

钛纳米管负载地塞米松羟基磷灰石复合涂层的实验研究

高啟坤,吴明月

(安徽医科大学口腔医学院,安徽医科大学附属口腔医院,安徽省口腔疾病研究重点实验室,合肥 230032)

摘要 目的 探讨在钛纳米管表面构建羟基磷灰石和地塞米松复合涂层的生物相容性。方法 通过在钛纳米管表面负载羟基磷灰石和地塞米松,构建复合涂层。采用场发射扫描电镜、原子力显微镜、接触角测量仪检测基材的特征,体外生物学评价该涂层对人颅骨成骨细胞的黏附、增殖的影响。结果 经修饰后的复合涂层微观形态、三维形貌、亲水性能发生变化,经细胞学检测,能够显著促进成骨细胞的黏附与增殖。结论 通过模拟体液浸泡和滴加负载的方法,成功构建钛纳米管-羟基磷灰石-地塞米松复合涂层,该涂层具有良好的生物相容性。

关键词 钛纳米管;羟基磷灰石;地塞米松;复合涂层;成骨细胞

中图分类号 R 783.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)08-1418-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.08.008

纯钛及其合金具有良好的生物学及力学性能,被广泛应用在口腔种植领域,但植入体内后存在骨愈合期较长、植体可能感染等问题^[1]。因此,如何促进种植体的骨结合及提高抗菌效应,成为目前该领域研究热点。TiO₂ 纳米管具有表面积大、纳米级管腔结构独特规整等优点,可作为材料表面修饰分子的载体平台^[2]。羟基磷灰石具有类似人体骨骼的微结构,且具备一定的药物载体功能^[3];地塞米松具有抑制炎症因子、促进骨沉积的作用^[4]。为整合两种材料的性能优势,该研究在钛基材表面原位构建钛纳米管结构,再将羟基磷灰石、地塞米松沉积在纳米管表面形成复合涂层结构。体外检测该涂层是否具有良好的细胞相容性,以期达到促进骨整合及抗菌的双重效应。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器 99.99%高纯度钛片(深圳市海源铝业有限公司),多聚甲醛(上海碧云天生物科技有限公司),胰蛋白酶、胎牛血清(美国HyClone公司),a-MEM培养基(美国Gibco公司),氟化胺乙二醇、模拟体液和地塞米松等试剂(国药集团化学

试剂合肥有限公司)。直流稳压电源(DY60V6A,深圳市海源铝业有限公司),接触角测量仪(成德市成慧试验机器有限公司),场发射扫描电镜(Sirion200,FEI,美国Thermo-VG Scientific公司),原子力显微镜(atomic force microscope,AFM)(美国Innova Veeco公司),双人双面超净工作台(苏州净化设备厂),酶标仪(美国Bio-tek公司),荧光倒置显微镜(德国Leica公司)等。

1.2 制备复合涂层

1.2.1 制备钛纳米管涂层 将钛片切割制备为厚度0.25 mm、直径1 cm的圆形钛片。以钛片为阳极,石墨为阴极,置于90 mmol/L浓度的氟化胺乙二醇电解质溶液中,经两步法阳极氧化,电解系数为6 V 10 min、45 V 50 min。制备完成的钛纳米管清洗干燥。

1.2.2 实验样品分组 纯钛片作为光滑钛片组;阳极氧化后的钛片作为钛纳米管组;双重修饰后为钛纳米管-羟基磷灰石-地塞米松组,简称羟基磷灰石-地塞米松组。

1.2.3 制备钛纳米管-羟基磷灰石-地塞米松涂层 按照高啟坤等^[5]的方法配置好模拟体液,将钛纳米管置于其中,1周后取出清洗干燥,在其表面逐步滴加1 000 mg/L的地塞米松溶液,直至基材表面地塞米松药物浓度达到500 μg/cm²,取出反复冲洗,复合涂层制备完成。

