不同表面处理的骨整合经皮假体的细胞毒性及对植入后兔背部位感染预防及愈合效果的研究

朱庆岩[1]，赵雪林[2]，廖 松[2]，郭子轩[2]，赵子仪[2]，王 振[1]，王梓颖[1]，黄子福[1]，曹城玮[1]，许 猛[2]
[1]解放军医学院，北京 100853；[2]解放军总医院第四医学中心骨科医学部骨肿瘤科，北京 100037

摘要：背景 骨整合假肢可经皮将负荷直接转移到骨骼，相比传统接受腔假肢具有一定优势，但普遍面临经皮部位软组织无法密封导致的感染风险。**目的** 利用机械加工方式制造经皮假体并进行不同表面处理，探讨不同表面处理对机体的影响、感染预防能力及在经皮部位与软组织整合情况。**方法** 利用机加工方式制备实验用经皮假体36枚，随机平均分为A、B、C、D、E和F组，每组各6枚，A～E组表面分别采取喷砂+钛铌氮涂层、抛光+钛铌氮涂层、高抛光、喷砂+微弧氧化、酸蚀的处理工艺，F组表面不做处理，通过MTT法分析不同经皮假体浸提液对MC3T3-E1细胞及hFob1.19细胞存活的影响。将18只新西兰大白兔随机分为6组，每组3只，每只实验动物背部对称部位植入同种表面处理的假体2枚，观察实验动物手术部位皮肤生长恢复情况，进行不同时间白细胞、中性粒细胞、血小板、血红蛋白、丙氨酸转氨酶、肌酐、补体成分3及补体成分4的检测，分析不同表面处理经皮假体对兔血液学指标的影响。最后取肝、肾组织及经皮部位素材进行组织学检查。**结果** MTT方法检测结果显示，各实验组与对照组细胞存活率的差异均无统计学意义($P>0.05$)。术后同组不同时间的血小板计数、血红蛋白、丙氨酸转氨酶及肌酐数据差异无统计学意义($P>0.05$)。术后第28天，B组白细胞计数低于F组($P=0.019$)；术后第42天，A组白细胞计数高于F组($P=0.002$)，B、C、D及E组白细胞计数低于F组($P<0.001$)；术后第56天，B组补体成分3水平低于F组($P=0.039$)；术后第28天，B组补体C4水平低于A组($P=0.009$)与E组($P=0.006$)。肝、肾组织切片中无明显的变性、坏死、炎性变化等情况。经皮部位组织学检查显示抛光+钛铌氮涂层处理的经皮假体与周围软组织贴合紧密。**结论** 不同表面处理的经皮假体是安全的，没有对机体造成明显的损伤。表面未处理的经皮假体抵御感染的能力较弱，表面经过抛光+钛铌氮涂层处理的经皮假体抵御感染的能力较强，而且能够与周围软组织相对紧密的结合，可以作为临床应用的骨整合假肢经皮部位的表面处理工艺。

关键词：骨整合；感染；假体和植入物；生物膜；生物相容性；涂层
中图分类号：R687. 3 **文献标志码：**A **文章编号：**2095-5227(2025)06-0623-08
DOI：10.12435/j.issn.2095-5227.25030201
引用本文：朱庆岩，赵雪林，廖松，等.不同表面处理的骨整合经皮假体的细胞毒性及对植入后兔背部位感染预防及愈合效果的研究［J］.解放军医学院学报，2025，46（6）：623-630.

Cytotoxicity of osteointegrated percutaneous prostheses with different surface treatments and their effects on prevention and healing of posterior infection in rabbits

ZHU Qingyan[1], ZHAO Xuelin[2], LIAO Song[2], GUO Zixuan[2], ZHAO Ziyi[2], WANG Zhen[1], WANG Ziying[1], HUANG Zifu[1], CAO Chengwei[1], XU Meng[2]
[1]Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China; [2]Department of Bone Tumor, the Fourth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100037, China
Corresponding author: XU Meng. Email: profxum301@163.com

Abstract: Background Osseointegration prostheses can directly transfer the load to the bone through the skin, which has certain advantages compared with traditional prosthetic sockets. However, they generally face the risk of infection caused by the unsealing of the soft tissue in the percutaneous part. **Objective** To fabricate percutaneous prostheses via mechanical machining methods and apply distinct surface treatments to investigate their biological impacts, infection-resistant properties, and integration performance with soft tissues at transcutaneous interfaces. **Methods** Thirty-six experimental percutaneous prostheses were prepared by machining and were randomly divided into groups A, B, C, D, E, and F, with 6 in each group. The surface of groups A and E were treated by sandblasting+ TiNbN coating, polishing+ TiNbN coating, high polishing, sandblasting+micro-arc oxidation, and acid etching, while the surface of group F was not treated. The effects of different percutaneous prosthesis extracts on MC3T3-E1 were analyzed using the MTT method. Eighteen New Zealand white rabbits were randomly divided into 6 groups, with 3 rabbits in each group. Two prostheses with the same surface treatment were implanted in the symmetrical part of the back of each experimental

收稿日期：2025-03-02
第一作者：朱庆岩，在读硕士。Email: zhuqingyan217@163.com
通信作者：许猛，主任医师。Email: profxum301@163.com

animal. The skin growth and recovery of the surgical site of the experimental animals were observed. At the same time, the white blood cell count, neutrophil count, platelet count, hemoglobin, alanine aminotransferase, creatinine, complement component 3, and complement component 4 were detected at different time points, and the effects of percutaneous prostheses with different surface treatments on hematological indexes of rabbits were analyzed. Finally, the liver, kidney tissue, and percutaneous materials were taken for histological examination. **Results**　The results of the MTT assay showed that there was no significant difference in cell survival rate between the experimental groups and the control group ($P > 0.05$). There was no significant difference in platelet count, hemoglobin, alanine aminotransferase, and creatinine in the same group at different time points after operation ($P > 0.05$). On the 28th postoperative day, the WBC count in group B was lower than that in group F (P=0.019), and on the 42nd postoperative day, WBC counts in group A was lower than that in group F (P=0.002), groups B, C, D, E ($P<0.001$). The level of complement component 3 in group B was lower than that in group F (P=0.039). On the 28th day after operation, the level of complement C4 in group B was lower than that in group A (P=0.009) and group E (P=0.006). There was no obvious degeneration, necrosis, or inflammatory changes in liver and kidney tissue sections. The histological examination of the percutaneous site showed that the percutaneous prosthesis treated with polishing and titanium-niobium-nitrogen coating was closely attached to the surrounding soft tissue. **Conclusion**　Percutaneous prostheses with different surface treatments demonstrates biosafety without causing significant tissue damage. Untreated surface prostheses exhibits lower infection resistance, while those subjected to polishing combined with TiNbN coating treatment shows enhanced antimicrobial efficacy and achieves more robust integration with surrounding soft tissues. This optimized surface modification protocol holds clinical potential as a transcutaneous interface processing technique for osseointegrated prostheses.

