

行政院原子能委員會
委託研究計畫研究報告

電漿浸沒離子注入技術應用於人工植牙之性能提昇研究 II
**Improving the property of dental implant using plasma immersion
ion implantation technique II**

計畫編號：1002001INER036

受委託機關(構)：國立陽明大學

計畫主持人：黃何雄 教授

聯絡電話：02-28267068

E-mail address：hhuang@ym.edu.tw

核研所聯絡人員：蔡文發

報告日期：中華民國 100 年 12 月 06 日

目錄

目錄.....	I
中文摘要.....	1
英文摘要.....	2
壹、計劃源起與目的.....	3
貳、研究方法與過程.....	7
一、材料製備.....	7
二、表面潤濕性質分析.....	7
三、表面抗菌性質分析.....	8
四、細胞貼附分析.....	8
五、細胞增生分析.....	10
六、細胞分化分析.....	10
七、統計分析.....	11
參、主要發現與結論.....	12
一、表面潤濕性質分析.....	12
二、表面抗菌性質分析.....	12
三、細胞貼附分析.....	13
四、細胞增生分析.....	13
五、細胞分化分析.....	14
六、結論.....	14

肆、參考文獻.....	15
伍、表及圖.....	19

中文摘要

本研究是使用氧離子電漿浸沒離子注入 (oxygen plasma immersion ion implantation, O-PIII) 處理技術，藉由不同的氧離子劑量(1×10^{16} , 4×10^{16} and 1×10^{17} ions/cm²)來提升人工植牙用純鈦金屬表面抗菌性質及生物相容性質。表面特性分析結果顯示，O-PIII 處理可提高純鈦金屬表面的潤濕性質。抗菌性質分析結果顯示，O-PIII 處理可降低純鈦金屬表面的細菌(*Streptococcus mitis*) 貼附。生物相容性質分析結果顯示，O-PIII 處理可提升人類骨髓間葉幹細胞 (human bone marrow mesenchymal stem cells) 於純鈦金屬表面貼附、增生及初期分化之能力。本研究使用 O-PIII 處理可在純鈦金屬表面生成緻密的氧化層(主要是二氧化鈦)，此氧化層可提升人工植牙用純鈦金屬表面抗菌性質及生物相容性質。

Abstract

In this study, oxygen plasma immersion ion implantation (O-PIII) treatment, with different oxygen doses (1×10^{16} , 4×10^{16} and 1×10^{17} ions/cm²), was utilized to improve the antibacteria and biocompatibility of Ti surface for dental implant application. Contact angle goniometer analysis showed that the O-PIII-treated Ti surfaces had better wettability as compared to the untreated Ti surfaces. Adhesion of bacteria (*Streptococcus mitis*) to the Ti surfaces could be reduced by O-PIII treatment. Furthermore, cell adhesion, cell proliferation and cell differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells on the Ti surfaces could be improved by O-PIII treatment. O-PIII treatment could enhance the antibacteria and biocompatibility of Ti surface for dental implant application due to the increase in surface thickness of Ti-oxides (mainly as TiO₂) on Ti.

壹、計畫緣起與目的

人工植牙 (dental implant) 表面特性是臨床上植體骨整合表現優劣中最常被加以探討的重要因素之一。因此，許多人工牙根植體系統均遵循此一概念，採用多種不同的表面處理方式，期望能達到理想的骨整合。雖然鈦 (titanium, Ti) 基金屬已廣泛應用於臨床上，但仍有許多問題亟待改善。就植體材料而言，一般的表面處理技術有機械加工、研磨、拋光、噴砂、酸蝕、電漿噴鍍、離子植入等，不同的表面處理方式目的都是為了能得到具有良好生物相容性的植體表面構造，讓植體與骨組織有很緊密的接觸，以加速骨整合 (osseointegration) 及縮短癒合時間 (特別是對植入手術高危險群病患而言)，提高手術成功率。

