

# 钛酸盐纳米线控制细胞的粘附及其活性

丁祥龙<sup>1</sup>, 王敬旭<sup>2</sup>, 林曦<sup>1</sup>, 吴靖漪<sup>1</sup>, 岳新新<sup>1</sup>, 贾芳<sup>1</sup>, 郭泽鸿<sup>1</sup>, 高岩<sup>1</sup>, 周磊<sup>1</sup>

(1. 南方医科大学口腔医院(广东省口腔医院)种植中心, 广东 广州 510280)

(2. 广州医科大学第一附属医院 口腔科, 广东 广州 510120)

**摘要:** 控制细胞与生物材料的互动在植入器械包括药物输送系统, 生物感应器等方面的应用是非常渴望的。目前对于开发能够限制细胞的粘附以及活性的新材料有着较大的期待。通过水热法在钛片表面制作钛酸盐纳米线支架, 研究了钛酸盐纳米线对 MG63 成骨细胞粘附、增殖、分化的影响。结果显示, 与光滑组钛片比较在纳米线表面有较少的细胞粘附, 扫描电镜观察可见仅有少量细胞被纳米线穿刺并固定在纳米线表面, 并且细胞形态呈不规则的长条形, 免疫荧光染色显示细胞不能形成细胞骨架并且细胞形状不规则; 随后的细胞增殖也受到了明显的抑制; 碱性磷酸酶以及 RUNX2 活性检测发现纳米线组细胞其分化能力也相应减弱。纳米线表面细胞早期粘附以及增殖及分化功能受到严重抑制。这种抗细胞粘附的纳米结构在药物缓释系统以及生物感应器等方面有应用价值。

**关键词:** 纳米形貌; 生物感应器; 钛

**中图分类号:** TG146.2<sup>+</sup>3; TB383

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-185X(2017)11-3394-06

生物材料的性能与材料的表面形态紧密相关。心血管支架、神经电极以及整形外科植入体等植入器械的成功与否受到细胞与材料表面互动能力的影响。在材料的特征中表面形态是一种稳定的特征, 而其他特征例如表面化学修饰会随着时间的延长而退化。因此, 对于表面形态的修饰这种直接而长久的控制细胞行为的方法便引起了广泛的关注<sup>[1-5]</sup>。目前, 已经发现细胞对光滑表面与微米或者纳米级粗糙度的表面具有截然不同的反应<sup>[3]</sup>。然而, 对于生物材料的研究多数集中在增强细胞/生物材料互动的技术和方法上。很少有研究开发纳米材料来控制细胞的粘附与活性。但是抗生物淤积材料在药物输送系统、生物感应器、以及生物电子工程方面有着很大的需求。因此, 设计有效的抗生物淤积材料控制细胞的粘附以及活性仍然是一项长期的挑战<sup>[6,7]</sup>。

细胞的粘附和扩展是一个高度复杂的过程, 并且在细胞其他行为方面包括迁移、增殖、分化以及凋亡等过程中起着关键作用<sup>[3]</sup>。其中细胞的粘附、扩展通过黏着斑这一多功能的细胞器来实现。然而整合素的聚集对于细胞的粘附起到至关重要的作用, 生物材料的表面形态在纳米级别的改变能够调节纳米级别整合素的聚集, 导致细胞粘附改变<sup>[8,9]</sup>。最近有报道指出表面经过一维纳米结构修饰的生物材料能够影响

不同细胞的粘附功能, 例如自组装一维纳米管<sup>[3,8]</sup>, 针对纳米柱以及刀片样纳米格栅、纳米针、纳米纤维、纳米片等<sup>[9-11]</sup>。这些研究均是通过表面纳米级别形态的改变来影响细胞的粘附与扩展。

在本研究中通过水热法制作了一维纳米线来减少细胞的粘附降低 MG63 细胞的活性。由于纳米线排列紧密并且达到十几微米的高度, 细胞不能粘附到材料的基底表面, 而是被纳米线穿刺固定在表面。因此细胞的粘附、增殖, 细胞骨架的形成均受到严重影响。这些结果显示, 纳米线结构能够有效的控制细胞的粘附、增殖, 是一种理想的抗生物淤积结构。这种结构在药物输送系统、生物感应器的制备、乃至生物电子工程方面有着广阔的应用空间。

