., Oehr, C., Wendel, H.P., Sinn, S., Decker, E., von Ohle, C. & Geis-Gerstorf, J. (2010), 用于生物医学应用的UV照射的纳米晶锐钛矿薄膜的多功能性质. 生物材料学报6: 4566-4577.
- Sawase, T., Jimbo, R., Wennerberg, A., Suketa, N., Tanaka, Y. & Atsuta, M. (2007), 多孔氧化钛种植体的新特性. 临床口腔种植研究18: 680-685.
- Sawase, T., Jimbo, R., Baba, K., Shibata, Y., Ikeda, T. & Atsuta, M. (2008), 光诱导亲水性增强初始细胞行为和早期骨沉积. 临床口腔种植研究19: 491-496.
- Schmittgen, T.D. & Livak, K.J. (2008), 采用比较c(t)法分析实时PCR数据. 自然实验手册3: 1101-1108.
- Schwarz, F., Wieland, M., Schwartz, Z., Zhao, G., Rupp, F., Geis-Gerstorf, J., Schedle, A., Broggini, N., Bornstein, M.M., Buser, D., Ferguson, S.J., Becker, J., Boyan, B.D. & Cochran, D.L. (2009), 化学改性亲水性表面特性促进钛种植体组织整合的可能性. 生物医学材料研究杂志. 第B部分, 应用生物材料88: 544-557.
- Shinar, D.M., Endo, N., Halperin, D., Rodan, G.A. & Weinreb, M. (1993), 鼠骨发育期间胰岛素样生长因子I (IGF-I) 和IGF-II信使核糖核酸的差异表达. 内分泌代谢132: 1158-1167.
- Suzuki, A., Ghayor, C., Guicheux, J., Magne, D., Quillard, S., Kakita, A., Ono, Y., Miura, Y., Oiso, Y., Itoh, M. & Caverzasio, J. (2006), 无机磷酸盐转运蛋白1增强表达与成骨样细胞中BMP-2诱导基质钙化有关. 骨与矿物质研究杂志21: 674-683.
- Svanborg, L.M., Hoffman, M., Andersson, M., Currie, F., Kjellin, P. & Wennerberg, A. (2011), 纳米羟基磷灰石颗粒对牙种植体周围早期成骨的作用. 口腔与上颌面植入国际杂志40: 308-315.
- de Vries, J.E. (1995), 白介素10的抑制免疫力和抗炎性能. 医学年鉴27: 537-541.
- Wang, R., Hashimoto, K., Fujishima, A., Chikuni, M., Kojima, E., Kitamura, A., Shimohigoshi, M. & Watanabe, T. (1997), 自然388: 4314-432.
- Wennerberg, A. & Albrektsson, T. (2009), 磷酸钙涂层的结构影响和对骨结合增强的可能影响. 斯堪的纳维亚牙科学报67: 333-340.
- Xu, L.X., Kukita, T., Kukita, A., Otsuka, T., Niho, Y. & Iijima, T. (1995), 白介素10通过抑制鼠类骨髓培养系统中破骨前驱细胞分化成破骨细胞样细胞对破骨细胞生成进行选择性抑制. 细胞生理学杂志165: 624-629.
- Zhang, F., Huang, Y., Li, X. & Zhao, S. (2011), 细胞改性和对人牙龈成纤维细胞粘附、扩散和增殖的影响. 口腔与上颌面植入国际杂志26: 1183-1192.
- Zhou, W., Pan, K., Qu, Y., Sun, F., Tian, C., Ren, Z., Tian, G. & Fu, H. (2010). 利用增强光催化活性结合TiO₂/单壁碳纳米管复合材料对废水中有机污染物进行光降解的研究. 光化层81: 555-561.

临床论著

02



对种植体表面进行紫外线照射处理对种植体周围炎发展的影响 ——关于受试犬的初步研究

Kouken Ishii博士(牙科博士)*、Masato Matsuo博士(牙科博士)[†]、Noriyuki Hoshi博士(牙科博士)[‡]、Shun-suke Takahashi博士(牙科博士)[§]、Ryota Kawamata博士(牙科博士)[¶]、Katsuhiko Kimoto博士(牙科博士)^{||}

种植牙是一种用于替换缺齿的成功治疗方案，且治疗效果可预测¹⁻⁴。然而，在植入种植牙后出现了关于审美、生物学和技术等方面的并发症，并且在这些并发症中，种植牙周围炎的发病率特别高。18至56%受试者发生种植体周围炎，9至40%的种植体

目的：本研究旨在从形态学角度研究受试犬体内经紫外线照射处理过的种植体所致种植体周围炎的进展情况。

材料与方法：将纯钛种植体（直径3.3mm，长8mm）置于受试犬颌骨双侧。使用光电器件（UV组）用紫外线光照射一侧种植体15分钟，而另一侧种植体（非UV组）不予照射。植入后90天，借助放射线照相术确认骨结合程度。施用牙线90天以上，诱导受试犬出现实验性种植体周围炎。90和180天后进行临床和影像学检查以及微型计算机断层扫描（显微CT），并测量骨吸收。通过光学显微镜检查组织切片中的骨-种植体结

合面。

结果：对于结扎诱导的种植体周围炎模型而言，经紫外线照射处理过的种植体周围的骨吸收不如未经紫外线照射处理过的种植体周围的骨吸收明显。组织切片图像显示骨-种植体结合面没有接触，也未出现部分破坏。