Keywords: bone integration; infection; prostheses and implants; biofilm; biocompatibility; coating

Cited as: Zhu QY, Zhao XL, Liao S, et al. Cytotoxicity of osteointegrated percutaneous prostheses with different surface treatments and their effects on prevention and healing of posterior infection in rabbits[J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2025, 46(6): 623-630.

根据第2次全国残疾人抽样调查，我国残疾人总数约8 500万，肢体残疾约2 400万[1]，残疾人口多，且肢体残疾人口占比大。主要致残原因包括创伤或肿瘤，也可继发于血管疾病、糖尿病并发症、感染和脓毒症等[2]。肢体残疾人群通常会佩戴假肢，传统的接受腔假肢具有容纳残肢、提供支撑的作用，确保假肢与残肢稳固衔接。但接受腔假肢存在生物力学适配性不足、与残肢匹配不良、局部压力集中引发疼痛、排汗不畅、活动受限等问题。

骨整合假肢是通过外科手术将金属植入物与残肢骨骼固定，同时经皮与外部假肢连接的一种假肢，可将外部负荷直接转移到骨骼，不但能够减轻残肢软组织的疼痛和不适，还具有增加活动能力和本体感觉的优势[3]。感染是骨整合假肢使用面临的一个重要问题，目前临床使用的植入物感染率各不相同(5%～34%)，也有报道称使用的前2年内，100%的患者会在某个时间点出现浅表感染[4]。经皮部位的感染问题是限制骨整合假肢广泛应用的主要障碍[5]。为了防止经皮部位的感染，保持骨整合假肢的长期稳定使用，国内外已经进行了较多促进经皮部位密封的研究，包括使用抗菌涂层和释放药物涂层[6]，但由于抗生素耐药性的增加，抗菌涂层抗生素逐渐释放耗尽，难以长期维持有效抗菌作用。研究表明，植入物进行表面处理后具有预防感染的能力[7]。植入物表面处理技术在提升假体骨整合能力方面表现出良好效果，如钛铌氮涂层能够促进骨细胞的黏附与增殖，在关节假体、牙科种植体等植入物表面处理中应用广泛；微弧氧化技术能够使植入物形成多孔且粗糙的表面形貌，增强了假体与骨组织的结合。本研究尝试将不同表面处理技术应用于经皮假体表面，通过在实验动物背部建立经皮模型，探索不同表面处理经皮假体的感染预防以及与软组织整合的效果。

1　材料与方法

1.1　实验细胞及动物

小鼠胚胎成骨细胞前体细胞MC3T3-E1及人SV40转染成骨细胞hFob1.19购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。

18只体质量2.2～3.4 kg的雄性新西兰大白兔购自北京隆安实验动物养殖中心[许可证号：SCXK(京)-2019-0006]，并经北京晶莱华科生物技术有限公司实验动物伦理委员会审批通过(编号：JLHK-20240307-001)。

1.2　主要试剂及仪器

酶标仪(Thermo Multiskan FC)；麻醉机(上海玉研科学仪器有限公司)；全自动血液细胞分析仪器(迈瑞，BC-5000Vet)；全自动生化分析仪(迈瑞，BS-240VET)；病理切片机(上海徕卡，RM2016)；MTT试剂细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(碧云

天，C0009S)；HE高清恒染试剂盒(Servicebio，G1076)。

1.3　经皮假体的设计及制备

用于动物实验的经皮假体由底盘和中柱组成(图1)，假体底盘直径30 mm，厚3 mm，上附4个直径5 mm的圆孔，用来将其和皮肤进行固定，中柱直径7 mm，长20 mm。

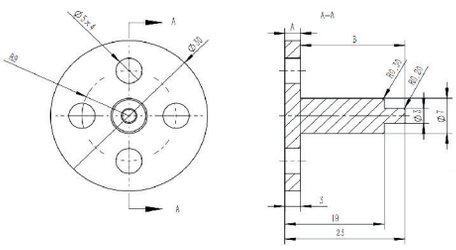


图1　动物实验经皮假体设计图纸

Fig. 1　Design drawing of percutaneous prosthesis for animal experiment

1.4　经皮假体表面处理

通过机加工方式制备经皮假体36枚，随机平均分为A、B、C、D、E、F组，每组各6枚，分别采取不同表面处理方式(图2)。A组进行喷砂+钛铌氮涂层处理，通过擦拭、浸泡等方式去除钛合金表面的油脂、污垢等杂质，选择喷砂设备，调整喷砂压力、距离和角度，按照合适的路径和速度对钛合金表面进行均匀喷砂，喷砂完成后将表面残留的灰尘清理干净，使用钛铌合金靶，在真空环境中溅射出钛(Ti)、铌(Nb)原子，利用氮气(N_2)作为反应气体，与溅射出的Ti、Nb原子反应生成TiNbN化合物涂层。B组进行抛光+钛铌氮涂层处理，在进行在清洗、粗抛、细抛基础上，同上进行钛铌氮涂层处理。C组进行高抛光处理，清洁后采取更加精细的磨料和研磨工具不断研磨，然后不断抛光使钛合金假体表面达到镜面效果。D组进行喷砂+微弧氧化处理，在喷砂基础上，将其放入具有特定成分和浓度电解液的氧化槽中，选择不锈钢材料与钛合金假体形成电解通路，设定电压、频率、温度等合适的工艺参数，然后在钛合金表面逐渐生长出氧化膜层。上述表面处理过程委托爱恩邦德(无锡)技术有限公司昆山分公司进行。E组进行酸蚀处理，在使用溶剂去除经皮假体表面污物后，将经皮假体放置于配比好的酸液中，调整好温度和时间，通过浸泡、喷涂等把金属表面酸蚀为微孔结构。处理过程委托威海恩一医疗科技有限公司进行。F组表面不进行处理。