## 1 实验

实验材料为纯钛片, 厚度为 1.5 mm, 直径为 15 mm, 砂纸从 100#依次打磨至 1000#, 然后将钛片放在丙酮, 无水乙醇中依次超声清洗 20 min, 之后用大量去离子水冲洗。再将钛片置于在室温下自然干燥。随后把钛片置于盛有 10 mL、1.0 mol/L NaOH 的四氟乙烯反应釜内, 220 °C 反应 8 h, 自然冷却至室温, 将钛片取出大量去离子水浸泡冲洗至 pH 值为 7 左右, 室温下干燥, 高温高压灭菌后待用。丙酮、无水乙醇、氢氧化钠均为

收稿日期: 2016-11-15

基金项目: 国家自然科学基金(81170998); 广东省医学科学技术研究基金(A2015208)

作者简介: 丁祥龙, 男, 1984 年生, 博士, 医师, 南方医科大学口腔医院(广东省口腔医院)种植中心, 广东 广州 510280, 电话: 020-84408890, E-mail: dingxianglong88@126.com

分析纯试剂。

采用场发射扫描电镜(FE-SEM), (1530VP, LEO, Germany)以及透射电镜(TEM), (Tecnai-10, PHILIPS, Holland)对样品的表面结构及形态进行观察, 采用 X 射线衍射 XRD 仪 (Cu 靶  $\lambda=0.15418$  nm, 40 kV, 40 mA) (D8 Advance, Bruker, Germany)进行产物的晶相分析, 样本的亲水性检测通过座滴法(OCA40 Micro, Dataphysics, Germany)检测。

牛血清白蛋白(BSA) V 在本研究中作为模型蛋白。在每个样本表面涂布 300  $\mu$ L 蛋白溶液 (1 mg/mL), 在 37  $^{\circ}$ C 无菌条件下孵育 1, 6, 12, 24 h 之后, 将未粘附到钛片表面的蛋白去除。蛋白吸附能力通过酶标仪(BIO-RAD Model 680, USA)波长为 562 nm 做定量检测。

MG63 细胞在 5%CO<sub>2</sub> 浓度 37  $^{\circ}$ C 条件下, 用含青链双抗的 DMEM 培养液 (含 10%胎牛血清)将 MG63 细胞贴壁培养于细胞培养瓶中, 培养至 80%融合时, 用 0.25% 胰酶消化, 将细胞以  $2.4 \times 10^4/\text{cm}^2$  接种到钛片上, 隔天换液。

细胞接种 24 h 后通过 SEM 观察细胞的形态。将培养基以及未粘附到钛片表面的细胞小心的去除, PBS 冲洗 3 次。用 2.5%的戊二醛固定 20 min, 随后 PBS 小心冲洗 3 次每次 5 min。之后样本用 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 以及无水乙醇依次脱水每次 10 min。临界点干燥, 扫描电镜下观察细胞形态(S-3000, Hitachi, Japan)。

经过 24 h 培养之后将培养基从 24 孔板吸弃, PBS 小心的冲洗, 4%多聚甲醛固定 20 min 随后 PBS 冲洗 3 次。用 0.1%Triton X100/PBS 处理 5 min 随后用 1.0% BSA/PBS 封闭 30 min。Actin 使用 Alexa Fluor 488(Invitrogen, USA)、细胞核使用 Hoechst 33342 (Invitrogen, USA)进行染色。在荧光显微镜下观察 (IX51, Olympus, Japan)。

细胞在钛片和纳米线表面早期粘附能力采用荧光显微镜下计数并做定量比较。细胞接种到样品后的 2, 6 h 移除 24 孔板中的培养液, 用 PBS 小心清洗 3 遍, 加入 4%多聚甲醛 500  $\mu$ L/孔室温下固定 10 min, 用 PBS 小心漂洗, 然后用 0.1%Triton X-100 室温下通透 5 min, PBS 小心漂洗, 非特异结合位点通过 1%BSA/PBS 封闭 1 h, 加入 Hoechst 33342 (10  $\mu$ g/mL) 300  $\mu$ L/孔对细胞核进行染色, 避光孵育 5 min 后, PBS 小心漂洗 3 次, 待钛片干燥后于荧光显微镜下观察不同钛片表面细胞核, 每个样品在 100 $\times$ 放大倍数下随即选取 10 个视野 (1800  $\mu$ m $\times$ 1350  $\mu$ m) 拍照记录, 然后通过 Image-Pro Plus 6.0 软件计算细胞核数量, 并作统计。