1.2.4 样品表征 利用场发射扫描电镜(field emission scanning electron microscope, FESEM)观察基材表面微观结构,AFM观察材料表面的三维形貌

2025-05-20 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81170993);安徽省高校科研项目(编号:2024AH050683)

作者简介:高啟坤,男,硕士研究生,主治医师;

吴明月,男,博士,副教授,副主任医师,硕士生导师,通信

作者,E-mail: wumingyue321@126.com

变化及粗糙度;接触角测量仪观察材料表面接触角改变。

1.3 复合涂层的体外生物学检测

1.3.1 试件灭菌 在3组样品中各随机选取18枚,共计54枚,经环氧乙烷气体灭菌后备用。

1.3.2 细胞的复苏 将购置的人颅骨成骨细胞株置于37℃恒温水浴锅中融化、振荡后置于离心管中,1 000 r/min离心5 min,吸出上清液后加入细胞培养液至15 mL,置于37℃、5%的CO₂培养箱中培养。

1.3.3 细胞的传代 待细胞孵育2~3 d,融合充分后,吸除细胞培养液,使用PBS缓冲液清洗2~3次,去除杂质和细胞碎片后加入适量的0.25%浓度胰酶,以充分覆盖培养皿为宜。观察到细胞从培养皿表面脱落或镜下细胞间桥消失时,离心收集,作为后续实验用细胞。

1.3.4 细胞黏附 从3组样品中随机各选取9枚置于24孔培养板中,选择对数期的成骨细胞制成悬液,微调细胞密度至 1×10^5 个/mL,经4 h孵育后,在各分组中随机选取3枚样品,经固定染色后,于荧光显微镜下随机选取3个视野区域,观察细胞形态和计数。

1.3.5 细胞增殖 细胞接种方法同前,将各样品上的成骨细胞培养1、4、7 d,清洗后放入24孔培养板,每孔分别添加MTT 20 μL和培养液200 μL,孵育4 h后加入DMSO 1 000 μL,充分振荡溶解紫色结晶物,每孔吸取200 μL均一溶解液转至96孔培养板。调至490 nm波长下,各组样品随机测定9孔吸光度(optical density, OD)值并计数。

1.4 统计学处理 实验所得数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 27.0统计软件分析实验数据。采用单因素方差分析3组实验数值,如需多重比较,采用LSD-*t*法进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 样品形貌结构 SEM结果显示,钛片呈光滑镜面状;钛纳米管呈管径约70 nm的蜂窝管腔状结构;钛纳米管-羟基磷灰石-地塞米松涂层见团状样结晶物将蜂窝状的纳米管完全覆盖,沉积在表面和管腔内,呈嵌入式、多层次梯度形貌结构。见图1。

2.2 基材表面三维形貌及粗糙度 AFM结果显示,各组基材三维形貌不同,经不同修饰后的各组基材粗糙度明显增加,羟基磷灰石-地塞米松组表面可见分布均匀的隆起状形貌,各组之间差异有统计学意义($F = 795.066, P < 0.05$)。见表1、图2。

2.3 基材表面亲水性 经不同修饰后的各组钛基材接触角数值相比光滑钛片组均有不同程度减小,亲水性增加,且羟基磷灰石-地塞米松组数值大于钛纳米管组,这是疏水性的地塞米松分子结构所致,各组数值差异有统计学意义($F = 119.484, P < 0.05$)。见表1、图3。

表1 各样品表面纳米粗糙度和接触角角度($\bar{x} \pm s, n = 27$)

Tab.1 Surface nano roughness and contact angle of each sample ($\bar{x} \pm s, n = 27$)

Group	Nano roughness	Contact angle(°)
Smooth titanium sheet	4.644 ± 0.450	51.111 ± 2.934
Titanium nanotube	9.278 ± 0.687 ^{&}	30.556 ± 3.206 ^{&}
Hydroxyapatite dexamethane	14.867 ± 0.464 ^{&*}	40.333 ± 2.236 ^{&*}

[&] $P < 0.05$ vs Smooth titanium sheet group; ^{*} $P < 0.05$ vs Titanium nanotube group.