结论：在此次初步调查限制范围内，建议使用经紫外线照射处理过的种植体抑制种植体周围炎的自发进展。

（《种植牙医学》.2016；25：47-53）

关键词：紫外线照射、种植体周围炎、种植牙、微型CT、扫描电子显微镜（SEM）

*日本横须贺神奈川牙科大学牙科研究生院口腔修复和口腔康复科研究生。

[†]日本横须贺神奈川牙科大学牙科研究生院口腔科学系牙科解剖系副教授。

[‡]日本横须贺神奈川牙科大学牙科研究生院口腔修复和口腔康复科副教授。

[§]日本横须贺神奈川牙科大学牙科研究生院口腔科学系牙科循环控制系副教授。

[¶]日本横须贺神奈川牙科大学牙科研究生院放射科学系副教授。

^{||}日本横须贺神奈川牙科大学牙科研究生院口腔修复和口腔康复科教授。

如需转载请联系：日本横须贺市（邮编：2388580）神奈川牙科大学牙科研究生院口腔修复和口腔康复科Katsuhiko Kimoto博士（牙科博士）

电话及传真：+81 468229532

电子邮件：k.kimoto@kdu.ac.jp

ISSN 1056-6163/16/02501-047

《种植牙医学》

第25卷 第1期

Copyright © 2015 Wolters Kluwer Health, Inc. 版权所有

DOI:10.1097/ID.0000000000000332

出现炎症⁵⁻⁷。

种植体周围炎是一种在种植牙周围组织中出现炎症反应。临床症状类似于牙周炎，包括肿胀、出血、牙周组织化脓和骨脊吸收等等。如果骨吸收明显恶化，种植体最终会变得不稳定⁸。

在治疗种植体周围炎时，在不同疾病阶段应用各种治疗和预防技术，包括机械清创、刷牙、抗生素治疗、以及消除感染以及恢复骨缺损和功能

的手术方法⁹⁻¹¹。但是，迄今为止，尚未能确定可治疗种植体周围炎的有效疗法。由于种植体周围炎是种植体疗法的一种常见生物学并发症，并且也是造成种植体失效的主要原因，因此需要一种可预防出现种植体周围炎的新策略来提高种植体疗法的成功率。

在紫外（UV）光照射下，二氧化钛（TiO₂）可促进光催化活性¹²。因为大多数市售钛种植体由于大气氧化原因会在表面上形成某种形式的二

氧化钛 (TiO₂)，因此紫外线照射诱导光催化活性这种特性于近期被用于种植体疗法¹³。

用紫外光照射种植体表面可以产生亲水性，减少表面碳氢化合物并改善静电状态。改良种植体表面可增强体外成骨细胞和间充质干细胞的附着性、扩散能力、增殖和分化能力；此外，在动物模型中，改良种植体表面可促进蛋白质吸收并使骨-种植体结合率 (BIC) 从55%增加至98.2%¹⁴⁻¹⁸。

已有临床研究报告，根据Smith和Zarb提出的标准，对钛种植体进行紫外线照射处理的成功率较高，并且可提高在植入种植体以及使用Osstell ISQ种植体稳定性测量仪（生产商为：瑞典赛沃达伦的Integration Diagnostics公司）开始功能性加载时的植入稳定性（植入稳定性可由植入体稳定性商值 (ISQ) 评估)^{19,20}。

根据之前报道的发现结果，对种植体表面进行紫外线照射处理可以抑制种植体周围炎的发展并改善骨结合。然而，经紫外线照射处理的种植体对种植体周围炎的生物反应究竟如何，尚未进行相关研究。因此，本研究旨在研究对种植体进行紫外线照射处理对于预防种植体周围炎中的作用。所测试的零假设是，对于受试犬种植体周围炎模型而言，在经紫外线照射处理以及未经紫外线照射处理情况下，种植体表面周围骨吸收并无差异。

材料和方法

实验动物

此初步研究中使用了三只12个月大、牙周组织临床表现健康的（体重：9至10kg）雌性比格犬。本研究动物实验方案和外科手术程序遵循神奈川牙科大学批准的动物护理指南。开始所有手术和实验程序前，用

25mg戊巴比妥 (Somnypentyl；日本东京共立制药株式会社) 对狗进行静脉内麻醉。

外科手术

总共使用了12个纯钛螺钉状种植体（直径为3.3mm，长度为8mm，标准种植体骨水平类型，SLA RN；生产商为：瑞士巴塞尔Straumann公司）。在植入种植体之前，借助光电器件 (Thera Beam Affinity；生产商为日本东京USHIO Inc.公司) 用紫外线照射种植体15分钟。

将经紫外线照射处理过的种植体植入下颌骨右侧 (UV组)，并且将未经紫外线照射处理过的种植体植入下颌骨左侧 (非UV组)。每只受试犬植入四个种植体 (经UV照射处理以及未经UV照射处理的种植体各2个)

实验程序示意图如图1所示。在拔牙前以及种植体植入前14天内进行口内预防性治疗和刮牙术。无菌条件下培养全厚瓣后，拔除双侧下颌前磨牙 (P2、P3和P4)，使齿槽嵴变