1.5　MTT法检测不同经皮假体浸提液对细胞存活率的影响

MTT法检测经皮假体浸提液对小鼠胚胎成骨细胞前体细胞(MC3T3-E1)及人SV40转染成骨细胞(hFob1.19)存活的影响。动物实验经皮假体高温灭菌后，浸泡于细胞完全培养基24 h，将MC3T3-E1细胞接种于96孔板，添加不同经皮假体的浸提液，将96孔板放于培养箱中孵育24 h。孵育结束后，每孔中加入5 mg/mL的MTT溶液，继续孵育2 h。移除培养基，每孔中加入二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide，DMSO)，轻轻振荡确保充分溶解，使用酶标仪在562 nm波长处测量各孔的吸光度值(实验孔吸光度：As)。设立空白组，其不含细胞但是经过同样处理，用来校正背景吸光度(空白孔吸光度：Ab)；设立对照组，仅添加细胞完全培养基，经过同样处理测得吸光度(对照组吸光度：Ac)。通过[(As-Ab)/(Ac-Ab)]×100测得细胞存活率。同上述方法，改用hFob1.19细胞进行细胞毒性测试，观察不同经皮假体浸提液对细胞存活率的影响。

1.6　实验动物背部经皮模型建立

18只新西兰大白兔，随机分为A、B、C、D、E、F组，每组3只，每只实验动物背部对称部位植入同种表面处理的假体2枚。测定每只兔子体质量后，使用麻醉机对实验动物进行吸入麻醉，麻醉成功后，将兔子固定于手术台上，利用剃毛器、一次性备皮刀、脱毛膏进行备皮，剃光每只兔子的背部区域。碘伏进行背部消毒，铺无菌单，于背部中线外侧1 cm处做两个C形半圆形切口(直径35 mm)，然后用穿孔器械创建经皮通道。将实验用经皮假体放置于兔背皮肤下，假体柄部分通过经皮通道穿出，用非吸收缝线穿过假体底盘孔洞



图2　不同表面处理的动物实验经皮假体

Fig. 2　Animal experimental percutaneous prosthesis with different surface treatments

将假体与皮肤进行固定，最大限度防止假体与皮肤产生相对移动，缝合皮肤切口。术后保温至麻醉苏醒后放回笼中标记饲养，饲养时需要保证动物有充足的食物、水源并且保持舒适的环境温度。术后予以抗生素预防感染，采取青霉素钠30 000 U/kg，连续肌注5 d。

1.7　标本采集

通过耳缘静脉采血法，在术前以及术后第1、7、14、21、28、42、56天进行采血。将兔子放入固定盒中，露出头部及两耳，用手指轻轻摩擦兔耳，使静脉扩张，选耳静脉清晰的耳朵进行备皮和消毒，利用采血针在耳缘静脉末端逆血流方向刺入静脉取血。术后2个月，通过空气栓塞法将兔子处死，采集肝和肾组织，同时对背部的经皮假体，连同周围的皮肤进行取材。

1.8　血常规及血生化指标的检测

利用全自动血细胞分析仪和全自动生化分析仪进行血常规及血生化指标的检测，血常规指标包括白细胞(white blood cell，WBC)、中性粒细胞(neutrophil，Neu)、血小板(platelet，PLT)、血红蛋白(hemoglobin，HGB)，生化检测指标包括丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase，ALT)、肌酐(creatinine，CREA)、补体成分3(complement component 3，C3)、补体成分4(complement component 4，C4)，将血样以3 000 r/min离心15 min，每血清样本每个指标取30 μL上机检测。

1.9　HE染色检测脏器组织病理形态学变化

肝、肾组织样本用4%多聚甲醛固定24 h以上，确保组织充分固定。将固定后的脏器组织依次放入不同浓度的乙醇溶液中进行梯度脱水并浸蜡，利用切片机将包埋好的组织切成薄片，染色后镜下检查。

1.10　硬组织切磨片检测经皮假体与周围软组织的整合情况

带金属假体的组织标本经甲醛固定后，用低速金刚石切割机分切，随后经逐级研磨制得磨片，再依次进行脱蜡、水化、染色、脱水、透明及封片处理，最终在光学显微镜下观察界面结合和细胞浸润情况。

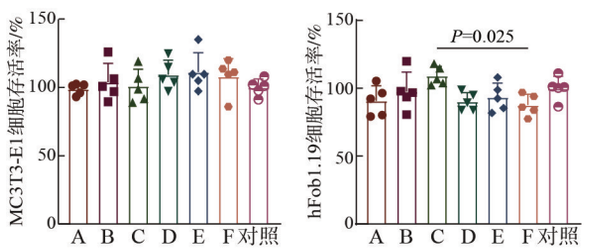
1.11　统计学分析

采用GraphPad Prism 9.1软件进行统计分析和绘图，根据每组数据正态性分布及方差齐性情况采取不同分析方法。多组间平均数比较采用单因素方差分析，中位数比较采用Kruskal-Wallis检验，$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　不同表面处理经皮假体浸提液对细胞存活的影响

各组间MC3T3-E1细胞存活率差异无统计学意义($P>0.05$)。hFob1.19细胞存活率影响的检验中，C组与F组差异有统计学意义($P=0.025$)，但各表面处理组与对照组差异无统计学意义($P>0.05$)。表明各表面处理经皮假体不影响细胞活性。见图3。