2.4 成骨细胞黏附实验结果 3组基材接种的成骨细胞经4 h培养后,各组间细胞黏附数目差异有统计学意义($F = 2170.381, P < 0.05$)。说明不同修饰化处理对细胞的黏附具有不同的生物学效应,

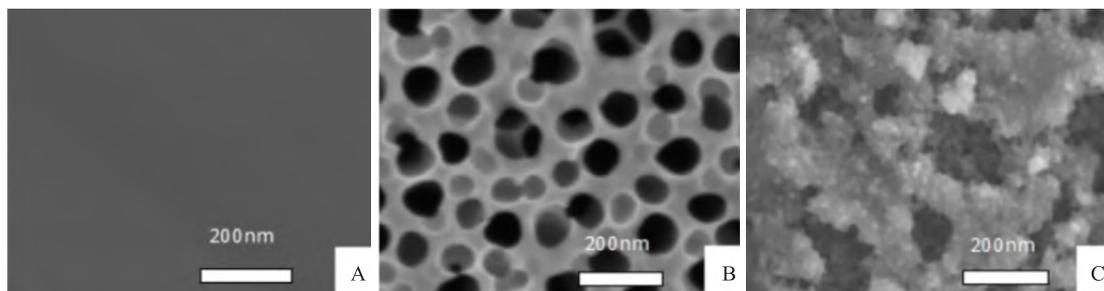


图1 纯钛片和钛纳米管形貌 ×30 000

Fig.1 Morphology of pure titanium sheet and titanium nanotubes ×30 000

A: Smooth titanium sheet group; B: Titanium nanotube group; C: Hydroxyapatite dexamethasone group.

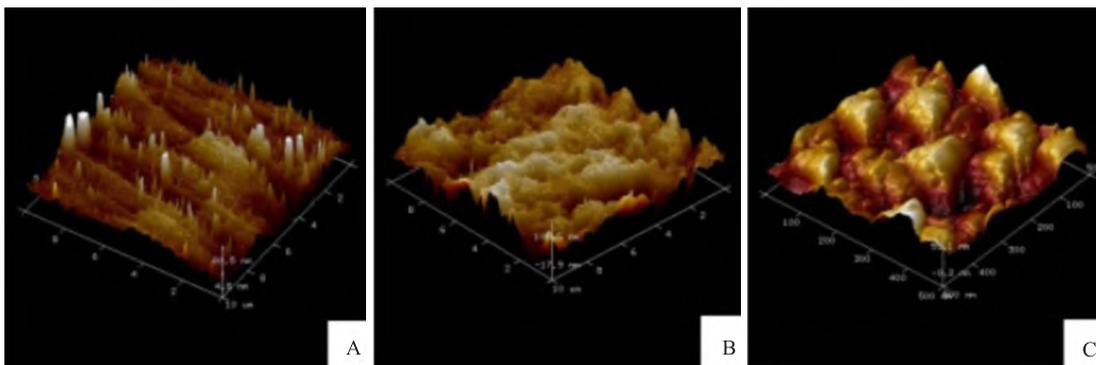


图2 原子力显微镜图片

Fig.2 Atomic force microscope image

A; Smooth titanium sheet group; B; Titanium nanotube group; C; Hydroxyapatite dexamethasone group.



图3 接触角测量图片

Fig.3 Contact angle measurement image

A: Smooth titanium sheet group; B: Titanium nanotube group; C: Hydroxyapatite dexamethasone group.

