纳秒激光诱导表面微纳结构对锆基金属玻璃 生物兼容性的影响

焦阳¹*,何卫锋¹,上官龙²,周留成¹,罗思海¹,聂祥樊¹

「空军工程大学航空工程学院等离子体动力学重点实验室,陕西西安 710043;

²陕西省泾阳县医院骨科,陕西 咸阳 713700

摘要 针对医用植入体材料锆基金属玻璃在应用中存在的生物兼容性问题,采用纳秒激光在金属玻璃试样表面诱导产生点阵和沟槽两种微纳结构,然后采用细胞活性测试、细胞分布和形态观察评价两种微纳结构对锆基金属玻璃生物兼容性的改善效果,并从表面形貌方面讨论激光表面改性对生物兼容性的改善机理。结果表明:相对于原始试样,激光诱导产生的沟槽结构能够显著增强成骨细胞在试样表面的黏附性和细胞活性,这主要归功于显著增加的表面粗糙度;点阵结构对细胞活性的改善效果不理想。除此之外,在沟槽试样表面,激光诱导产生的沟槽以及在沟槽内附着的微纳结构是成骨细胞在沟槽内部或附近沿着沟槽方向分布的主要原因。

关键词 激光技术; 锆基金属玻璃; 生物兼容性; 纳秒激光; 表面粗糙度

中图分类号 TG665 文献标志码 A

doi: 10.3788/CJL202047.1102007

Effect of Nanosecond Laser-Induced Micro-Nanostructures on Biocompatibility of Zr-Based Bulk Metallic Glasses

Jiao Yang^{1*}, He Weifeng¹, Shangguan Long², Zhou Liucheng¹, Luo Sihai¹, Nie Xiangfan¹

¹Science and Technology on Plasma Dynamics Laboratory, Aeronautics Engineering College,

Air Force Engineering University, Xi'an, Shaanxi 710043, China;

²Orthopedics Department, Jingyang County Hospital, Shaanxi Province, Xianyang, Shaanxi 713700, China

Abstract In an effort to resolve the biocompatibility problems of Zr-based bulk metallic glasses in biomedical applications as implant materials, a nanosecond laser was employed to produce dimple and groove textures on a Zr sample surface. The biocompatibility characteristics of the sample surface were evaluated by a cell viability test, cell alignment, and morphology observation. Moreover, the surface modifications induced biocompatibility enhancement mechanism were discussed from the perspective of the surface morphology evolution. The results show that, compared with an untreated sample, the laser-induced groove pattern could significantly enhance osteoblast adhesion on the sample surface and cell viability, which is mainly attributed to the remarkably improved surface roughness. However, the modification effect of the laser-induced dimple pattern on cell viability was undesirable. In addition, the laser-induced grooves and the micro-nanostructures attached in the grooves are the main reasons why the osteoblasts are distributed along the groove direction in or around the grooves.

Key words laser technique; Zr-based bulk metallic glass; bio-compatibility; nanosecond laser; surface roughness OCIS codes 140.3460; 140.3390; 160.3900

1引言

随着我国人口老龄化问题的加剧以及生活水平 的不断提高,人们对医用植入体,如人体骨关节、心 血管支架、牙齿等的需求急剧增加。美国食品和药物管理局的统计数据显示,从1990年到2010年,美国每年要进行数百万例植入体置换和修复手术^[1],这个数字在未来还会继续增长,医用植入体材料市

* E-mail: young_joeafeu@163.com

收稿日期: 2020-05-18; 修回日期: 2020-06-19; 录用日期: 2020-07-16

基金项目:广东省重点领域研发计划(2018B090906002)、国家自然科学基金(51875574)、国家重点研发计划(2016YFB1102603)

场前景广阔。目前,已被广泛用作植入体的材料有 钛合金、不锈钢、镁合金和钴合金。但这些传统的金 属和合金由于其本身的结构特性,在植入体应用方 面还存在一些问题,例如,弹性模量不匹配引起的应 力遮挡^[2]、材料的疲劳断裂^[3],以及由材料降解引起 的排异反应等^[4],这些问题给患者及其家庭带来了 巨大的经济负担和心理压力。因此,研制一种力学 性能优异、生物兼容性好的新型植入体材料成为了 研究热点。