鈦金屬因為具有良好的機械性質、耐蝕性質及生物相容性質，所以是現今牙科領域最常使用的人工植牙材料。人工植牙用純鈦金屬依據美國材料試驗協會 (American Society for Testing and Materials, ASTM) 分成 4 個等級 (grade)，純度由高至低依序為 grade 1、2、3 及 4，其中人工植牙用純鈦金屬最常使用的等級為 grade 2 [1]。純鈦金屬會具有極佳的生物相容性質，是因為純鈦金屬與氧具有極高的反應性及親和力，當純鈦金屬的表面暴露在空氣或濕氣中時，會有一層穩定且具惰性 (inert) 的氧化層 (oxide

layer)自然形成於純鈦金屬表面 [1-3]，此氧化層的厚度約為 2~20 nm [4]，主要是由非結晶的二氧化鈦 (amorphous titanium dioxide, TiO₂) 所組成 [5]。此 TiO₂ 層具有較低的電傳導特性 (electronic conductivity) [6]、在生理 pH 值的環境中具有熱力學穩定狀態 (thermodynamically stable state) [7] 及在具有水份的環境中有較低的離子生成 (ion formation) [8]。TiO₂ 對於純鈦金屬植體的生物相容性扮演一個相當重要的角色 [9, 10]，其相當適合活性組織，且不易與周圍環境產生反應 [11, 12]。細胞的行為例如貼附 (adhesion)、增生 (proliferation) 及分化 (differentiation) 等等，都會受到此 TiO₂ 層所影響 [13]。具保護性且穩定的 TiO₂ 層，甚至有利於骨整合 (osseointegration) 的作用 [14, 15]。

過去的文獻指出，在具有水份的環境中，此 TiO₂ 層其實是持續不斷地溶解 (dissolution) 及修復 (reconstruction) [16]，因此局部的反應可能會造成金屬元素的溶解，並與環境中的元素結合，最後導致表面成份的改變 [17]。過去的文獻指出，純鈦金屬表面具較差的磨耗特性 (tribological property) [18, 19]，當純鈦金屬置於體內且在荷重的情況下，此 TiO₂ 層可能會因為金屬與骨組織產生細微的移動而受到破壞 [20, 21]，甚至會釋放出純鈦金屬離子並累積在人工植牙周圍 [22]。此外，自然環境中像血液的流

動也可能會造成 TiO_2 層的崩解，因為血液中含有鹽類離子的存在 [2]。因此，有許多學者都積極想要改善純鈦金屬的表面特性，進而提升純鈦金屬的生物相容性質，及延長人工植牙用純鈦金屬的使用壽命。

電漿浸沒離子注入 (plasma immersion ion implantation, PIII) 是一種新穎的表面改質技術，其可以改善材料的表面特性且不會對材料的原始形貌造成破壞 [23]。電漿浸沒離子注入的植入層即使是在不規則的材料表面亦具有極佳的附著力 [24, 25]。因此，非常適合對外形複雜的人工植牙進行表面改質。

在過去，已有學者將純鈦金屬經過氧離子電漿浸沒離子注入 (oxygen plasma immersion ion implantation, O-PIII) 處理後，在不同的環境下如 Hank's 溶液、Ringer's 溶液及模擬體液等去進行耐蝕性質評估 [2, 26-28]。而且，當金屬材料植入人體後，第一個接觸到的其實是血漿，因為血漿會立刻填滿材料與骨組織之間的空隙 [29]。然而，有關純鈦金屬經過 O-PIII 處理後，在血漿的環境中探討其腐蝕行為之文獻至今亦是相當缺乏。更進一步，有學者藉由動物實驗研究證實 O-PIII 處理能夠改善純鈦金屬的骨整合性 [4, 20, 21]。儘管如此，有關純鈦金屬經過 O-PIII 處理後，影

響細胞反應機制之文獻至今亦是相當缺乏。

本研究是使用 O-PIII 處理來改善人工植牙用純鈦金屬表面抗
菌性質及生物相容性質。

貳、研究方法與過程

一、材料製備

本研究選用商業用二級純鈦金屬試片 (commercially pure Ti, grade 2) 做為分析測試材料。純鈦金屬試片表面會先經過碳化矽 (silicon carbide) 砂紙#240、#320、#400、#600、#800、#1000 及#1200 依序研磨。本研究選用低劑量 (1×10^{16} ions/cm²)、中劑量 (4×10^{16} ions/cm²) 及高劑量 (1×10^{17} ions/cm²) 3 組不同的氧離子劑量進行 O-PIII 表面改質處理, 依序命名為 T_L、T_M 及 T_H (實驗組)。未經過 O-PIII 表面改質處理的純鈦金屬試片則命名為 T_C (對照組)。