接种到钛片的细胞增殖情况采用 MTS (MTS,

Promega Corporation, Madison, USA)法进行检测。在接种后的第 1、4 d 将样品用 PBS 小心的清洗并转移到新的 24 孔板中, 每孔加 500  $\mu$ L DMEM 培养基 100  $\mu$ L MTS 试剂 37  $^{\circ}$ C 孵育 3 h。取 100  $\mu$ L 至 96 孔板, 酶标仪 490 nm 测吸光值。

细胞接种到钛片上培养 7 d 之后, 通过荧光定量 PCR 检测成骨相关基因 ALP、RUNX2 的表达水平。将细胞以  $2.4 \times 10^4/\text{cm}^2$  接种到钛片上培养至第 7 d。总 RNA 使用 TRIzol 试剂提取。使用荧光定量 PCR 的方法进行检测成骨基因表达水平(Bio-Rad Laboratories Inc.)。ALP、RUNX2 的相对表达水平通过管家基因 GAPDH 来进行标准化。引物序列见表 1。

所有实验均重复 3 次, 使用 one-way ANOVA 对组间数据进行统计分析。统计分析使用 SPSS 16.0 软件处理。P<0.05 认为具有统计学意义。

## 2 实验结果

### 2.1 纳米线的形貌特征

220  $^{\circ}$ C 处理 8 h 的水热反应后在钛片的表面形成了排列紧密的纳米线微孔结构。图 1 是纳米线的结构。从图中可以看到大量的纳米线倒伏形成直径 (5~20  $\mu$ m) 大小不同的三维微孔结构。纳米线的长度在 10~15  $\mu$ m 的范围内, 直径在 40~65 nm 之间。

图 2 是各样本的 XRD 图谱。与钛片相比较, 经过水热反应之后生成的钛酸盐纳米线是体心正交结构的 Na<sub>2</sub>Ti<sub>2</sub>O<sub>5</sub> H<sub>2</sub>O, 由共边的 TiO<sub>6</sub> 正八面体构成二维板片结构<sup>[14]</sup>。

图 3 为钛片和纳米线接触角的测量图片。可以看到光滑钛片组接触角大约为 56 $^{\circ}$ , 而纳米线结构接触角为 0 $^{\circ}$ 具有超亲水性。

### 2.2 蛋白吸附能力的比较

图 4 为光滑钛片组以及钛酸盐纳米线组在不同时间点的蛋白吸附率。由图可以看到 2 组均随孵育时间增加蛋白吸附率增强, 在 12 h 达到稳定。但在选定的检测时间点 2 组之间没有统计学差异。

### 2.3 不同表面对细胞形态的影响

MG63 细胞在钛片以及纳米线表面的形态学通过

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of PCR

Gene	Primer sequence
ALP	s: 5'-catgctgagtacacagacaagaa-3'
	a: 5'-acagcagactgcgctgcta-3'
RUNX2	s: 5'-tccacaccattaggaccatc-3'
	a: 5'-tgctaagctctgtgttcca-3'
GAPDH	s: 5'-tggcaccagcacaatgaa-3'
	a: 5'-ctaagtcataagtcgctagaagca-3'