平。立即将螺钉状钛种植体植入牙槽中。植入SLA表面时应使种植体与骨缘相适应，并且附接愈合基台。然后用简单间断缝线（带涂层的薇乔线，4.0 polyglactin 910；生产商为：新泽西州新不伦瑞克强生爱惜康公司）缝合牙龈瓣。

使用0.12%氯己定控制斑块形成90天。然后，用牙线诱导种植体颈部周围，使之出现种植体周围炎。180天后诱导施加实验性种植体周围炎。

牙科影像学分析

采用牙科X线片 (70 kV，15mA，0.25秒) 评估牙槽骨的变化。将使用聚乙烯基硅氧烷印模材料制备的硅胶咬块附接到胶片夹上，使放射线照相术标准化。

检测两组骨吸收的进展。借助图像分析应用程序 (ImageJ; National Institutes of Health) 客观地计算骨吸收变量，结算结果作为近中与远中值的平均值。

骨吸收 (%) = (90天后BIC的长度 - 180天后BIC的长度) / 90 × 100

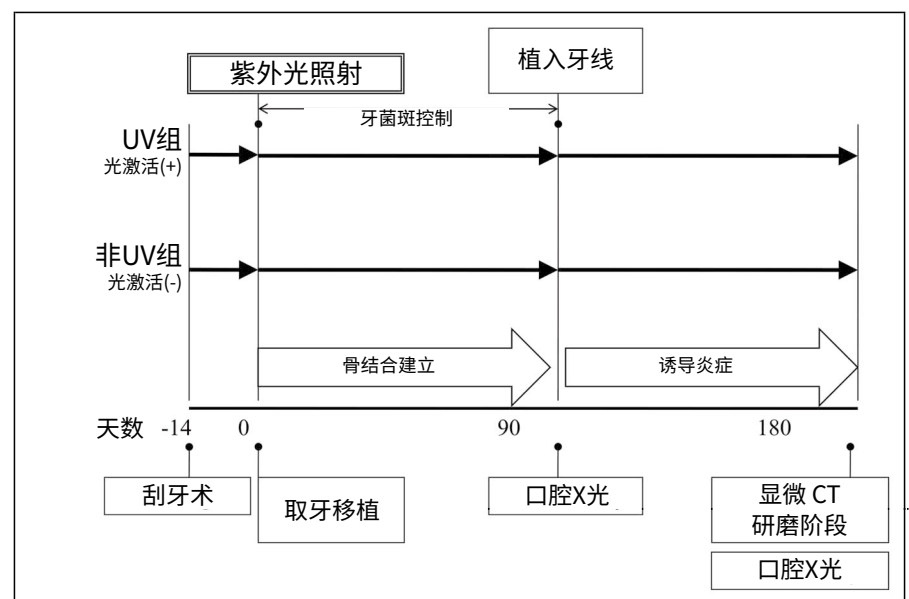


图1 试验程序在使用0.12%氯己定植入种植体后的90天愈合期间，实施牙菌斑控制。第90天时施用结扎线，并在第90天和第180天时进行临床检查和射线照相检查。种植体：n=12

后的BIC长度。BIC定义为目视检查确定的骨和种植体的接触面积。

微计算机断层扫描分析

进行微型计算机断层扫描（显微CT）（MCT-CB100MF；生产商：日本东京日立医疗株式会社），检查骨吸收量（扩大率x3；体素大小：43μm；光管电压：70 kV；管电流：100μA；总共201片，8.6mm）。从种植体中心的近中与远中方向各获取100个切片，生成下颌图像。从显微CT图像的近中与远中切片上截取下颌骨部分的图像，并将其作为参考图像，通过内插法生成下颌骨轮廓的掩膜图像。追踪勾勒出下颌骨的实际轮廓，取出骨质缺损部分，并通过提取轮廓线和蒙面图像之间的差异来计算其体积。使用图像分析应用程序（TRI/3D BON；生产商为：日本东京Ratoc System Engineering）进行图像处理和体积计算。

组织学准备与分析

180天后，对颈总动脉进行插管手术，灌注含有0.2%肝素的林格溶液直至颈静脉不含有任何血液。灌注完成后，将2%戊二醛磷酸盐缓冲溶液注入颈动脉进行固定。固定后除去下颌骨，并将这些样品浸入浓度调节为70%至99%的连续乙醇溶液中进行脱水，并埋入合成树脂之中（Technovit 7200 VLC；生产商为：德国哈瑙Heraeus Kulzer公司）。用硬组织切片刀（SP1600锯切片机；生产商为：德国韦茨拉尔Leica公司）制作下颌骨未脱钙研磨切片（厚度，100μm）。研磨切片用亚甲蓝染色并在光学显微镜下检查。