金属玻璃是一种新型的非晶态金属合金,具有 强度和硬度高以及耐磨损、耐腐蚀等特性,是最具潜 力的植入体材料。植入体材料存在的最大问题是植 入人体后与人体组织不兼容,引起人体的排异反应, 最终导致植入体失效[5-6]。因此,提高金属玻璃的表 面生物兼容性是推动其成为植入体材料的关键环 节。目前,涂层、离子注入和激光改性等表面处理技 术已成功地被应用于改善金属结构材料的表面生物 兼容性^[7-9]。由于激光具有灵活性强^[10]、可控性 好[11]和加工效率高[12]的特点,因此,激光表面改性 技术表现出了巨大的应用优势。激光表面改性技术 就是在植入体表面诱导产生一层精细的微纳结构, 通过改善材料的表面形貌、化学性能来提高其生物兼 容性、骨整合能力、抗菌性,目前已取得了良好的效 果[6,13-14]。但是,该技术基本上都是被应用于钛合金、 不锈钢等晶体合金上,到目前为止还未曾见到用于提 高金属玻璃生物兼容性方面的相关报道。鉴于此,本 文采用纳秒激光在锆基非晶合金表面加工两种微纳 结构,通过体外细胞培养来评估这两种结构的生物兼 容性,进一步促进金属玻璃医用植入体的应用。

2 材料与方法

2.1 试样制备及表征

锆基金属玻璃具有优异的力学性能和化学性 能,这使得其具有成为植入体材料的巨大潜力。本 实验中采用的是购于美国 Visser Precision 公司的 锆基金属玻璃棒材,其牌号为 Vitreloy 105,直径为 3 mm,长度为 10 mm,其主要成分如表 1 所示。

表 1 Vitreloy 105 锆基金属玻璃的主要化学成分

Table 1 Main chemical composition of Vitreloy

105 Zr-based bulk metallic glasses

Element	Zr	Cu	Ni	Al	Ti
Volume fraction / ½	52.8	17.6	14.8	9.9	4.9

为便于进行激光处理以及后续的性能测试,先 采用 μEDM 技术将该棒材切成厚度为 3 mm 的圆 形薄片,然后采用冷镶嵌技术将其镶嵌在树脂基镶 嵌块体内,再依次用 1200 ♯ 和 2000 ♯ SiC 砂纸进行 打磨,最后用粒度为 1 μm 的金刚石悬浮溶液进行 抛光。所有试样在进行激光加工实验前后均进行超 声清洗,以移除残留在试样表面的杂质和污染物。

本文采用波长为 1024 nm、脉宽为 220 ns、频率 为 20 kHz 的 YAG 光纤激光器进行实验。激光加 工实验系统由激光器、三轴运动平台和控制系统组 成,如图 1 所示。激光器是固定的,控制系统通过控 制运动平台的移动和激光器的触发实现试样的激光 加工。根据本研究团队的前期研究^[15],本次实验采 用的激光能量密度为 30 J/cm²,在试样表面加工点 阵(dimples)和沟槽(grooves)两种微纳结构,如图 1 所示,详细的激光参数如表 2 所示。



Fig. 1 Nanosecond laser system and schematic of surface textures (dimple and groove)

表 2 制备点阵和沟槽两种表面微纳结构所采用的激光	参数
---------------------------	----

Table Z	Laser parameters for the fabrication of two
	surface micro-nano structures

Parameter	Value	
Wavelength /nm	1064	
Spot diameter /µm	32	
Pulse duration /ns	220	
Frequency /kHz	20	
Laser fluence $/(J \cdot cm^{-2})$	30	
Track distance /µm	90	
\mathbf{S}_{1}	0 (dimples)	
Scanning speed / (mm•s)	200 (grooves)	

采用扫描电子显微镜和激光共聚焦显微镜观察 激光处理前后试样的表面形貌,采用扫描电子显微 镜附带的 X 射线能谱分析仪(XRD)对试样表面的 化学成分进行分析。

2.2 细胞培养和活性测试

本文选用人体成骨细胞 MG-63 进行细胞活性 测试和细胞形态观察。

细胞培养:在 37 ℃、CO₂ 体积分数为 5%的保 温箱内,用 α MEM + 10% FBS + 100 units/mL penicillin 溶液对 MG-63 细胞进行培养,每 2~3 d 更换一次培养溶液。待培养烧瓶内的细胞密度达到 烧瓶面积的 80%~90%时,对细胞进行计数;然后 加入新的培养液,使含细胞悬浮溶液的细胞密度达 到 7.5×10⁵ cell/mL。