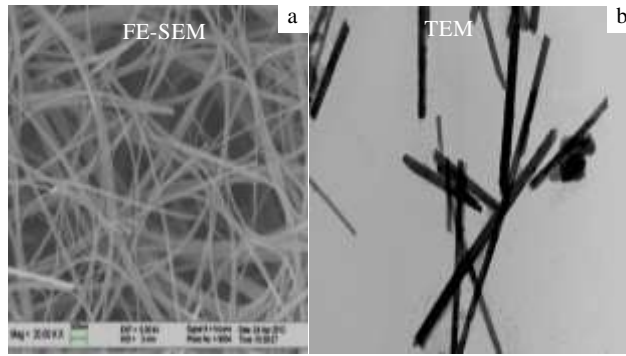


图 1 纳米线的 FE-SEM 及 TEM 照片

Fig.1 FE-SEM (a) and TEM (b) images of TiNWs

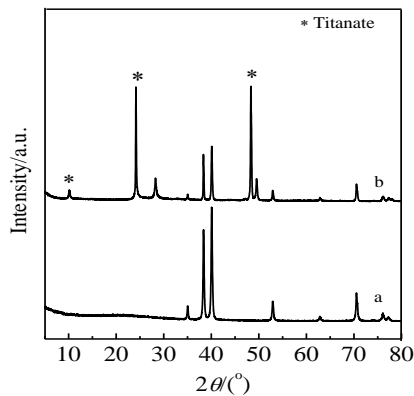


图 2 纯钛片及纳米线的 XRD 图谱

Fig.2 XRD patterns of flat titanium (a) and titanate nanowire scaffolds (b)

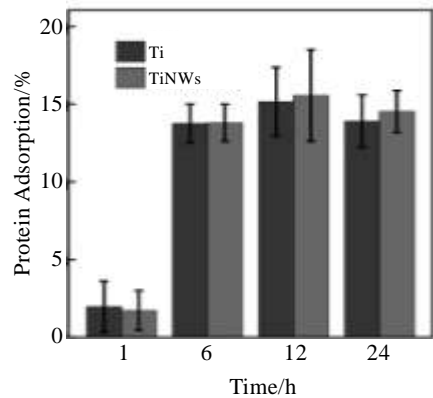


图 4 纯钛及纳米线组不同时间点蛋白吸附能力

Fig.4 Protein adsorptive capacity of flat titanium and TiNWs assessed using a model protein

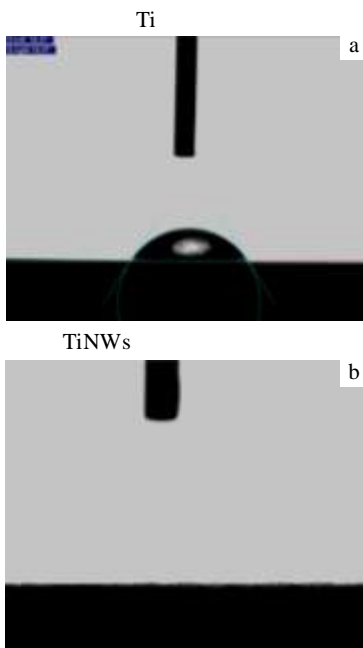


图 3 纯钛以及纳米线表面 (TiNWs) 亲水性接触角

Fig.3 Water contact angles on flat titanium (a) and TiNWs (b)

SEM 以及荧光显微镜进行观察, 如图 5a, 5b 所示经过 24 h 培养后在钛片表面有大量细胞粘附, 细胞相互接触并伸出丝状伪足和板状伪足粘附在钛片表面, 然而仅有较少的细胞粘附在纳米线表面, 细胞呈不规则形状, 少见伪足伸出并可见有纳米线穿透细胞, 并且细胞没有粘附到基底表面而是被固定在纳米线表面。

图 5c, 5d 为 MG63 细胞粘附在钛片以及纳米线表面的免疫荧光(IF)照片。可见, 细胞在钛片表面相对较大铺展更好, 并可形成明显的细胞骨架, 而在纳米线表面细胞伸展不规则也不能形成压力纤维。

### 2.4 细胞粘附能力的比较

早期细胞粘附结果如图 6 所示, 在 2 个选定的时间点纳米线组细胞核数量均明显少于光滑钛片组。如图 7 所示 2 组之间在 2 个时间点存在显著差异, 光滑钛片组显著多于纳米线组。

### 2.5 细胞增殖能力的检测

细胞增殖能力通过 MTS 法来检测如图 8 所示。与光滑钛片组比较, 在 1, 4d 2 个时间点纳米线组细胞增殖能力明显低于光滑钛片组 ( $P < 0.01$ )。