二、表面潤濕性質分析

使用接觸角量測儀 (contact angle goniometer) 來分析 O-PIII 表面改質處理前後純鈦金屬試片表面潤濕性質之變化。接觸角量測儀的原理是將純鈦金屬試片置於水平的載台上, 分別將去離子水 (deionized water) 及二碘甲烷 (diiodomethane) 溶液滴附於純鈦金屬試片表面, 然後擷取溶液與純鈦金屬試片表面接觸瞬間之影像, 並量測溶液與純鈦金屬試片表面接觸角之變化。

三、表面抗菌性質分析

實驗前一天，將牙菌斑貼附相關之緩症鏈球菌 (*Streptococcus mitis*) 放入含有 5ml BHI (Brian Heart Infusion) broth 的養菌管中，經過隔夜培養後。抽取菌液，使用分光光度計 (spectrophotometer) 在 600 nm 的波長下量測其吸光值 (optical density, OD)，將菌液定量並計算其濃度後。以 $OD_{600} = 1$ 的菌液取 200 μ l 均勻培養於 O-PIII 表面改質處理前後純鈦金屬試片表面，經過 1 小時培養後，加入 1000 μ l BHI 培養液使細菌具充足生長養分，再經過 5 小時培養後，移除培養液，再使用磷酸鹽緩衝液 (phosphate buffered saline, PBS) 清洗殘留的培養液及移除純鈦金屬試片表面尚未貼附的細菌。接著，將純鈦金屬試片置入超音波洗淨機，先震 1 分鐘，停 1 分鐘，再震 1 分鐘，將貼附於純鈦金屬試片表面的細菌震下。最後，以震盪過後的液體當作為原液，進行序列稀釋，均勻塗抹於固態 BHI 培養基，再經過 24 小時培養後，計數每 mm^2 之 CFU。

四、細胞貼附分析

使用免疫螢光染色 (immunofluoresces staining) 來觀察 O-PIII 表面改質處理前後純鈦金屬試片表面人類骨髓間葉幹細胞 (human bone marrow mesenchymal stem cells, hMSCs) 貼附之形

態。實驗步驟，首先將 2×10^4 個 hMSCs 均勻培養於 O-PIII 表面改質處理前後純鈦金屬試片表面，經過 6 小時培養後，移除培養液，再使用 PBS 清洗殘留的培養液及移除純鈦金屬試片表面尚未貼附的 hMSCs。接著，先加入三聚甲醛 (paraformaldehyde) 進行 hMSCs 的固定 (fixation)，再加入聚乙二醇辛基苯基醚 (Triton X-100) 進行 hMSCs 的滲透 (permeabilization) 使細胞膜產生孔隙，最後加入山羊血清 (normal goat serum) 進行阻斷 (blocking)。接著，對 hMSCs 的黏著斑蛋白 (vinculin)、肌動蛋白絲 (actin filament) 及細胞核 (nucleus) 進行染色步驟，先加入抗體黏著斑蛋白 (anti-vinculin) 的一級抗體 (primary antibody) 使其與 hMSCs 中的黏著斑蛋白進行專一性的結合，再加入二級抗體 (secondary antibody) 對上述一級抗體進行專一性的結合；再加入若丹明結合鬼筆環肽 (rhodamine-conjugated phalloidin) 對 hMSCs 中的肌動蛋白絲進行染色；最後加入 4', 6-聯脒-2-苯吲哚二鹽酸鹽 (4', 6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride, DAPI) 對 hMSCs 中的細胞核進行染色。最後使用螢光顯微鏡觀察 hMSCs 於 O-PIII 表面改質處理前後純鈦金屬試片表面黏著斑蛋白、肌動蛋白絲及細胞核的貼附形態。