统计分析

数据表示为平均值±标准差。使用未配对数据的学生t检验借助SPSS软件（生产商为：伊利诺伊州芝加哥的IBM SPSS公司）比较UV和非UV组

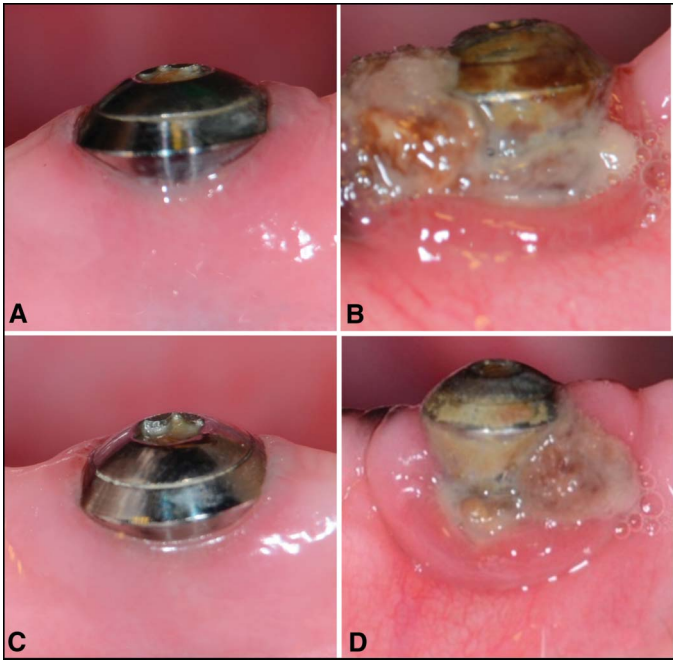


图2 口内照片A、90天后的非UV组。B、90天后的UV组。C、180天后（牙线施用后90天）的非UV组。D、180天后的UV组（施用牙线90天后）。

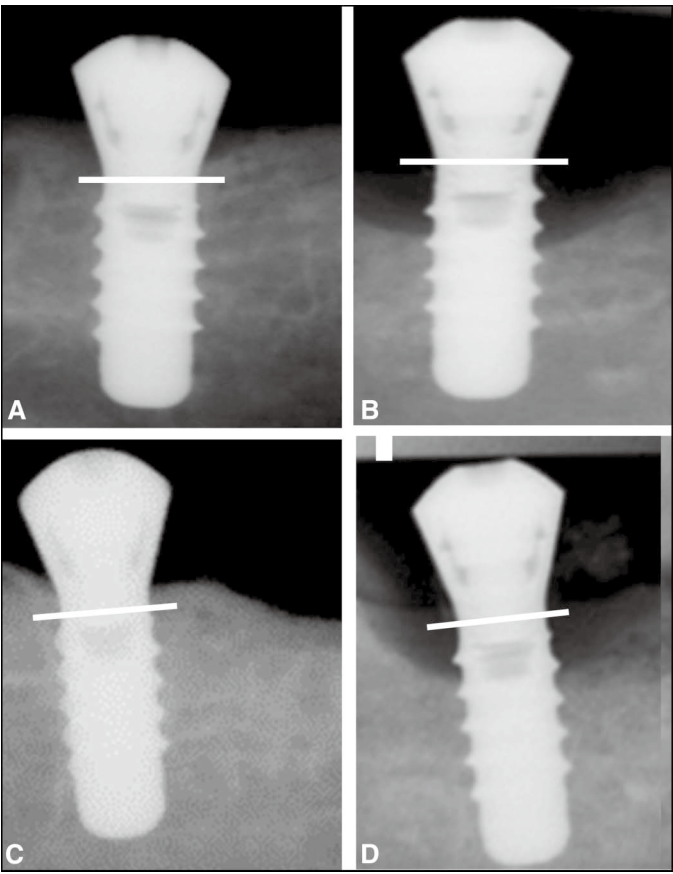


图3 放射线照片结果。A，90天后的非UV组。B，180天后（施用牙线后90天）的非UV组。C，90天后的UV组。D，180天后（施用牙线后90天）的UV组。白线表示呈扁平形式的种植体。

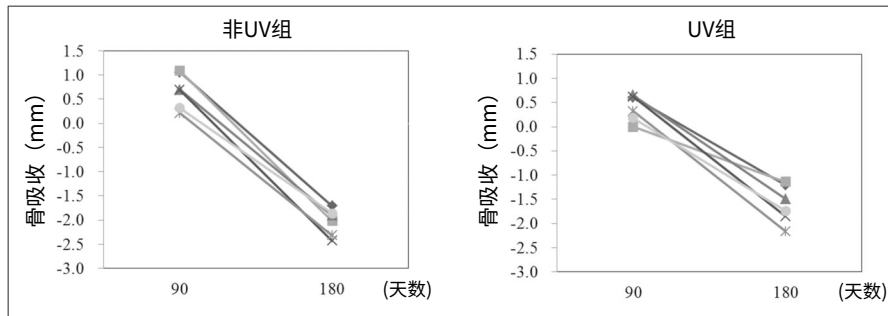


图4 90至180天之间UV和非UV组每个种植体骨水平的变化

收(图3, B)。同样在UV组中,植入90天后,种植体整个表面与骨充分接触(图3, C)。第180天时(施用牙线后90天),也出现了骨吸收(图3, D)。

90至180天之间两组种植体骨水平变化见图4两组骨吸收量如图5所示。

UV组骨吸收量为 2.0 ± 0.5 mm,

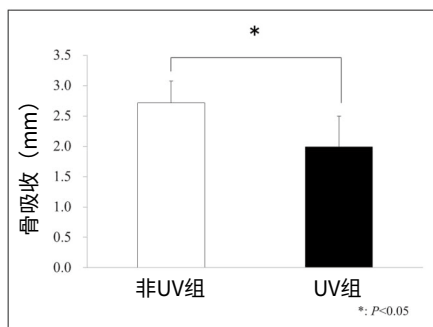


图5 通过放射学检查结果比较180天后非UV种植体组和UV种植体组的周围骨吸收情况。数据表示为平均值 $\pm$ SD。*两组间差异有统计学意义, $P < 0.05$ 。