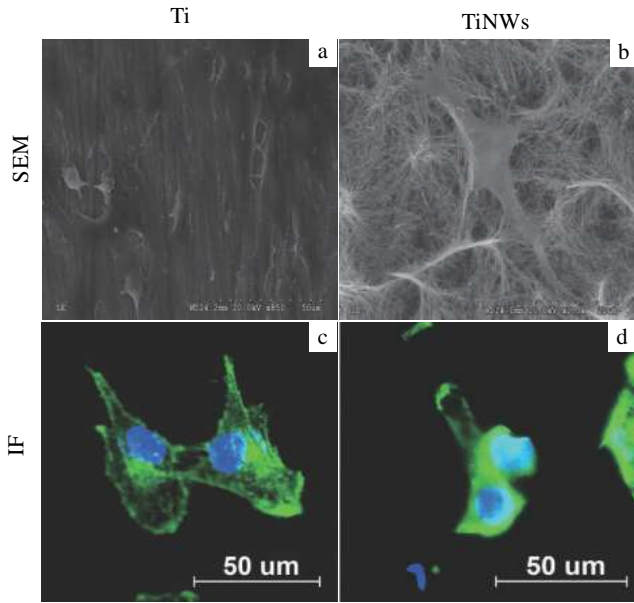


图 5 钛片及纳米线表面的 SEM 照片及免疫荧光照片  
Fig.5 SEM (a, b) and immunofluorescent staining (c, d) images of titanium (a, c) and TiNWs (b, d)

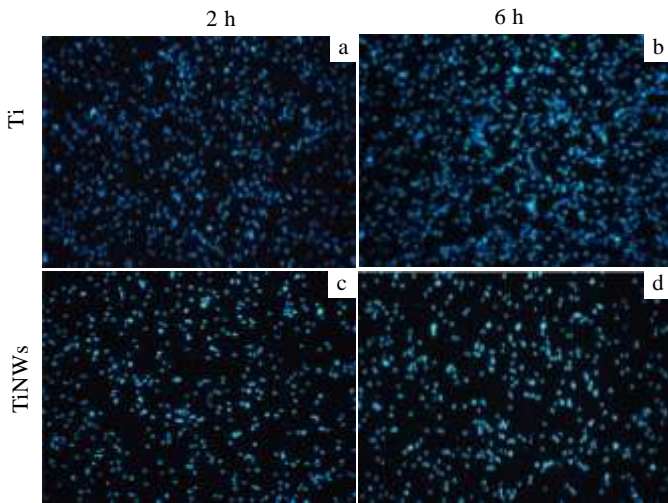


图 6 在 2、6 h 纯钛组及纳米线组表面细胞核染色数量  
Fig.6 Number of MG63 cell nuclei stained with Hoechst dye on flat titanium (a, b) and TiNWs (c, d) at 2 h (a, c) and 6 h (b, d)

2.6 细胞分化能力的检测

ALP mRNA 表达水平如图 9 所示, 与光滑钛片组相比较 MG63 细胞在纳米线组的 ALP mRNA 表达水平受到明显的抑制。纳米线组显著低于光滑钛片组 ( $P < 0.01$ )。RUNX2 mRNA 表达水平如图 10 所示, 与 ALP 表达水平类似纳米线组 RUNX2 mRNA 表达水平显著低于光滑钛片组 ( $P < 0.01$ )。