活性测试:1)对所有制备好的试样进行高温高 压消毒;2)消毒结束后,将试样放入无菌 96 孔反应 板内,然后将含有 MG-63 细胞的悬浮液接种到各试 样表面(每个试样大约接种 1500 个细胞),试样在保 温箱内静置 1 h,使细胞附着在试样表面;3)沿着反 应板孔壁内侧缓缓加入培养液,试样在保温箱内培 养 24 h;4)用 PBS 溶液冲洗试样表面 3 次,以移除 那些没有黏附在试样表面的失活细胞;5)向每个含 有金属玻璃试样的反应板孔内加入 10 µL CCK-8 细胞计数试剂,并在保温箱中培养 3 h;6)利用酶标 仪在 450 nm 波长处读取吸光度值(与细胞活性呈 正相关关系)。

此外,本文还设计了阴性对照组(无细胞)和阳 性对照组(1500个细胞,种于反应孔内)实验。为确 保数据的可靠性,所有试样均进行3次重复实验,取 平均值,并采用 t 检验验证不同试样之间的细胞活 性是否具有显著性差异,P<0.05表示显著性差异 (图中用 * 表示)。

2.3 细胞分布和形态观察

细胞活性测试完成之后,取出金属玻璃试样,用

PBS 溶液清洗试样表面 3 次后,将试样放入 10%福 尔马林溶液中于4℃下固定 24 h,然后用 TBS 溶液 再次清洗试样,最后用 1% Triton X-100 溶液浸透 细胞,室温下静置 30 min 后用 TBS 溶液冲洗试样 3 次。为了阻止细胞在试样表面产生非特定结合位 点,用 1%小牛血清溶液滴在试样表面,并将试样在 室温下静置 1 h。随后,用 phalloidin 试剂对细胞的 肌 动 蛋 白 进 行 染 色 处 理,试 样 在 室 温 下 静 置 30 min,再用 TBS 溶液冲洗试样 3 次。晾干后,采 用 DAPI 试剂对细胞核进行染色。最后,在荧光显 微镜下观察试样表面的细胞分布和形貌。

3 实验结果与讨论

3.1 表面形貌

三种不同试样的表面形貌如图 2 所示。从图中 可以看到激光诱导产生的烧蚀坑和沟槽在试样表面 呈周期性分布,并且在烧蚀点坑和沟槽周边有烧蚀 熔融再沉积生成的突起,这些表面特征在很大程度 上决定了试样的表面粗糙度,进而影响其表面生物 兼容性。

三种试样的表面粗糙度以及激光诱导产生的烧 蚀坑和沟槽尺寸如表 3 所示,原始试样、点阵试样以 及沟槽试样的表面粗糙度 S_a 分别为 0.065,0.21, 3.54 μ m,沟槽试样的表面粗糙度约为原始试样的 54 倍,点阵试样的表面粗糙度约为原始试样的 3 倍。激光诱导产生的烧蚀坑的直径为 32.23 μ m,深 度为 2.44 μ m;激光诱导产生的沟槽的宽度为 28.6 μ m,深度为 10.2 μ m。两种表面结构在水平 方向上的直径/宽度基本相当,但深度方向的差距较 大。根据表面粗糙度的定义,结构特征尺寸在深度 方向上的差异对试样的表面粗糙度起决定作用^[16], 所以沟槽试样的表面粗糙度远大于点阵试样和原始 试样。

表 3 不同试样的表面结构尺寸和表面粗糙度

Table 3 Dimensions of surface textures and surface roughness of different samples

Sample	Surface	Denth /m	Diameter or	
	roughness $/\mu m$	Deptn / µm	width $/\mu m$	
Dimple-textured	d 0.21	2.44	32.23	
Groove-textured	d 3.54	10.2	28.6	
Original	0.065	—	_	

为了进一步对激光诱导产生的点阵、沟槽的结构特征进行分析,采用高分辨率场发射电子显微镜 对金属玻璃试样的表面结构进行表征,结果如图3



图 2 不同锆基金属玻璃试样表面的三维形貌图。(a)原始试样;(b)点阵试样;(c)沟槽试样 Fig. 2 Surface 3D morphologies of different Zr-based bulk metallic glasses. (a) Original sample; (b) dimple-textured sample; (c) groove-textured sample