A：喷砂+钛铌氮涂层；B：抛光+钛铌氮涂层；C：高抛光；D：喷砂+微弧氧化；E：酸蚀处理；F：表面未处理。

图3　经皮假体浸提液对细胞存活率的影响

Fig. 3　Effect of percutaneous prosthesis on cell survival rate

2.2　术区观察

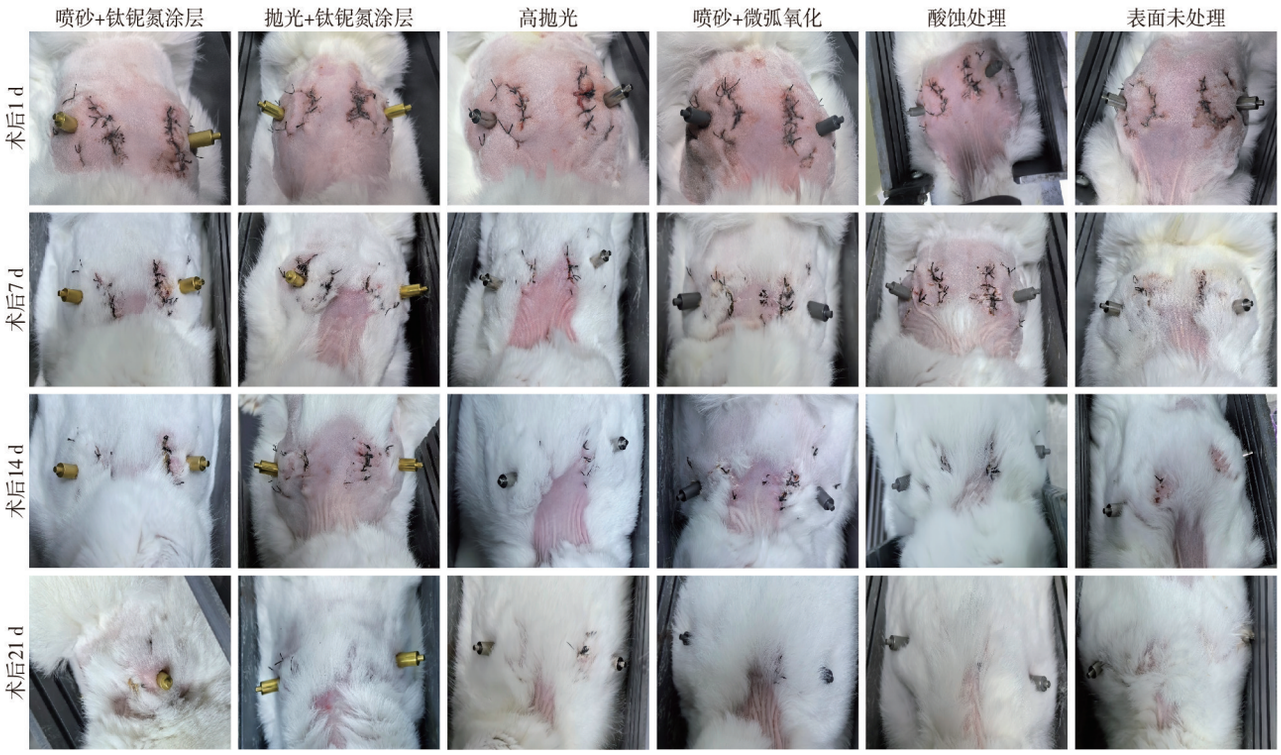
将经皮假体植入实验动物背部，未影响实验动物的正常活动和进食，全程密切观察术区后续的生长恢复动态。在术后的1～3 d时段内，假体植入部位轻度红肿。术后1周，不同组别术区观察到红肿现象慢慢消退，部分实验动物背部术区周围存在血痂。术后2周，实验动物术区周围血痂逐步褪去。术后3周后，假体相对牢固地处于皮下位置。通过术区变化及伤口愈合情况的观察，实验动物后背植入经皮假体后，皮肤逐渐生长恢复，假体处于相对稳定的植入状态(图4)。

2.3　实验动物术前基线水平情况

为排除各组实验动物初始情况对实验结果的影响，术前采集各组实验动物的性别、体质量等基础情况信息。实验动物均为雄性，在性别方面差异无统计学意义。经统计学分析，各组别实验前体质量、血红蛋白、血小板、丙氨酸转氨酶、肌酐、白细胞、中性粒细胞、补体成分3及补体成分4的差异无统计学意义。实验动物术前基线水平情况见表1。

2.4　血液学指标变化情况

对同一组别实验动物术前及术后各时间段的血红蛋白、血小板、丙氨酸转氨酶、肌酐水平进行分析比较，发现各组不同时间以上指标的差异



术后1 d，各组别假体植入区域轻度红肿；术后7 d，术区存在少许血痂，红肿消退；术后14 d，毛发生长明显；术后21 d，经皮假体处于较稳定植入状态。

图 4　实验动物不同时间术区状态

Fig. 4　Operating area states of experimental animals at different time points

表 1　实验动物基线水平情况

Tab. 1　Baseline level of experimental animals

指标	A	B	C	D	E	F	*F*/*H*值	*P*值
体质量/(kg，$\bar{x}\pm s$)	3.10±0.22	2.98±0.13	2.99±0.37	3.05±0.24	2.80±0.48	2.92±0.10	0.404	0.837
HGB/(g/L，$\bar{x}\pm s$)	139.00±9.54	163.00±1.00	149.70±17.62	142.30±11.59	139.30±20.55	143.70±19.73	1.107	0.407
PLT/[×10^9/L，*M*(*IQR*)]	435 (434 ~ 528)	435 (319 ~ 450)	463 (323 ~ 520)	484 (369 ~ 505)	320 (126- ~ 671)	466 (293 ~ 813)	1.627	0.898
ALT/(U/L，$\bar{x}\pm s$)	52.27±7.75	70.60±8.13	64.77±30.58	68.57±15.59	35.27±15.11	77.00±28.62	1.772	0.193
CERA/(μmol/L，$\bar{x}\pm s$)	76.27±10.02	74.40±6.39	67.83±5.98	78.13±6.28	80.97±4.20	78.83±20.74	0.577	0.717
WBC/[×10^9/L，*M*(*IQR*)]	11.63 (6.85 ~ 11.7)	10.83 (8.64 ~ 13.18)	12.23 (11.59 ~ 13.9)	10.33 (8.53 ~ 12.44)	8.16 (8.05 ~ 10.52)	11.22 (9.28 ~ 11.34)	6.123	0.295
Neu/[×10^9/L，*M*(*IQR*)]	2.27 (1.78 ~ 4.35)	2.73 (2.28 ~ 3.15)	4.60 (4.48 ~ 6.13)	2.65 (2.61 ~ 3.61)	2.47 (2.44 ~ 5.01)	2.67 (2.55 ~ 2.99)	6.754	0.240
C3/(g/L，$\bar{x}\pm s$)	0.21±0.04	0.22±0.04	0.21±0.04	0.20±0.02	0.25±0.10	0.24±0.07	0.458	0.800
C4/(g/L，$\bar{x}\pm s$)	0.07±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01	0.06±0.01	0.07±0.01	0.07±0.02	1.967	0.156