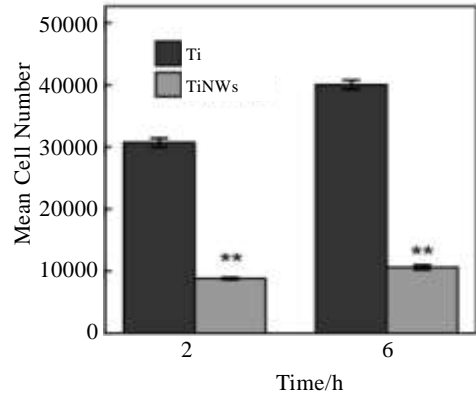


图 7 2 组在不同时间点细胞核数量的比较  
Fig.7 Mean cell numbers on different groups

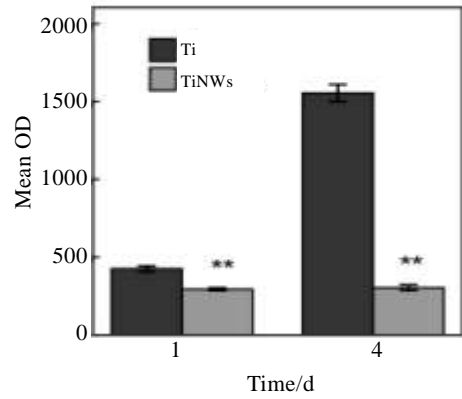


图 8 MTS 法计算 2 组材料表面 MG63 细胞增殖情况  
Fig.8 Proliferation of MG63 cells seeded onto flat titanium, and TiNWs as measured by MTS assay

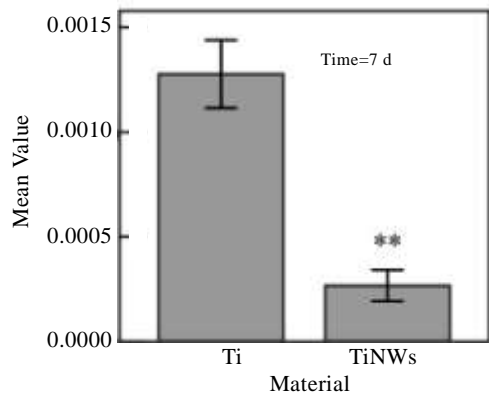


图 9 培养到第 7 d 时 2 组材料表面 MG63 细胞 ALP 表达水平  
Fig.9 Comparison of ALP mRNA expression levels of different types of cells

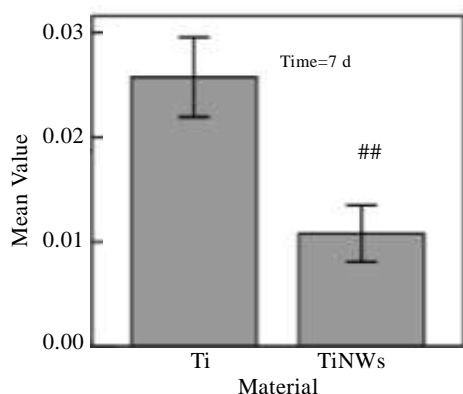


图 10 培养至第 7 d 时 2 组材料表面 MG63 细胞 RUNX2 mRNA 表达水平

Fig.10 Comparison of RUNX2 mRNA expression levels of different types of cells

### 3 讨 论

在本研究中通过简单的水热反应合成了钛酸盐纳米线支架,纳米线作为一种新的一维纳米结构其独特的光学、电子学以及催化特征已经引起人们很高的兴趣,尤其是在太阳能电池领域、以及光催化方面,然而对于纳米线结构在生物材料方面的研究相对较少。

光滑的钛片经过水热反应之后在其表面形成稠密的纳米线结构,纳米线的直径在 40 ~ 65 nm 之间,长度在 10~15  $\mu\text{m}$  之间,并且纳米线倒伏形成相互连通的三维微孔支架,微孔的直径在 5~20  $\mu\text{m}$  之间。因此,与光滑钛片相比较纳米线支架将有更大的比表面积,然而纳米线支架并没有因为更大的比表面积而显著提高蛋白的吸附能力,这可能是因为在纳米线之间陷有大量的气体阻止了溶液向纳米线深层的浸润,导致蛋白吸附能力没有相应的提高,蛋白溶液浸泡之前先将纳米线支架抽真空再加载蛋白,或者在纳米线表面再做其他修饰也许是提高加载能力的方法,目前也在做这方面的研究。在本实验中 BSA 作为模型蛋白,然而抗生素、化疗药物、激素、基因等均可使用这一系统用于将来的研究。

生物材料的亲水性被认为在细胞与生物材料的互动之间起重要作用,因为通过影响蛋白的吸附作用进而直接或者间接影响细胞的行为<sup>[2]</sup>。在本研究中检测了纳米线支架的亲水性,与以前的报道相类似纳米线支架的接触角为 0°;显示纳米线支架具有超亲水性的特征<sup>[3]</sup>。该现象主要归因于  $\text{Na}_2\text{Ti}_2\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$  的化学结构,纳米钛酸盐携带的羟基和结晶水能够容易的吸附