图 3 不同锆基金属玻璃试样表面的扫描电镜图。(a)(b)原始试样;(c)(d)点阵试样;(e)(f)沟槽试样 Fig. 3 Scanning electron microscope images of different Zr-based bulk metallic glasses surfaces. (a)(b) Original sample; (c)(d) dimple-textured sample; (e)(f) groove-textured sample

所示。从图中可以看出:在点阵试样表面,激光诱导 产生的烧蚀坑周围有一圈熔融再沉积产物(有的为 长条形,有的为球形),还有一些颗粒状沉积物(其尺 寸都是微米、纳米尺度的);更明显的是,在沟槽试样 的沟槽两侧产生的堆积物厚度很大,长球形、球形沉 积物分布在沟槽内和沟槽两侧。这些激光诱导产生 的微纳结构对试样的表面粗糙度、试样表面的细胞 分布和活性都有重要影响^[17]。

3.2 表面化学分析

表4 所示为三种锆基金属玻璃试样表面的化学成分分布。从表中可以看出,除了锆基金属玻璃本身的 Zr、Cu、Ni、Al、Ti 等元素以外,在试样表面均

发现了大量的 C 元素和 O 元素,这是试样表面在空 气中发生了氧化反应所致。激光辐照之后,C 元素 的原子数分数从 58.89%提高到 72.87%(点阵试 样)和 75.46%(沟槽试样)。然而,相应试样表面的 O、Zr 和 Al 元素含量却发生了降低。此外,受试样 表面 C 元素和 O 元素污染的影响,其他几种元素 (如 Cu、Ni、Ti)的含量很少,且在激光辐照前后变化 不大。激光辐照前后,O、Zr 和 Al 元素的降低与激 光去除试样表层的 ZrO₂和 Al₂O₃氧化物有关,然 而,激光辐照诱导试样表面 C 元素含量的升高可能 与激光辐照过程中诱导产生的碳氢化合物附着在试 样表面有关。

表 4 不同	告基金属玻璃试样表面的化学成分
--------	-----------------

Table 4 Chemical composition of different Zr-based bulk metallic glasses surfaces

Sample	Atomic fraction / %						
	С	0	Zr	Cu	Ni	Al	Ti
Original	58.89	28.58	4.77	0.76	0.44	5.69	0.87
Dimple-textured	72.87	18.23	1.33	0.83	0.36	5.69	0.70
Groove-textured	75.46	17.12	1.08	0.73	0.38	4.58	0.66

3.3 细胞活性

人体成骨细胞 MG-63 在不同锆基金属玻璃试 样表面培养 24 h 后的细胞活性通过 CCK-8 测试获 得,结果如图 4 所示。从图中可以看出,沟槽结构试 样表面的吸光度明显高于原始试样和点阵试样,这 说明沟槽试样表面的细胞活性优于原始试样和点阵 试样。同时,沟槽结构试样表面的吸光度还高于阳 性对照组,这进一步说明了激光在试样表面诱导产 生的沟槽微纳结构有利于细胞的生长、增殖。然而, 点阵结构试样表面的吸光度略小于原始试样和阳性





Fig. 4 Cell viability of MG-63 cells cultured on different Zr-based bulk metallic glasses surfaces for 24 h (AC: original sample, GT: groove-textured sample, DT: dimple-textured) 对照组,这说明点阵结构对细胞活性的改善效果不明显,甚至抑制了细胞活性。

以上结果表明,激光在试样表面诱导产生的沟 槽结构对细胞活性产生了显著影响,这在很大程度 上归因于试样表面形貌的变化。

3.4 细胞分布和形态观察

除细胞活性以外,试样表面结构对其表面细胞 分布和细胞形态也有很大影响。因此,本文对三种 试样表面的细胞分布和细胞形态进行了荧光显微观 察,结果如图 5 所示。如前所述,为了便于观察细胞 形态,分别对细胞核和肌动蛋白采用不同的试剂进 行染色,图中蓝色部分代表细胞核,绿色部分代表肌 动蛋白。从图 5 中可以清晰地看到激光诱导产生的 沟槽和点阵结构,在原始试样和沟槽试样表面可以 看到很多细胞,目沟槽试样表面的细胞数量多干原 始试样,但是在点阵试样表面几乎看不到细胞,该结 果与3.3节的细胞活性测试结果一致,说明试样表 面的沟槽结构能够促进细胞黏附,但点阵结构会抑 制细胞在试样表面的黏附。除此之外,从细胞分布 图中不难发现,成骨细胞在原始试样表面随机分布, 但在沟槽内或沟槽附近沿着沟槽方向分布。这说明 沟槽结构对细胞具有"接触导向"作用。