A：喷砂+钛铌氮涂层；B：抛光+钛铌氮涂层；C：高抛光；D：喷砂+微弧氧化；E：酸蚀处理；F：表面未处理。

无统计学意义($P>0.05$)，各指标术前及术后各时间段保持相对稳定(图5)，说明不同表面处理经皮假体未对实验动物造血功能及肝肾功能造成影响。

2.5　脏器组织学检查

术后2个月肝、肾组织学检查结果显示，肝组织被膜由厚薄均匀的富含弹性纤维致密结缔组织构成，肝小叶中央为中央静脉，周围是大致呈放射状的肝细胞和肝血窦。肾组织表面被膜由致密结缔组织构成，肾实质为浅层皮质和深层髓质，皮质髓质分界明显；皮质中肾小球分布均匀，肾小球基质均匀。各组脏器组织切片中无明显的水肿、变性、坏死、增生、肉芽组织、炎性变化等情况(图6)。

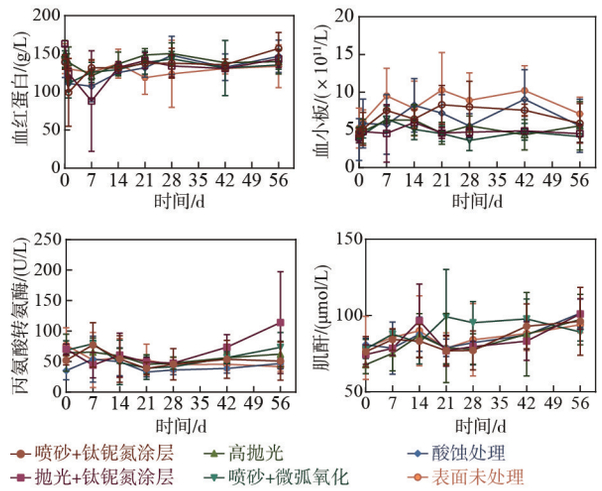


图5　实验动物血红蛋白、血小板、丙氨酸转氨酶及肌酐变化情况

Fig. 5　Changes of hemoglobin, platelet, alanine aminotransferase and creatinine in experimental animals

2.6　不同表面处理经皮假体的预防感染效果

对术后同一时间段不同组别实验动物的炎性指标数据进行分析，各组别白细胞计数在术后第28天的差异有统计学意义(P=0.015)，B组白细胞计数低于F组(P=0.019)；在术后第42天的差异有统计学意义(P<0.001)，A组白细胞计数低于F组(P=0.002)，B、C、D、E组白细胞计数低于F组(P<0.001)。各组别中性粒细胞计数在术后第42天的差异有统计学意义(P<0.001)，A组中性粒细胞计数低于F组(P=0.002)，B、C、D、E组中性粒细胞计数低于F组(P<0.001)。各组别补体C3数据在术后第28天的差异有统计学意义(P=0.009)，A组补体C3水平低于F组(P=0.021)，B组补体C3水平低于F组(P=0.007)；术后第56天的差异有统计学意义(P=0.036)，B组补体C3水平低于F组(P=0.039)。各组别补体C4数据在术后第28天的差异有统计学意义(P=0.007)，B组补体C4水平低于A组(P=0.009)与E组(P=0.006)。见图7。

综上，不同表面处理的经皮假体未对实验动物造成明显损害，表面未处理的经皮假体诱发炎症的可能性更大，表面处理组相比未处理组具备一定的预防感染能力，且以抛光+钛铌氮涂层表面处理的经皮假体更为显著。

2.7　经皮部位组织学检查

经皮假体部位进行硬组织切片及组织学分析，各实验组视野内可见黑色长条形材料。植入经皮假体材料周围少量细胞坏死(图8A、图8D黑色箭头)，胞核固缩、碎裂，可见少量结缔组织增生(图8A、图8B、图8C、图8D、图8E深红色箭头)，胶原纤维与成纤维细胞交错排列，同时可见少量淋巴细胞浸润(图8A、图8B、图8C、图8D、图8E蓝色箭头)，可见少量黑色色素沉积(图8A、图8E棕色箭头)。表面未处理经皮假体材料周围较多细胞坏死(图8F黑色箭头)，胞核固缩、碎裂，大量结缔组织增生(图8F深红色箭头)，胶原纤维与成纤维细胞交错排列，新生血管(图8F浅绿色箭头)，并可见血管淤血(图8F橙色箭头)，大量淋巴细胞、粒细胞浸润(图8F蓝色箭头)。对比各组材料周围软组织与其结合紧密程度，发现抛光+钛铌氮涂层表面处理经皮假体与周围组织结合相对紧密。综上，表面未处理组经皮假体周围大量炎性细胞浸润且与周围软组织整合欠佳，抛光+钛铌氮涂层表面处理与周围组织整合效果良好。