其表面的水滴<sup>[3]</sup>。这种超亲水的表面特征能够更加方便的使药物加载到载体的表面。然而,在本研究中超亲水的纳米线结构表面并不会提高细胞的粘附、增殖等能力,越来越多的研究也证实亲水性对生物材料与细胞之间的互动影响非常有限<sup>[12,13]</sup>。

生物材料的蛋白吸附能力与细胞粘附同样是具有争议的话题。蛋白吸附到材料表面是先于细胞粘附的最初关键步骤,决定细胞能否顺利的粘附到材料表面,因此许多技术方法被用来提高生物材料的蛋白吸附能力。例如,有研究人员用 UV 照射钛片表面来增加钛片的蛋白吸附能力以及效率<sup>[14,15]</sup>。另外,有研究者在钛片表面预吸附蛋白发现成骨细胞在实验组钛片表面的粘附与对照组相比显著提高<sup>[16]</sup>。在本研究中纳米线支架其蛋白吸附能力并不比光滑组差,然而细胞粘附能力却显著低于光滑钛片组,这说明在这种特殊的一维纳米结构表面虽有较好的蛋白吸附能力但并不会提高细胞粘附能力,换言之在纳米线材料表面蛋白吸附能力对于细胞粘附起不到决定作用。

对于贴壁细胞而言需要在细胞外基质表面粘附扩展才能行使正常功能,否则细胞将会诱导凋亡<sup>[17]</sup>。通过扫描电镜以及荧光显微镜可以看到在光滑钛片组细胞可以正常的粘附、扩展,而在纳米线组细胞形态异常,被纳米线穿刺固定在表面,不能够正常伸出板状伪足及丝状伪足,荧光显微镜下也没有见到正常的细胞骨架,这主要是因为纳米线的特殊结构所造成的,在这种特殊材料表面存在大量的微米级和纳米级的缝隙,能够提供给整合素聚集的位点非常有限,不足以形成较多的细胞黏着斑结构,细胞在没有足够数量黏着斑的情况下而诱导凋亡<sup>[18]</sup>,这说明纳米线表面不能够完全满足细胞的粘附扩展,所以在细胞的早期粘附检测可见,纳米线表面细胞的早期粘附能力显著低于光滑钛片组。细胞的增殖能力通过 MTS 法进行检测,与粘附水平的结果类似,受到表面形貌的影响,细胞在纳米线表面无法正常的粘附扩展,导致其表面细胞增殖能力显著低于光滑钛片组。为进一步检测不同形貌表面细胞的功能情况,通过检测不同表面成骨细胞早期标志物 ALP、RUNX2 的表达水平来进行比较,结果不出所料,细胞在纳米线表面的粘附增殖能力在受到抑制的同时,其分化能力也明显降低,与之前文献报道相类似<sup>[19]</sup>,细胞其自身代谢功能收到严重影响时,无法发挥其相应的细胞功能<sup>[20-22]</sup>。

### 4 结 论

纳米线结构显著降低细胞的粘附、增殖,以及后期的分化功能。这些作用是由特殊的纳米线结构所引

起, 而不是因为材料的亲水性, 以及蛋白吸附能力。

2) 这种抗生物淤积材料具有良好的生物相容性、稳定性以及细胞排斥能力, 与表面经过化学修饰的材料相比, 这种纳米线表面更加稳定, 不会因为表面化学结构的退化而降低抗生物淤积能力, 不仅可以用于生物感应器或者药物缓释系统, 而且还可用于研究纳米形貌。