数据。 $P < 0.05$ 时视为有统计学意义。

结果

临床检查

UV组和非UV组口内照片如图2所示。90天后两组牙周组织均正常(图2, A-C)。180天后两组受试犬均出现实验性种植体周围炎,并且种植体周围出现活动性炎症迹象,包括肿胀和牙周组织出血(图2, B-D)。

牙科影像学发现结果

标准化数字牙科X射线照片如图3所示。照片中白线表示SLA经过处理的表面边界。非UV组中,植入后90天种植体整个表面与骨充分接触(图3, A)。第180天时(施用牙线后90天),种植体颈部周围出现明显骨吸

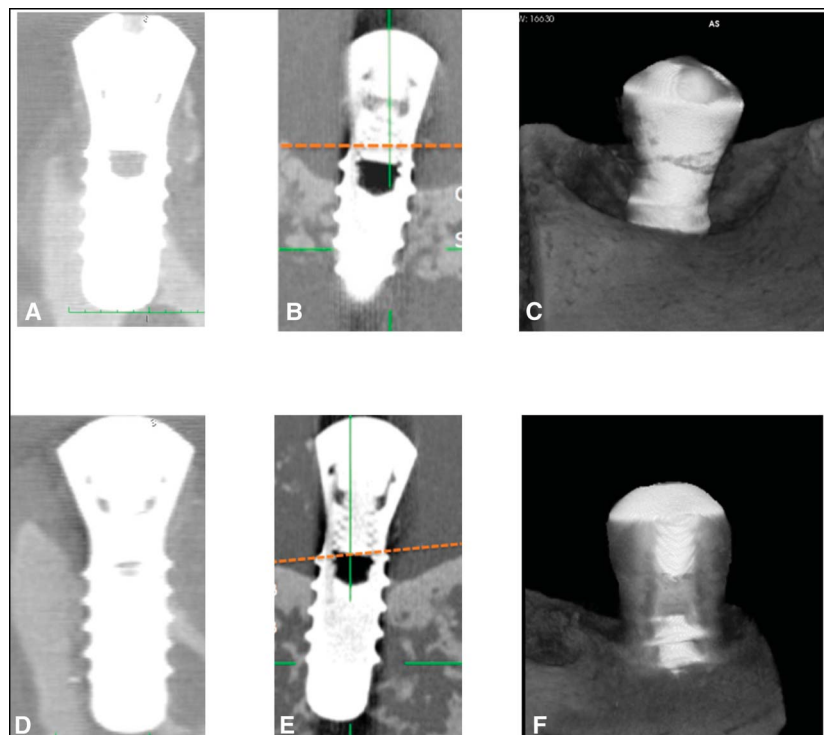


图6 180天后的显微CT检查结果。A、非UV组颊舌向切片。B、非UV组近远中切片。C、非UV组3D图像。D、UV组颊舌向切片。E、UV组近远中切片。F、UV组3D图像。(B)和(E)中的虚线是相邻牙齿颈部之间的近远中线。

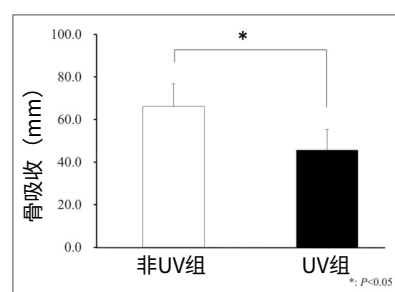


图7 通过显微CT结果比较180天后非UV种植体组和UV种植体的骨吸收。数据表示为平均值 $\pm$ SD。*2组间差异有统计学意义, $P < 0.05$ 。

而非UV组的骨吸收量为 2.7 ± 0.4 mm。如图5所示,UV组骨吸收量明显小于非UV组。

显微CT扫描结果

种植体植入后180天的骨吸收同样通过显微CT检查。颊舌向和近中远端切片中的骨吸收变量见图6A和B(非UV组)和图6D和E(UV组)。

如图6中B-E所示,虚线是相邻牙齿颈部之间的近远中线。骨吸收似

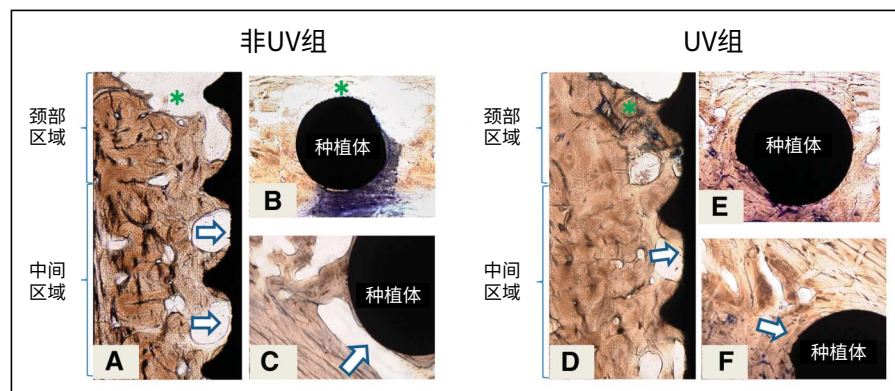


图8 光学显微组织学图像(180天后)。研磨样品用亚甲蓝染色并在光学显微镜下检查。A、未经紫外线照射处理种植体的颈部和中部区域(矢状切面)。B、未经紫外线照射处理种植体的颈部区域(水平切面)。C、未经紫外线照射处理种植体的中部区域(水平切面)。D、经过紫外线照射处理种植体的颈部和中部区域(矢状切面)。E、经紫外线照射处理种植体的颈部区域(水平切面)。F、经紫外线照射处理种植体的中部区域(水平切面)。