相比其他两组,羟基磷灰石-地塞米松组基材荧光显微镜下显示成骨细胞形态和数量良好,改变尤为显著,促进细胞黏附的作用更明显,这与基材形貌、结构及化学组成等改变相关联。见表2、图4。

表2 3组基材在4h时间点成骨细胞黏附计数的比较($\bar{x} \pm s, n = 27$)

Tab.2 Comparison of osteoblast adhesion counts among three groups of substrates at the 4-hour time point ($\bar{x} \pm s, n = 27$)

Sample	Cell number
Smooth titanium sheet	54.000 ± 4.000
Titanium nanotube	161.444 ± 7.091 ^{&}
Hydroxyapatite dexamethase	321.000 ± 12.580 ^{&*}

[&] $P < 0.05$ vs Smooth titanium sheet group; ^{*} $P < 0.05$ vs Titanium nanotube group.

表3 3组基材在第1、4、7天时间点 MTT 实验 OD 值比较($\bar{x} \pm s, n = 27$)

Tab.3 Comparison of OD values of MTT experiments on three groups of substrates at the 1st, 4th and 7th day ($\bar{x} \pm s, n = 27$)

Sample	Day 1	Day 4	Day 7
Smooth titanium sheet	0.111 ± 0.013	0.238 ± 0.029	0.618 ± 0.031
Titanium nanotube	0.121 ± 0.011	0.416 ± 0.109 ^{&}	0.703 ± 0.051 ^{&}
Hydroxyapatite dexamethase	0.166 ± 0.013 ^{&*}	0.601 ± 0.030 ^{&*}	0.896 ± 0.022 ^{&*}

[&] $P < 0.05$ vs Smooth titanium sheet group; ^{*} $P < 0.05$ vs Titanium nanotube group.

2.5 成骨细胞增殖实验结果 记录3组基材接种的成骨细胞在常规培养第1、4、7天的OD值,除第1天光滑钛片组与钛纳米管组OD值无统计学意义,其余检测时间点,各组间差异均有统计学意义($F = 50.395, 65.732, 134.186, P < 0.05$),表明钛基底经不同表面改性后,基材的特性变化引起生物相容性的改变。见表3。

3 讨论

目前,钛种植体表面改性的研究主要围绕在如何促进骨结合以及抗菌性能方面^[1];其中,在钛基材表面构建复合涂层结构,使其具备良好生物相容性及一定的抗菌性能,是当下研究的热点^[6]。钛纳



图4 荧光显微镜下成骨细胞图 ×100

Fig.4 Osteoblast image under fluorescence microscope ×100

A: Smooth titanium sheet group; B: Titanium nanotube group; C: Hydroxyapatite dexamethasone group.

米管具有规整的管腔状微米结构特征,对成骨细胞具有良好的生物相容性。课题组前期研究^[7]表明70 nm管径钛纳米管是理想的分子负载平台,并且表现出显著的骨整合效应,故该实验将该直径纳米管作为修饰分子的基底。

多项研究^[8-9]表明,羟基磷灰石是人体骨组织的主要无机成分,微结构多孔隙且富含多基团,可以通过固溶离子交换的方式形成富含钙磷的局部微环境,会对种植体周-组织界面的细胞学行为产生积极的促进效应。较光滑钛片而言,羟基磷灰石通过模拟体液浸泡法负载在筛孔状结构的钛纳米管基底表面,提高了基材与分子的机械嵌合度,结合牢固可靠。为实现种植体基材表面改性和抗菌涂层的构建,可将负载多孔隙的羟基磷灰石钛纳米管基底作为构建抗菌结构的理想载体。

地塞米松属于糖皮质激素类物质,是含有疏水结构的活性分子,不仅能够抑制炎症因子的表达,同时具有诱导干细胞成骨向分化、刺激骨组织沉积、抗菌等作用^[4,10-11]。为克服单一化材料性能的缺陷,该课题设计将羟基磷灰石与地塞米松同时负载在钛基材表面,探究构建的复合涂层形貌、特性及生物相容性。该实验通过分子基团间的相互作用,将地塞米松分子成功固定在疏松多孔隙结构的钛纳米管-羟基磷灰石基底上,同时期望该基底作为药物缓释的支架,避免药物的突释效应。SEM显示经羟基磷灰石-地塞米松修饰后,涂层见大量团块晶体物将蜂窝状纳米管完全覆盖并嵌入管腔内部,结合牢固,呈多层次梯度形貌结构。AFM结果显示羟基磷灰石-地塞米松修饰组分子颗粒分布均匀、高度均一,三维形貌有显著变化且表面粗糙度增加;接触角测量仪结果显示羟基磷灰石-地塞米松修饰组较光