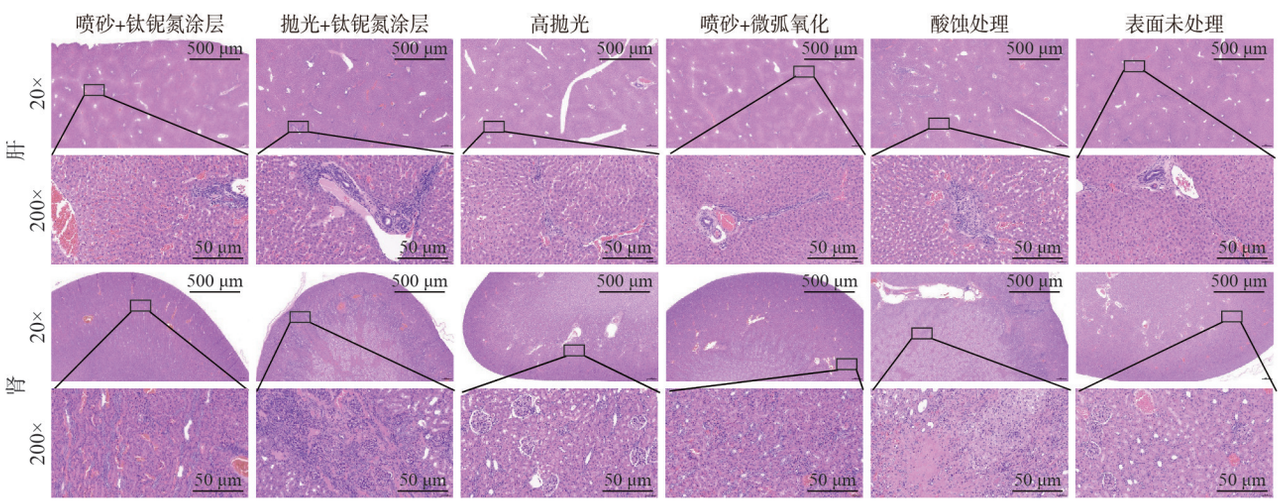
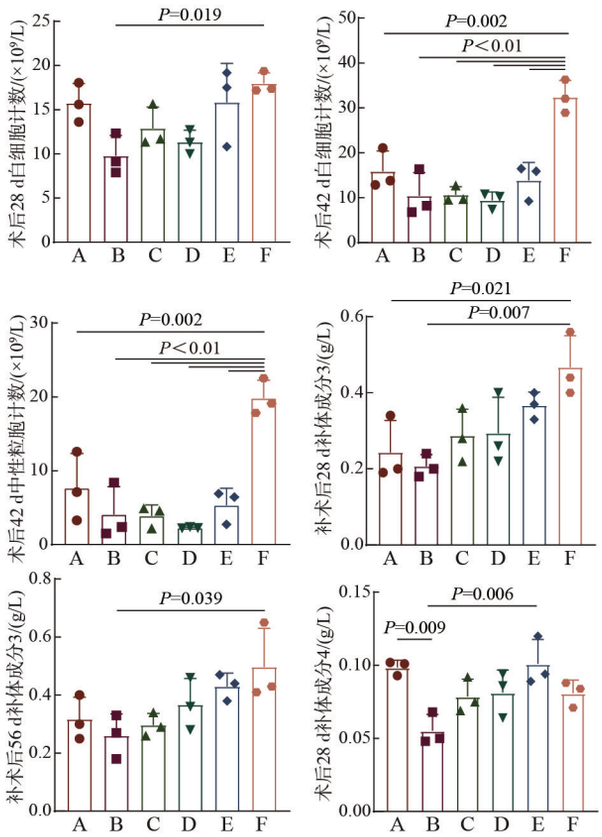


图6　脏器组织学检查

Fig. 6　Histological examination of organs



A：喷砂+钛铌氮涂层；B：抛光+钛铌氮涂层；C：高抛光；D：喷砂+微弧氧化；E：酸蚀处理；F：表面未处理。

图 7　术后各组别炎症指标情况

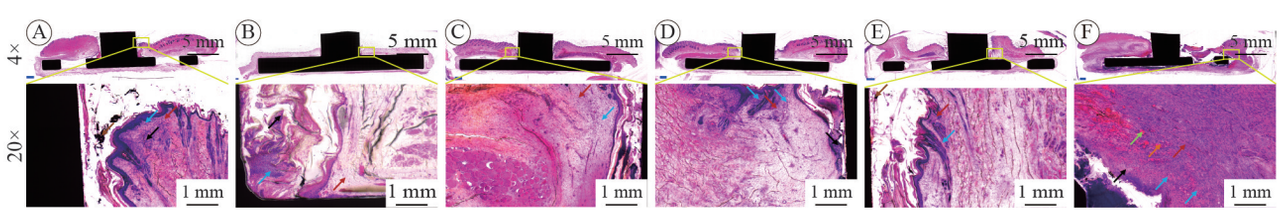
Fig. 7　Inflammation indexes of each group after operation

3　讨论

20 世纪 90 年代，Rickard Brånemark 设计的骨整合植入系统，首次被安装在瑞典 1 例双侧经股骨截肢患者体内，自此开启了该技术的临床应用，至今已有超 30 年的时间，但经皮部位的感染仍是临床面临的巨大挑战[8]。本研究聚焦于经皮假体表面处理技术，采用 5 种工艺对经皮假体表面进行改性，旨在赋予其长效预防感染能力，通过细胞实验、动物模型及组织学分析等多维度检测手段，系统探究不同表面修饰策略对经皮植入物预防感染性能的影响。结果表明，经抛光+钛铌氮涂层处理的经皮假体，展现出良好的感染预防效能，还能实现与周围软组织的紧密结合，为经皮骨整合假肢的临床应用提供了理论依据与技术参考。

本研究通过细胞毒性实验、血液学指标检测及脏器组织病理学评估等多维度分析，系统评价了植入材料的生物安全性。MTT 法检测结果显示，不同表面处理方式的经皮假体浸提液均未对细胞存活状况产生负面影响。对多时间点的血液学指标数据进行分析，同时结合脏器组织学分析，实验动物血小板、血红蛋白、丙氨酸转氨酶、肌酐水平保持相对平稳状态，未出现溶血、肝肾功能损伤或器官器质性病变，佐证了植入物的生物相容性，未对实验动物机体造成损害。

经皮植入物破坏了皮肤屏障，长期暴露在外界环境中，导致经皮界面软组织与内部骨骼始终存在感染风险[9-10]，且皮肤和植入物界面上存在大量微生物，这些微生物可能会进入深部组织导致感染[11]。同时，经皮植入物表面极易形成细菌生物膜，从而造成植入物周围软组织感染[12]。生物膜是一种微生物的有机集合体，能够附着于生物或非生物表面，可以增强微生物对宿主免疫及抗菌药物的抵抗力。植入物表面细菌生物膜引发的感染会发展成为长期不愈的慢性炎症，影响经皮植入物与周围软组织的整合[13]。经皮植入物周围发生软组织感染的情况较为常见[14]，目前常用的预防感染方式有肥皂水冲洗、抗生素、应用抗菌敷料，以及研发具有预防感染性能的材料。使用肥皂水冲洗经皮部位具有预防软组织感染的作用，但并不能消除所有的感染风险[15]。抗生素可以治疗部分患者的浅表软组织感染，但仍有约 5% 的患