乎是非UV组的一大缺陷,而UV组骨吸收量则较小。

在3D成像中,非UV组中可清楚地观察到种植体颈部周围存在环状骨吸收(图6, C),而UV组中可观察到浅板状骨吸收,骨再吸收较少(图6, F)。

根据显微CT图像计算骨吸收的平均量(图7)。UV组骨吸收量为 $45.7 \pm 9.6 \text{ mm}^3$,非UV组骨吸收量为 $64.4 \pm 10.6 \text{ mm}^3$ 。UV组骨吸收量明显小于非UV组。

组织检查发现结果

UV组和非UV组的代表性组织检查结果图像见图8。

非UV组矢状研磨切面如图8, A显示。种植体颈部部分出现显著骨吸收,并且骨和种植体结合面遭到破坏。中间部分,除骨钉纹外(箭头)之外,在种植体表面上不能清楚地观察到骨小梁。

非UV组水平切面如图8, B和C所示。种植体上方也发现颈部区域出现了皮质骨吸收。位于中间区域的骨小梁的某些部位未附着于种植体表面(箭头)。

但是,UV组矢状研磨部分如图8, D所示。在颈部区域,未观察到

出现骨吸收,并且骨和种植体的结合面得以保持。在中间区域,骨小梁附着于种植体纹路上,并且种植体大部分表面面向连续骨组织(箭头)。

UV组水平切面如图8, E和F示。在颈部区域,皮质骨组织包围整个种植体表面。在中间区域,种植体周围可清楚地观察到较厚骨小梁。

讨论

种植体周围组织²¹⁻²³上的牙菌斑累积以及应力过大导致种植体负重过大^{24,25}是诱发种植体周围炎的两个主要因素。

临床研究发现,口腔不卫生可导致牙菌斑累积,且与种植体周围组织出现炎症之间存在相关性,这可能导致种植体边缘出现骨吸收²⁶⁻²⁸。在动物和临床研究中,负重过大也是导致种植体边缘出现骨吸收的因素^{2,29-32}。相比之下,其他动物研究表明,对于发炎的^{33,34}和未发炎的种植体周围软组织而言,负重过大不会导致种植体周围骨吸收³⁵⁻³⁸。数据仍然不足,并且没有关于过度咬合应力诱发种植体周围炎发病机制的确凿证据。因此,本研究中使用的实验动物模型选用结

扎诱发的种植体周围炎,无咬合应力。

本研究中比较了经UV处理组和未经UV处理组种植体结扎诱导的种植体周围炎的自发进展情况。如牙科影像学发现结果和显微CT扫描结果所示,在经UV照射处理种植体处,通过植入牙线在牙菌斑累积期间诱导的骨吸收量明显小于未经UV照射处理的种植体。组织学发现结果还表明未经紫外线照射处理种植体的表面和骨骼发生部分破碎。本研究的下一个重要问题是为什么对种植体表面进行紫外线照射处理具有治疗结扎诱导的种植体周围炎的效果。其中一个可能原因是改善了种植体表面特性。

可以通过各种技术改善种植体表面特性,例如羟基磷灰石或磷酸钙涂层、喷砂、氧化和酸蚀³⁹⁻⁴³。在进行种植体治疗时应用这些技术,在先前研究的骨愈合早期阶段发现BIC和骨支抗情况明显改善⁴⁰⁻⁴²。

近期,紫外线照射处理被用作改善钛种植体表面特性的新方法,该方法可产生亲水性和嗜血性,且机制独特和操作简单^{13,18}。例如,虽然一般来说,BIC范围为 $45 \pm 16\%$ 或 50% 至 63% ⁴⁵,但令人惊讶的是,在大鼠模型中,紫外线照射处理的临床益处可将BIC值从 55% 增加到接近最高水平 98.2% 。同样,在生物力学测试中,与未经紫外线照射处理的种植体相比,在早期愈合阶段,经紫外线照射处理种植体的骨与种植体表面之间的骨结合强度提高了3倍¹⁵。骨结合这种提高可增加经紫外线照射种植体的BIC,原因如下。经紫外线照射处理的种植体表面可过滤掉大气中受污染的碳氢化合物,并作为直接细胞引诱剂发挥作用,而不依赖于离子桥或有机桥¹³。

Hirakawa等⁴⁶报告,对于受试犬模型而言,与未经紫外线照射处理的种植体组相比,植入经过紫外线处理的UV-A 24小时后,种植体亲水性显

著增强且骨形成增加,愈合2周后BIC值为42.7% (28.4%)。此外,Pyo等人¹⁴在借助相同的光电器件用复杂UV光(包括UV-A, B和C光)照射种植体后,立即植入种植体。Pyo等人证明种植体表面从亲水性转变为强亲水性,并且边缘、皮质和骨髓区域等所有区域的旋出扭矩值和BIC均增加。有意思的是,发现边缘和皮质骨的BIC高于95%以上,并且在经UV照射处理过的结合面处,仅边缘骨中出现密集矿化层。