滑钛片组接触角变小,但大于钛纳米管组,这是地塞米松疏水性的分子结构所致。

细胞与材料之间的相互作用^[12]首先通过蛋白质等生物大分子吸附、细胞黏附和伸展等过程,很大程度受到基材表面结构、化学成分等细胞生存局部微环境的影响,继而通过生物活性分子与细胞膜表面受体特异性结合,发挥效应。细胞的黏附与伸展对后续骨整合至关重要,故材料表面细胞黏附活性可作为评价基材性能的重要指标之一。该实验在培养人颅骨成骨细胞4 h后,3组细胞数目表现出明显差异,与空白光滑钛片组相比较,经不同处理的基材,细胞数目明显增加,其中阳性实验组成骨细胞形态和数量良好,改变尤为显著,实验组与对照组间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。材料的生物相容性与其表面性能密切相关,如亲水性能、粗糙度、拓扑结构和化学组成成分等^[13]。经过修饰的钛纳米管-羟基磷灰石-地塞米松的亲水性、粗糙度均显著增加。文献^[14]表明亲水性表面基材的表面能,高亲水性的基底更易于吸附脂类、蛋白质等生物活性大分子,形成适应层结构,从而诱导种植体周-组织界面的细胞效应。Zinger et al^[15]表明粗糙度大的钛基材能快速诱导生物糖蛋白等分子附着、胶原合成等,在仿生构建的纳米级别类似骨组织粗糙度基材中表现尤为突出,通过构建适宜细胞生命活动的微环境可对成骨细胞的生物学行为产生积极影响,以达到种植体表面生物化修饰的效应。MTT结果显示,3组样品中在不同时间点培养的成骨细胞OD值,除在第1天时间点,光滑钛片与钛纳米管组OD值差异无统计学意义,其余检测时间点,各组间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。其促进细胞增殖效应机制之一在于羟基磷灰石-地塞米松修饰后的基材具有

类似骨组织的多孔隙、高活性微观结构,且可通过固溶离子交换的方式,形成富含钙磷的局部微环境,促进了骨整合的发生^[16]。该项研究克服单一化材料修饰的缺陷,有望为后续构建优良抗菌及骨结合性能的钛种植体提供理论基础。但该复合活性涂层的缓释动力学及抗菌效应等尚有待后续实验的进一步研究和验证。