A：经皮假体表面为喷砂+钛铌氮涂层，黑色为金属植入物材料，下方白色区域为底盘圆孔区域，可见少量结缔组织，假体中柱与周围软组织整合效果欠佳；B：经皮假体表面为抛光+钛铌氮涂层，假体与周围软组织贴合紧密，整合效果良好；C：经皮假体表面为高抛光，假体圆盘上部与周围软组织结合欠佳；D：经皮假体表面为喷砂+微弧氧化，可见少量细胞坏死，中柱周围存在与软组织整合欠佳区域；E：经皮假体表面为酸蚀处理，少量淋巴细胞浸润，假体周围与软组织整合欠佳；F：经皮假体表面未处理，大量炎性细胞浸润，假体与周围组织整合欠佳。

图 8　经皮部位组织学检查

Fig. 8　Histological examination of percutaneous site

者因出现深部感染需要通过二次手术处理，甚至需要取出植入物以控制感染[16-17]。抗菌敷料含有抗菌成分，可阻止细菌黏附和生物膜的形成，但其抗菌效果受释放速率和作用时间的限制，难以达到长时间的有效抗菌。具有预防感染性能的材料包括抗菌涂层和释放药物涂层[6]，涂层药物释放速度波动变化及涂层易磨损的缺点，导致其抗菌作用不稳定，且抗菌涂层有抗生素释放耗尽的情况。预防经皮部位感染关键在于建立经皮部位植入物与周围软组织的长期稳定密封[18-19]。植入物的表面修饰具有增强抗菌性能和生物相容性的作用[20]，能够促进皮肤与经皮植入物的结合，从而减少细菌黏附和生物膜的形成。

理想的经皮植入物表面处理技术，不仅需要具备抵御细菌入侵、抑制生物膜形成的能力，还应能够促进植入物与软组织之间形成良好的整合[21]。本研究以钛合金为原料制备动物实验用经皮假体，钛或其合金具有较好的机械性能和生物相容性，是植入体中常用的材料[22]，但其生物惰性表面限制了皮肤与经皮假体的紧密贴合。为此，本研究通过对假体表面实施多样化处理手段，系统探究不同处理方式下假体的感染预防能力及其与皮肤的整合效果。本研究对不同组别实验动物在多个时间节点的白细胞计数、中性粒细胞计数、补体成分3、补体成分4等指标进行动态监测，并开展经皮部位组织学分析。研究结果显示，植入表面未进行处理经皮假体的实验组，在多个观察时间点的多项炎症指标均高于其他组别。经表面处理的经皮假体具备一定的预防感染能力，而未经表面处理的经皮假体更易引发机体炎症反应。究其原因，表面未处理的经皮假体材料表面存在粗糙的微观结构，这种结构会持续刺激宿主组织；同时，假体难以与皮肤形成有效的密封屏障，从而增加了炎症发生的风险。经皮植入物表面采用高抛光处理可形成光滑镜面效果，虽能减少初期微生物附着，但光滑表面缺乏微观结构支撑，削弱了软组织结合能力，而且长期使用中若产生细微划痕，反而会成为细菌滞留和生物膜滋生的薄弱区，增加继发感染风险[11]。微弧氧化膜具有增强细胞相容性、耐腐蚀性、血管生成活性、成骨活性的潜力[23]。酸蚀技术是牙种植体表面处理的重要手段，能够优化种植体与周围骨组织的接触和结合效果，在种植牙临床应用中展现出良好治疗效果[24]。鉴于微弧氧化和酸蚀这两种表面处理方式均被用于促进骨整合，本研究对假体的经皮表面进行上述处理，旨在探究其对经皮部位的感染预防效果。结果表明，与未经表面处理的假体相比，经过微弧氧化和酸蚀处理的假体在感染预防上更具优势。其在经皮部位的预防感染作用机制仍有待进一步深入研究和阐释。钛铌氮涂层结合了钛、铌和氮元素，钛具有良好的生物相容性、耐腐蚀性和较高的强度[25]；铌具有一定化学稳定性，增强了涂层在体液环境中的抗腐蚀能力。钛铌氮涂层能够提高植入物的硬度和抗摩擦性能[26]，Bidossi等[27]的研究表明钛铌氮涂层具有减少细菌附着的能力。本研究证实，经皮假体表面采用抛光结合钛铌氮涂层的处理方法，展现出最佳的预防感染效果。这种处理方式不仅显著提升了假体的感染预防性能，还促进了假体与周围软组织的紧密结合。

本研究对经皮假体表面采取喷砂+钛铌氮涂层、抛光+钛铌氮涂层、高抛光、喷砂+微弧氧化、酸蚀处理等多种处理工艺，通过构建实验动物背部经皮模型，综合运用血液学指标检测及组织学检查等多维度评估手段，探究了不同表面处理经皮假体的安全性、预防感染性能及其与皮肤的整合效果。但研究仍存在一定局限性：(1)实际临床应用中，假体通常需承受不同程度的力学负荷，而本实验在兔背部放置假体的方式，未能完全模拟负重条件下力学因素对假体抗感染性能及组织相容性的影响；(2)尽管本研究证实了部分表面处理技术在预防感染和促进软组织整合方面的有效性，但对其具体作用机制，如表面特性调控细胞行为、抑制细菌黏附的分子机制等未深入探究。后续研究将着重围绕力学环境模拟和机制解析展开，进一步完善经皮假体表面处理技术的理论体系与应用价值。

综上所述，不同表面处理经皮假体具有生物安全性，表面未处理经皮假体更易诱发机体炎症反应，而经表面处理的假体呈现出显著的预防感染优势，特别是采用抛光+钛铌氮涂层处理的假体，不仅能够有效抵御细菌侵袭，还增强了与周围软组织的结合能力。本研究为骨整合假肢经皮部位的表面处理技术提供参考，为经皮假体进一步的临床转化及应用提供借鉴。

作者贡献 许猛：总体构思，审读和修正；朱庆岩：研究构思，实验设计及执行，数据采集和分析，论文撰写；廖松：论文修订；赵雪林、

郭子轩、赵子仪：数据收集和整理；王振、王梓颖：部分文献查阅，数据整理；黄子福、曹城玮：动物实验及样本采集。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突。