我们推测,在无结缔组织的情况下,紫外线光处理可以增强骨骼和种植体表面之间的结合,并且还可以增强边缘区域的密封效果。尽管我们的数据中未列出BIC值,但经紫外线照射处理种植体的牙科影像学和组织学发现结果显示骨和种植体表面之间通过种植体边缘和皮质骨结合。

在这一点上,由于BIC增加以及边缘区域的种植体结合面处出现的密集骨生成,经紫外线照射处理的种植体对于结扎诱发的种植体周围炎具有积极作用。然而,由于受试比格犬数量较少,在将当前这些发现结果推广应用于人体时,必须持谨慎态度。需要更大的样本量和进一步的临床研究。

对患有结扎诱发的种植体周围炎的动物模型而言,本研究结果表明钛的光催化活性可减少经UV照射处理种植体周围的骨吸收。

结论

虽然这些只是初步结果(尤其是因为本研究样本量较小),然而,牙科影像学以及显微CT观察结果确实表明,经紫外线照射处理的种植体周围出现的骨吸收量没有未经紫外线照射处理种植体周围的骨吸收量大。组织切片的组织学观察结果还表明未经UV照射处理的种植体在骨-种植体

结合面处未出现附着和部分破坏。因此,紫外线照射的种植体似乎会抑制种植体周围炎的自发进展。

披露

作者声称不对于文章中列出的产品或信息持有直接或间接的财务利益。

致谢

本研究得到了日本学术振兴会KAKENHI基金的支持(基金编号:23592904)。K. Ishii、M. Matsuo和N. Hoshi对本研究的贡献处于伯仲之间。

批准

本研究动物实验方案和外科手术程序遵循神奈川牙科大学批准的动物护理指南(编号:144.145)。

参考文献

1. Jemt T, Lekholm U, Adell R. 使用骨性结合种植体治疗部分无牙颌患者:关于876个连续放置夹具的初步研究.口腔与上颌面植入国际杂志1989;4:211-217.
2. Van Steenberghe D, Lekholm U, Bolender C 等人. 骨性结合口腔种植体对于治疗部分无牙颌复发的适用性:一项关于558个夹具的前瞻性多中心研究.口腔与上颌面植入国际杂志1990;5:272-281.
3. Lekholm U, Gunne J, Henry 等. Brånemark 种植体在部分无牙颌骨中的有效率:一项为期10年的前瞻性多中心研究.口腔与上颌面植入国际杂志1999;14:639-645.
4. Mombelli A, Müller N, Cionca N. 关于种植体周围炎的流行病学.临床口腔种植研究.2012;23:67-76.
5. Pjetursson BE, Asgeirsson AG, Zwahlen M 等. 过去十年内种植牙科计划的改进:关于

旧出版刊物和新版出版刊物中存活率和并发症发生率的比较.口腔与上颌面植入国际杂志2014;29:308-324.

6. Zitzmann NU, Berglundh T. 种植体周围疾病的定义和患病率.临床牙周病学杂志.2008;35:286-291.
7. Atieh MA, Alsabeeha NH, Faggion CM Jr等. 种植体周围疾病的发病率:系统评价和荟萃分析.J Periodontol.2013;84:1586-1598.
8. Lang NP, Berglundh T. 种植体周围疾病:我们现在在哪里?——关于第七届欧洲牙周病学研讨会达成的共识.临床牙周病学杂志.2011;38:178-181.
9. Steinberg D, Sela MN, Klinger A等. 牙周细菌对钛和钛合金粉末的粘附.临床口腔种植研究.1998;9:67-72.
10. Bunetel L, Guérin J, Agnani G等. 存在甲硝唑和螺旋霉素时,体外研究对钛牙根卟啉单胞菌的影响.生物材料.2001;22:3067-3072.
11. Schwarz F, Sculean A, Romanos G等. 不同处理方法对去除早期斑块生物膜和生长于钛种植体上SAOS2成骨细胞活力的影响.临床口腔研究.2005;9:111-117.
12. Fujishima A, Honda K. 半导体电极中对水进行电化学光解.自然.1972;238:37-38.
13. Ogawa T. 钛种植体紫外光化.口腔与上颌面植入国际杂志2014;29:95-102.
14. Pyo SW, Park YB, Moon H等. 光华功能提高骨-种植体结合率、界面骨生成活力、边缘骨密封和种植体移除扭力值:犬下颌骨研究.种植牙医学.2013;22:666-675.
15. Aita H, Hori N, Takeuchi M等. 钛紫外光化对骨结合的影响.生物材料.2009;30:1015-1025.
16. Sawase T, Jimbo R, Baba K等. 光诱导亲水性增强初始细胞行为和早期骨沉积.临床口腔种植研究.2008;19:491-496.
17. Hori N, Ueno T, Minamikawa H等. 蛋白质吸附对UV光化钛的静电控制.生物材料学报.2010;6:4175-4180.
18. Iwasa F, Hori N, Ueno T等. 通过静电机制提高成骨细胞对UV光化钛的附着力.生物材料.2010;31:2717-2727.
19. Funato A, Yamada M, Ogawa T. 光化种植牙的成功率、愈合时间和稳定性.口腔与上颌面植入国际杂志.2013;28:1261-1271.
20. Suzuki S, Kobayashi H, Ogawa T. 光化种植体植入后的植入稳定性变化和骨结合速度.种植牙医学.2013;22:481-490.
21. Silverstein LH, Kurtzman D, Garnick JJ等. 种植体周围区域健康和患病的微生物群.种植牙医学.1994;3:170-174.
22. Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U等. 导致骨结合口腔植入失效的生物因素.(II).发病机制.欧洲口腔科学杂志.1998;106:721-764.
23. Quirynen M, De Soete M, Van Steenberghe