#### 参考文献 References

- [1] Andersson A S, Backhed F, Von Euler A *et al. Biomaterials*[J], 2003, 24(20): 3427
- [2] Chen C S, Mrksich M, Huang S *et al. Science*[J], 1997, 276(5317): 1425
- [3] Choi C H, Hagvall S H, Wu B M *et al. Biomaterials*[J], 2007, 28(9): 1672
- [4] Lee J Y, Kang B S, Hicks B *et al. Biomaterials*[J], 2008, 29(27): 3743
- [5] Dalby M J, Riehle M O, Johnstone H *et al. Biomaterials*[J], 2002, 23(14): 2945
- [6] Lee J, Chu B H, Chen B H *et al. Biomaterials*[J], 2009, 30(27): 4488
- [7] Su Y Y, Wei X P, Peng F *et al. Nanoletters*[J], 2012, 12(4): 1845
- [8] Aita H, Hori N, Takeuchi M *et al. Biomaterials*[J], 2009, 30(6): 1015
- [9] Att W, Hori N, Takeuchi M *et al. Biomaterials*[J], 2009, 30(29): 5352
- [10] Lee J, Kang B S, Hicks B *et al. Biomaterial*[J], 2008, 29(27): 3743
- [11] Okada S, Nagai A, Oaki Y *et al. Acta Biomaterialia*[J], 2011, 7(3): 1290
- [12] Liu B, Khare A, Aydil E S. *ACS Appl Mater Interfaces*[J], 2011, 3(11): 4444
- [13] Arnold M, Cavalcanti-Adam E A, Glass R *et al. Chemphyschem*[J], 2004, 5(3): 383
- [14] Cavalcanti-Adam E A, Volberg T, Micoulet A *et al. Biophys*[J], 2007, 92(8): 2964
- [15] Li S, Ni J, Liu X *et al. Biomed Mater Res B Appl Biomater*[J], 2012, 100B(6): 1587
- [16] Ding X, Yang X Q, Zhou L *et al. International Journal of Nanomedicine*[J], 2013, 8: 569
- [17] Att W, Hori N, Iwasa F *et al. Biomaterials*[J], 2009, 30(26): 4268
- [18] Suzuki T, Hori N, Att W *et al. Tissue Eng Part A*[J], 2010, 15(12): 3679
- [19] Yang Y, Cavin R, Ong J L. *Biomed Mater Res A*[J], 2003, 67A(1): 344
- [20] Qi S J, Yi C Q, Ji S L *et al. ACS Applied Materials & Interfaces*[J], 2009, 1(1):30
- [21] Zhao L Z, Hu L S, Huo K F *et al. Biomaterials*[J], 2010, 31(32): 8341
- [22] Ding X L, Zhou L, Wang J X *et al. International Journal of Nanomedicine*[J], 2015, 10: 6955

## Cell Adhesion and Activity Controlled by Titanate Nanowire

Ding Xianglong<sup>1</sup>, Wang Jingxu<sup>2</sup>, Lin Xi<sup>1</sup>, Wu Jingyi<sup>1</sup>, Yue Xinxin<sup>1</sup>, Jia Fang<sup>1</sup>, Guo Zehong<sup>1</sup>, Gao Yan<sup>1</sup>, Zhou Lei<sup>1</sup>

(1. Center of Oral Implantology, Stomatological Hospital, Southern Medical University  
(Guangdong Provincial Stomatological Hospital), Guangzhou 510280, China)

(2. Stomatology Department of the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, China)

**Abstract:** There's no dispute that the control of interaction between cell and implant including drug delivery system and biosensor is a long-purchased goal. Recently, scientists are looking forward to exploring new materials in restricting cell adhesion and activity. In this paper, titanate nanowire was formed on the surface of titanium disks by hydrothermal route and the interaction between titanate nanowire and MG63 osteoblasts (including cell adhesion, proliferation and differentiation) was investigated. Results show that fewer cells are adhered on the smooth titanium disks than the nanowires. Only a few cells are fixed on the nanowire surface which exhibits an irregular long spindle shape observed by SEM. Immunofluoresense also illustrates an irregular cell shape without forming a cell structure, and the proliferation is restricted at the same time. Meanwhile, alkaline phosphatase and RUNX2 activity test share the same results. It can be well concluded that cell adhesion and activity is seriously restricted on the titanate nanowire surface. Such results can be applied on the further studies of drug delivery system and biosensor.

**Key words:** nanotopography; biosensor; titanium

Corresponding author: Zhou Lei, Ph. D., Professor, Center of Oral Implantology, Stomatological Hospital, Southern Medical University (Guangdong Provincial Stomatological Hospital), Guangzhou 510280, P. R. China, Tel: 0086-20-84233801, E-mail: zho668@263.com