参考文献

- [1] Nisar S S, Choe H C. Mechanical hydroxyapatite coatings on PEO-treated Ti - 6Al - 4V alloy for enhancing implant's surface bio-activity [J]. CERAM INT, 2024, 50(10): 17703 - 19. doi: 10.1016/j.ceramint.2024.02.259.
- [2] Yang G, Deng R, Chang Y, et al. Polydopamine-based surface coating fabrication on titanium implant by combining a photothermal agent and TiO₂ nanosheets for efficient photothermal antibacterial therapy and promoted osteogenic activity[J]. Int J Biol Macromol, 2024, 281: 136481. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.136481.
- [3] Hofer U. Implants to defeat bacterial infection[J]. Nat Rev Microbiol, 2021, 20(2): 64. doi:10.1038/s41579-021-00675-9.
- [4] 陈芳浩, 何奕德, 李哲, 等. 钛种植体表面新型 DNA 水凝胶递送地塞米松诱导巨噬细胞 M2 极化的研究[J]. 实用口腔医学杂志, 2021, 37(2): 192 - 6. doi:10.3969/j.issn.1001-3733.2021.02.010.
- [4] Chen F H, He Y D, Li Z, et al. A novel DNA hydrogel as dexamethasone delivery platform on titanium implant surface induces M2 polarization of macrophages[J]. J Pract Stomatol, 2021, 37(2): 192 - 6. doi:10.3969/j.issn.1001-3733.2021.02.010.
- [5] 高啟坤, 吴明月. 钛纳米管负载米诺环素羟基磷灰石复合涂层的构建[J]. 安徽医学, 2021, 42(10): 1079 - 82. doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2021.10.001.
- [5] Gao Q K, Wu M Y. Construction of minocycline hydroxyapatite composite coating on TiO₂ nanotubes[J]. Anhui Med J, 2021, 42(10): 1079 - 82. doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2021.10.001.
- [6] 刘鹏, 樊博, 邹磊, 等. 钛基植入物抗菌/促成骨双功能表面改性策略研究进展 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2023, 37(10): 1300 - 13. doi: 10.7507/1002-1892.202306025.
- [6] Liu P, Fan B, Zou L, et al. Progress in antibacterial/osteogenesis dual-functional surface modification strategy of titanium-based implants[J]. Chin J Repara Reconstr Surg, 2023, 37(10):1300 - 13. doi: 10.7507/1002-1892.202306025.
- [7] 高啟坤, 宋婷婷, 吴齐越, 等. 钛纳米管表面固定成骨细胞特异性多肽的实验研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(12): 1790 - 4. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.12.010.
- [7] Gao Q K, Song T T, Wu Q Y, et al. The experimental study of immobilization of the peptide that specifically bind to osteoblasts on the TiO₂ nanotubes[J]. Acta Univ Med Anhui, 2017, 52(12): 1790 - 4. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.12.010.
- [8] AHMET E, PAZAR, EVIREN, et al. Alginate/gelatin/boron-doped hydroxyapatite-coated Ti implants; *in vitro* and *in vivo* evaluation of osseointegration [J]. Bio-Design Manufact, 2023, 6(3): 217 - 42. doi:10.1007/s42242-022-00218-y.
- [9] Kumar S, Gupta R K, Archana K, et al. Development of ternary hydroxyapatite-Al₂O₃-TiO₂ nanocomposite coating on Mg alloy by electrophoretic deposition method [J]. J MATER ENG, 2024, 33(10): 5075 - 84. doi:10.1007/s11665-023-08290-w.
- [10] 王明, 张赫, 王璐, 等. 负载地塞米松二氧化钛纳米管缓释系统的构建 [J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(16): 2544 - 9. doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2014.16.014.
- [10] Wang M, Zhang H, Wang L, et al. Constructing a controlled-release dexamethasone-loaded titania nanotube system [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2014, 18(16): 2544 - 9. doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2014.16.014.
- [11] Cameron K, Travers P, Chander C, et al. Directed osteogenic differentiation of human mesenchymal stem/precursor cells on silicate substituted calcium phosphate [J]. J Biomedical Materials Res, 2013, 101A(1): 13 - 22. doi:10.1002/jbm.a.34261.
- [12] Cao X, Yu W Q, Qiu J, et al. RGD peptide immobilized on TiO₂ nanotubes for increased bone marrow stromal cells adhesion and osteogenic gene expression [J]. Mater Sci Mater Med, 2012, 23(2): 527 - 36. doi:10.1007/s10856-011-4479-0.
- [13] Mamalis A, Silverstros S. Modified titanium surfaces alter osteogenic differentiation: a comparative microarray-based analysis of human mesenchymal cell response to commercial titanium surfaces [J]. J Oral Implantol, 2013, 39(5): 591 - 601. doi: 10.1563/AAID-JOI-D-10-00209.
- [14] Lim J Y, Shaughnessy M C, Zhou Z, et al. Surface energy effects on osteoblast spatial growth and mineralization [J]. Biomaterials, 2008, 29(12): 1776 - 84. doi:10.1016/j.biomaterials.2007.12.026.
- [15] Zinger O, Anselme K, Denzer A, et al. Time-dependent morphology and adhesion of osteoblastic cells on titanium model surfaces featuring scale-resolved topography [J]. Biomaterials, 2004, 25(14): 2695 - 711. doi:10.1016/j.biomaterials.2003.09.111.
- [16] 张利兴, 田昂, 李锡, 等. TiO₂ 纳米管/羟基磷灰石载万古霉素涂层的释药性及生物毒性 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(10): 1500 - 6. doi: 10.3969/j.issn.2095-4344.3022.
- [16] Zhang L X, Tian A, Li X, et al. Drug-release characteristic and biological toxicity of TiO₂ nanotube/hydroxyapatite loaded vancomycin coating [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2021, 25(10): 1500 - 6. doi: 10.3969/j.issn.2095-4344.3022.