- D. 口腔种植体的传染风险:文献综述.临床口腔种植研究.2002;13:1-19.
24. Adell R, Lekholm U, Rockler B等人. 骨结合钛固定装置的边缘组织反应 (I) .一项为期3年的纵向前瞻性研究.口腔与上颌面植入国际杂志1986;15:39-52.
 25. Goodacre CJ, Bernal G, Rungcharassaeng K等人. 种植体和种植体假体的临床并发症.口腔修复学杂志.2003;90:121-132.
 26. Becker W, Becker BE, Newman MG等人. 可能导致种植牙失效的临床和微生物学发现结果.口腔与上颌面植入国际杂志1990;5:31-38.
 27. Schou S, Holmstrup P, Hjørtting- Hansen E等. 斑块诱发骨性结合口腔种植体出现边缘组织反应:文献综述.临床口腔种植研究.1992;3:149-161.
 28. Teixeira ER, Sato Y, Akagawa Y等. 羟基磷灰石涂层种植体周围粘膜炎症与边缘骨吸收的相关性:一项为期3年的横断面研究.口腔与上颌面植入国际杂志1990;5:31-38.
 29. Kim Y, Oh TJ, Misch CE等人. 关于种植体疗法的咬合注意事项:内含生物力学原理的临床指南.临床口腔种植研究.2005; 16:26-35.
 30. Isidor F. 关于种植体周围植入骨咬合力过大或斑块积聚进行组织学的评估.临床口腔种植研究.2005;16:26-35.
 31. Miyata T, Kobayashi Y, Araki H等. 受控咬合力过大对种植体周围组织的影响.第3部分:关于猴类的组织学研究.口腔与上颌面植入国际杂志2000;15:425-431.
 32. Kozlovsky A, Tal H, Laufer BZ等. 种植体负重过大对种植体周围发炎和未发炎粘膜中种植体周围骨骼的影响.临床口腔种植研究.2007;18:601-610.
 33. Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. 种植体受到实验性种植体周围炎和静态负重时的骨反应.关于犬类的研究.临床牙周病学杂志.2002;29:144-151.
 34. Hürzeler MB, Quiñones CR, Kohal RJ等. 猴体内种植体组织变化受正畸力和结扎破坏约束J Periodontol.1998;69:396-404.
 35. Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. 钛种植体周围骨反应受持续时间不同的静态负重的约束.关于犬类的研究(III).临床口腔种植研究.2001;12:552-558.
 36. Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. 钛种植体周围骨反应受持续时间不同的静态负重的约束.关于犬类的研究(II).临床口腔种植研究.2001;12:196-201.
 37. Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. 钛种植体周围骨反应受持续时间不同的静态负重的约束.关于犬类的研究(I).临床口腔种植研究.2001;12:1-8.
 38. Heitz-Mayfield LJ, Schmid B, Weigel C等. 咬合力过大会影响骨结合吗? 犬类研究.临床口腔种植研究.2004;15:259-268.
 39. Buser D, Janner SF, Wittneben JG等. 表面经喷酸蚀处理的511个钛种植体的10年存活率和成功率:关于303例部分无牙颌患者的回顾性研究.临床种植牙科及相关研究.2012;14:839-851.
 40. Kim MS, Jung UW, Kim S等人. 骨质附着于借助超大型钻孔插座中的离子束辅助沉积涂覆有磷酸钙的种植体表面:关于犬类的组织学和组织计量学分析.牙周与种植体科学杂志, 2013; 43:18-23.
 41. Jung UW, Kim S, Lee Ik等. 对犬类未达到初期稳定性的情况下安装微厚羟基磷灰石涂覆种植牙的二期稳定性.临床口腔种植研究.2014;25:1169-1174.
 42. Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P等. 对钛种植牙表面进行处理实现快速骨结合.牙科材料杂志.2007;23:844-854.
 43. Shibata Y, Tanimoto Y. 关于改进种植牙固定方法的综述.第一部分: 关于实现快速骨结合的表面优化.口腔修复学杂志.2015;59:20-33.
 44. Weinlaender M, Kenney EB, Lekovic V等人. 三种骨内牙种植体周围骨沉积的骨组织形态计量学.口腔与上颌面植入国际杂志2010;7:491-496.
 45. Ogawa T, Nishimura I. 与细胞外基质基因表达调控相关的旋转种植体和酸蚀种植体的不同骨结合概述.口腔与上颌面植入国际杂志2003;18:200-210.
 46. Hirakawa Y, Jimbo R, Shibata Y等. 加速光诱导亲水钛种植体上的骨形成:关于犬下颌骨的实验研究.临床口腔种植研究.2013;24:139-144.