3.5 讨 论

告基金属玻璃具有优异的力学、化学性能,以及 良好的可加工性和出色的玻璃成形能力,这些特性



图 5 MG-63 细胞在不同锆基金属玻璃试样表面的分布以及形态图。(a)原始试样;(b)沟槽试样;(c)点阵试样 Fig. 5 Distribution and morphology of MG-63 cells on different Zr-based bulk metallic glasses samples surfaces. (a) Original sample; (b) groove-textured sample; (c) dimple-textured sample

使其具有成为医用植入体材料的巨大潜力。表面特性,特别是表面形貌,是影响细胞黏附、分布和增殖的重要因素^[13,18]。

本文采用纳秒激光在锆基金属玻璃试样表面诱 导产生沟槽和点阵两种微纳结构,以改善锆基金属 玻璃试样的表面特性,从而改善其生物兼容性。三 种不同表面结构试样的细胞活性测试结果、细胞在 试样表面的分布特征以及细胞形态结果表明:沟槽 结构能够增强试样表面的细胞活性,促进细胞在试 样表面黏附,并引导细胞在沟槽内部或附近沿着沟 槽方向分布;点阵结构会弱化试样表面的细胞活性, 抑制细胞在试样表面的黏附,这与激光对试样表面 形貌的改变有关。

有研究表明,植入体的表面形貌能够显著影响 细胞在其表面的排列、分布以及增殖,对细胞在植入 体表面的附着具有"接触引导"作用[13.18]。还有研 究表明:植入体的表面形貌能够显著影响植入体表 面蛋白质的预吸收及细胞行为[19];增加植入体的表 面粗糙度能够增强其亲水性,有利于蛋白质被植入 体表面预吸收,从而促进细胞在植入体表面的早期 附着,并进一步影响植入体表面的细胞活性。此外, 增加植入体的表面粗糙度还能够增加植入体与细胞 的接触面积,从而诱导更多的细胞吸附在植入体表 面,促进植入体与周围组织的融合^[6]。在本研究中, 激光诱导产生的两种表面结构,特别是沟槽结构,能 够显著提高试样的表面粗糙度,沟槽试样显著增大 的表面粗糙度是其表面细胞活性增强的主要原因。 但对于点阵试样,虽然其表面粗糙度略高于原始试 样,但其表面细胞的活性却逊于原始试样,这可能与 激光辐照过程中在试样表面引入的一些不利于细胞 附着的化学成分和官能团有关。Chen^[20]等也发现, 化学成分变化对试样表面细胞的活性及细胞附着状 态具有一定影响。关于激光辐照前后试样表面化学 成分变化对细胞行为的影响将在后续研究中进行。 除此之外,激光诱导在沟槽周围产生的一些特性结构,如气体沉积颗粒、长条形或球形沉积物,能够为 细胞的附着提供抓取点,从而促进细胞在沟槽周围 附着,这是细胞在沟槽试样表面的沟槽内或沟槽两 侧沿着沟槽方向分布、生长的主要原因。

4 结 论

本文利用纳秒脉冲激光在锆基金属玻璃试样表 面加工了点阵和沟槽两种微纳结构。细胞活性实验 表明,激光诱导产生的沟槽结构能够显著增强试样 表面的细胞活性,而点阵结构对细胞活性的改善效 果不明显。细胞分布和形态观察结果表明,激光诱 导产生的沟槽结构有利于细胞的附着,并对细胞的 分布具有"接触导向"作用,而细胞在点阵试样表面 随机分布。激光诱导沟槽结构能够显著增大试样的 表面粗糙度,这是沟槽结构试样表面生物兼容性增 强的主要原因。

参考文献

- Demetriou M D, Wiest A, Hofmann D C, et al. Amorphous metals for hard-tissue prosthesis [J].
 JOM, 2010, 62(2): 83-91.
- [2] Long W J, Nayyar S, Chen K K, et al. Early aseptic loosening of the Tritanium primary acetabular component with screw fixation [J]. Arthroplasty Today, 2018, 4(2): 169-174.
- [3] Igarashi K, Afrashtehfar K I. Clinical assessment of fractured implant abutment screws: the Bernese silicone replica technique [J]. The Journal of Prosthetic Dentistry, 2018, 119(5): 717-719.
- [4] Meagher P, O' Cearbhaill E D, Byrne J H, et al. Bulk metallic glasses for implantable medical devices and surgical tools[J]. Advanced Materials, 2016, 28 (27): 5755-5762.