数据共享声明　本论文相关数据可依据合理理由从作者处获取，Email：zhuqingyan217@163.com。

参考文献

1　张仲凯，史俊，张伟．骨整合假肢的现状与展望［J］．中国矫形外科杂志，2023，31（22）：2052-2055．
2　Bernatchez J，Mayo A，Kayssi A．The epidemiology of lower extremity amputations，strategies for amputation prevention，and the importance of patient-centered care［J］．Semin Vasc Surg，2021，34（1）：54-58．
3　Sun YY，Xu JY，Lv S，et al．Extramedullary osseointegration-a novel design of percutaneous osseointegration prosthesis for amputees［J］．Front Bioeng Biotechnol，2022，10：811128．
4　Allyn G，Bloebaum RD，Epperson RT，et al．Ability of a wash regimen to remove biofilm from the exposed surface of materials used in osseointegrated implants［J］．J Orthop Res，2019，37（1）：248-257．
5　Fearing BV，Romereim SM，Danelson K，et al．Development of a small animal bone-anchored limb replacement model for infection interventions［J］．OTA Int，2025，8（1 Suppl）：e366．
6　Wu FF，Xu JT，Yan RJ，et al．In vitro and in vivo evaluation of antibacterial activity of polyhexamethylene guanidine（PHMG）-loaded TiO2 nanotubes［J］．Biomed Mater，2020，15（4）：045016．
7　Jeyapalina S，Beck JP，Agarwal J，et al．A 24-month evaluation of a percutaneous osseointegrated limb-skin interface in an ovine amputation model［J］．J Mater Sci Mater Med，2017，28（11）：179．
8　Ong J，Godfrey R，Isaacson B，et al．Determining the antibiofilm efficacy of oregano gel in an ex vivo model of percutaneous osseointegrated implants［J］．Microorganisms，2022，10（11）：2133．
9　Beck JP，Grogan M，Bennett BT，et al．Analysis of the stomal microbiota of a percutaneous osseointegrated prosthesis：a longitudinal prospective cohort study［J］．J Orthop Res，2019，37（12）：2645-2654．
10　Örgel M，Aschoff HH，Sedlacek L，et al．Twenty-four months of bacterial colonialization and infection rates in patients with transcutaneous osseointegrated prosthetic systems after lower limb amputation-a prospective analysis［J］．Front Microbiol，2022，13：1002211．
11　Kjellin P，Danielsson K，Håkansson J，et al．Biomechanical and histomorphometric evaluation of skin integration on titanium and PEEK implants with different surface treatments［J］．J Mater Sci Mater Med，2022，33（10）：68．
12　Ong J，Godfrey R，Nazarian A，et al．Comparison of Staphylococcus aureus tolerance between antimicrobial blue light，levofloxacin，and rifampin［J］．Front Microbiol，2023，14：1158558．
13　Zhang HF，Qiu JJ，Xing M，et al．Hydrogen plasma treated-Ce-BTC nanorods enable enhanced antibacterial activity and soft tissue sealing ability［J］．Chem Eng J，2022，449：137881．
14　Frölke JP，Atallah R．Surgical technique of minor revision of a transcutaneous osseointegration prosthetic system（TOPS）with implant retention［J］．Oper Orthop Traumatol，2025，37（2）：133-141．
15　Ong J，Godfrey R，Nazarian A，et al．Antimicrobial blue light as a biofilm management therapy at the skin-implant interface in an ex vivo percutaneous osseointegrated implant model［J］．J Orthop Res，2023，41（9）：2046-2054．
16　Overmann AL，Forsberg JA．The state of the art of osseointegration for limb prosthesis［J］．Biomed Eng Lett，2019，10（1）：5-16．
17　Hagberg K，Ghasemi Jahani SA，Omar O，et al．Osseointegrated prostheses for the rehabilitation of patients with transfemoral amputations：a prospective ten-year cohort study of patient-reported outcomes and complications［J］．J Orthop Translat，2022，38：56-64．
18　Ghribi N，Guay-Bégin AA，Bilem I，et al．Peptide grafting on intraosseous transcutaneous amputation prostheses to promote sealing with skin cells：Potential to limit infections［J］．J Biomed Mater Res A，2023，111（5）：688-700．
19　Bohart Z，Cassidy C，Merrill D，et al．Temporary botulinum immobilization of residuum muscles for facilitation of the initial ingrowth of skin to the porous Skin and bone integrated pylon in the technology of direct skeletal attachment：large animal model［J］．Front Rehabil Sci，2022，3：758238．
20　Zhang HD，Wu ZD，Wang ZM，et al．Advanced surface modification techniques for titanium implants：a review of osteogenic and antibacterial strategies［J］．Front Bioeng Biotechnol，2025，13：1549439．
21　Xue Y，Chen J，Ding TX，et al．Building biointegration of Fe2O3-FeOOH coated titanium implant by regulating NIR irradiation in an infected model［J］．Bioact Mater，2021，8：1-11．
22　Li K，Xue Y，Yan T，et al．Si substituted hydroxyapatite nanorods on Ti for percutaneous implants［J］．Bioact Mater，2020，5（1）：116-123．
23　Wen XY，Liu Y，Xi FQ，et al．Micro-arc oxidation（MAO）and its potential for improving the performance of titanium implants in biomedical applications［J］．Front Bioeng Biotechnol，2023，11：1282590．
24　Velasco-Ortega E，Jimenez-Guerra A，Monsalve-Guil L，et al．Long-term clinical outcomes of treatment with dental implants with acid etched surface［J］．Materials（Basel），2020，13（7）：1553．
25　Faoussi M，Bounou S，Wahbi M．Modeling of a new percutaneous orthopedic implant system to control the post-surgery osseointegration process［J］．J Biomed Phys Eng，2024，14（2）：199-208．
26　Skjöldebrand C，Tipper JL，Hatto P，et al．Current status and future potential of wear-resistant coatings and articulating surfaces for hip and knee implants［J］．Mater Today Bio，2022，15：100270．
27　Bidossi A，Bottagisio M，De Grandi R，et al．Ability of adhesion and biofilm formation of pathogens of periprosthetic joint infections on titanium-niobium nitride（TiNbN）ceramic coatings［J］．J Orthop Surg Res，2020，15（1）：90．

（责任编辑：孟晓彤）