(下转第 1431 页)

mice treated with fecal microbiota from normal female mice (FMT). After 17 weeks of modeling, liver pathology in each group was observed using HE staining, biochemical methods were used to measure serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) levels, as well as hepatic triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) levels. and the content of 15 EMs in portal vein serum was detected using ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS). The correlation between disease phenotype and intestinal EMs was analyzed using Pearson's method. **Results** The NAFLD model was successfully established, and the FMT group showed improved liver structure and morphology, with significant decreases in liver function and hepatic lipids compared to the Model group. In NAFLD mice, the contents of E1, E2, and their 2- and 4-position metabolites in portal vein blood serum was reduced compared to normal mice, while the content of most 16- and 17-position metabolites (except 16 α -OHE1) increased compared to normal mice. Correlation analysis showed that ALT was strongly positively correlated with E3 and 17-epiE3, and strongly negatively correlated with E1, E2, 4-MeOE1, and 16 α -OHE1. The TC was strongly positively correlated with 17-epiE3 and strongly negatively correlated with E1, 4-MeOE1, and 16 α -OHE1. **Conclusion** FMT restores the disrupted composition of intestinal EMs and improves NAFLD.

Key words non-alcoholic fatty liver disease; gut microbiota; fecal microbiota transplantation; estrogens; metabolomics

Fund Programs National Natural Science Foundation of China (No. 82370591); Natural Science Foundation of Anhui Province (No. 2308085MH242); Basic and Clinical Collaborative Research Enhancement Project of Anhui Medical University (No. 2021xkjT023)

Corresponding authors Wen Jiyue, E-mail: wenjiyue139@aliyun.com; Wang Jiajia, E-mail: wjj@ahmu.edu.cn

(上接第 1422 页)

The experimental study of titanium nanotube loaded dexamethasone hydroxyapatite composite coating

Gao Qikun, Wu Mingyue

(College & Hospital of Stomatology, Anhui Medical University, Key Lab. of Oral Diseases
Research of Anhui Province, Hefei 230032)

Abstract Objective To explore the biocompatibility of hydroxyapatite and dexamethasone composite coatings on the surface of TiO₂ nanotubes. **Methods** A composite coating was constructed by loading hydroxyapatite and dexamethasone on the surface of titanium nanotubes. Field emission scanning electron microscopy, atomic force microscopy, and contact angle measurement instrument was used to observe the characteristics of sample substrates, and *in vitro* biological evaluation was conducted to evaluate the effect of the coating on the adhesion and proliferation of human skull osteoblasts. **Results** The microstructure, three-dimensional morphology and hydrophilic properties of the modified composite coating had changed. After cytological examination, it could significantly promote the adhesion and proliferation of osteoblasts. **Conclusion** By simulating the immersion of body fluids and the method of adding dropwise loads, the titanium nanotube-hydroxyapatite-dexamethasone composite coating is successfully constructed, which has good biocompatibility.

Key words TiO₂ nanotubes; hydroxyapatite; dexamethasone; composite coating; osteoblasts

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 81170993); Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2024AH050683)

Corresponding author Wu Mingyue, E-mail: wumingyue321@126.com