- [5] Li H F, Zheng Y F. Recent advances in bulk metallic glasses for biomedical applications [J]. Acta Biomaterialia, 2016, 36: 1-20.
- [6] Kumari R, Scharnweber T, Pfleging W, et al. Laser surface textured titanium alloy (Ti-6Al-4V) - Part II
 - studies on bio-compatibility [J]. Applied Surface Science, 2015, 357: 750-758.
- [7] Yang Y Z, Kim K H, Ong J L. A review on calcium phosphate coatings produced using a sputtering process: an alternative to plasma spraying [J]. Biomaterials, 2005, 26(3): 327-337.
- [8] Rautray T R, Narayanan R, Kim K H. Ion implantation of titanium based biomaterials [J]. Progress in Materials Science, 2011, 56(8): 1137-1177.
- [9] Villapún V M, Qu B K, Lund P A, et al. Optimizing the antimicrobial performance of metallic glass composites through surface texturing [J]. Materials Today Communications, 2020, 23: 101074.
- [10] Bao Y M, Wang C W, Jin Z W, et al. Textured surface on a bioceramic coating via a femtosecond laser and its friction and wear properties[J]. Chinese Journal of Lasers, 2019, 46(2): 0203003.
 鲍雨梅, 王成武, 金志伟, 等. 激光表面织构化生物 陶瓷涂层及其摩擦磨损性能[J]. 中国激光, 2019, 46(2): 0203003.
- [11] Jiang C Y, Wang C Y, Luo K Y, et al. Effects of laser shock layer number and Cl-concentration on anticorrosion behaviors of AM50 Mg alloys [J]. Chinese Journal of Lasers, 2018, 45(9): 0902004.
 江崇远, 王长雨, 罗开玉,等.激光冲击层数和氯离 子浓度对 AM50 镁合金耐腐蚀性能的影响[J].中国 激光, 2018, 45(9): 0902004.
- [12] Wei J, Zhang B, Liu H, et al. Time-resolved shadowgraphic imaging of femtosecond laser ablated micro-holes in silica glass [J]. Chinese Journal of Lasers, 2019, 46(5): 0508020.
 魏健,张彬,刘晖,等. 飞秒激光烧蚀石英微孔的时间分辨阴影成像[J]. 中国激光, 2019, 46(5):

0508020.

- [13] Chen J, Mwenifumbo S, Langhammer C, et al. Cell/ surface interactions and adhesion on Ti-6Al-4V: effects of surface texture [J]. Journal of Biomedical Materials Research Part B, 2007, 82(2): 360-373.
- Ohtsu N, Kozuka T, Yamane M, et al. Surface chemistry and osteoblast-like cell response on a titanium surface modified by a focused Nd: YAG laser
 [J]. Surface and Coatings Technology, 2017, 309: 220-226.
- [16] Cai Y K, Chang W L, Luo X C, et al. Superhydrophobic structures on 316L stainless steel surfaces machined by nanosecond pulsed laser [J]. Precision Engineering, 2018, 52: 266-275.
- [17] Li J, Shi L L, Zhu Z D, et al. Zr₆₁ Ti₂Cu₂₅ Al₁₂ metallic glass for potential use in dental implants: biocompatibility assessment by *in vitro* cellular responses[J]. Materials Science and Engineering C, 2013, 33(4): 2113-2121.
- [18] Revathi A, Das M, Balla V K, et al. Surface engineering of LENS-Ti-6Al-4V to obtain nano- and micro-surface topography for orthopedic application [J]. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2019, 18: 157-168.
- [19] Huang L, Cao Z, Meyer H M, et al. Responses of bone-forming cells on pre-immersed Zr-based bulk metallic glasses: effects of composition and roughness [J]. Acta Biomaterialia, 2011, 7(1): 395-405.
- [20] Chen J, Ulerich J P, Abelev E, et al. An investigation of the initial attachment and orientation of osteoblast-like cells on laser grooved Ti-6Al-4V surfaces[J]. Materials Science and Engineering C, 2009, 29(4): 1442-1452.