五、細胞增生分析

使用 MTT (3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2 , 5-diphenyltetrazolium bromide) 試劑來分析 O-PIII 表面改質處理前後純鈦金屬試片表面 hMSCs 增生之能力。實驗步驟，首先將 0.5×10^4 個 hMSCs 均勻培養於 O-PIII 表面改質處理前後純鈦金屬試片表面，分別經過 1、3、5 及 7 天培養後，移除培養液，再使用 PBS 清洗殘留的培養液及移除純鈦金屬試片表面尚未貼附的 hMSCs。接著，先加入 MTT 試劑進行反應，等待反應完畢再加入異丙醇 (isopropanol) 試劑，以溶解 MTT 試劑與 hMSCs 反應之呈色，最後使用酵素免疫分析儀在 570 nm 的波長下測量其吸光值。吸光值越高代表細胞增生的數量越多。

六、細胞分化分析

使用茜素紅 S (Alizarin red S, $C_{14}H_7NaO_7S$) 試劑來分析 O-PIII 表面改質處理前後純鈦金屬試片表面 hMSCs 分化之能力。實驗步驟，首先將 0.5×10^4 個 hMSCs 均勻培養於 O-PIII 表面改質處理前後純鈦金屬試片表面，分別經過 7 及 14 天培養後，移除培養液，再使用 PBS 清洗殘留的培養液及移除純鈦金屬試片表面尚未貼附的 hMSCs。接著，先加入酒精進行脫水，接著再加入茜素紅 S 試劑進行反應，反應完畢後先使用顯微鏡觀察鈣離子的沉積情

形。觀察完畢再加入氯化十六烷基吡啶 (hexadecylpyridinium chloride monohydrate) 試劑，以溶解茜素紅 S 試劑與 hMSCs 反應之呈色，最後使用酵素免疫分析儀在 550 nm 的波長下測量其吸光值。吸光值越高代表細胞分化的數量越多。

七、統計分析

細胞增生及分化分析的實驗數據，經過平均計算之後，再使用 Student's t-test 分析比較各組之間的差異，共有 4 個組別進行統計分析，包含未經過 O-P111 表面改質處理的對照組 (T_C) 及經過 O-P111 表面改質處理的實驗組 (T_L 、 T_M 及 T_H)。若 P -value < 0.05 時，表示組別之間有顯著差異，每個組別分別有 3 重複的數據。

參、主要發現與結論

一、表面潤濕性質分析

圖 1 為接觸角量測儀量測去離子水及二碘甲烷於 O-PIII 處理前後純鈦金屬試片表面之接觸角。結果顯示，經過 O-PIII 處理的 T_L 、 T_M 及 T_H 試片與未經過 O-PIII 處理的 T_C 試片相比，經過 O-PIII 處理的 T_L 、 T_M 及 T_H 試片表面去離子水及二碘甲烷的吸附情況皆優於未經過 O-PIII 處理的 T_C 試片。另外，藉由去離子水及二碘甲烷 2 種溶液水滴吸附形態所求得之接觸角及表面自由能，列於表 1。首先，比較 4 種不同組別的試片，其表面去離子水接觸角的差異，結果顯示， T_C 、 T_L 、 T_M 及 T_H 試片接觸角依序約為 40.4° 、 33.3° 、 33.6° 及 13.3° 。接著，比較 4 種不同組別的試片，其表面二碘甲烷接觸角的差異，結果顯示， T_C 、 T_L 、 T_M 及 T_H 試片接觸角依序約為 45.0° 、 37.9° 、 35.8° 及 14.0° 。最後，比較 4 種不同組別的試片，其表面自由能的差異，結果顯示， T_C 、 T_L 、 T_M 及 T_H 試片其表面自由能依序約為 62.1 mN/m 、 67.6 mN/m 、 67.9 mN/m 及 79.2 mN/m 。

二、表面抗菌性質分析

圖 2 為緩症鏈球菌培養於 O-PIII 處理前後純鈦金屬試片表面 6 小時後之菌落生成數。結果顯示，經過 O-PIII 處理的 T_L 、 T_M

及 T_H 試片與未經過 O-PIII 處理的 T_C 試片相比，經過 O-PIII 處理的 T_L 、 T_M 及 T_H 試片表面緩症鏈球菌的貼附量低於未經過 O-PIII 處理的 T_C 試片。

三、細胞貼附分析

圖 3 為螢光顯微鏡觀察 hMSCs 培養於 O-PIII 處理前後純鈦金屬試片表面 6 小時後之貼附形態。結果顯示，經過 O-PIII 處理的 T_L 、 T_M 及 T_H 試片與未經過 O-PIII 處理的 T_C 試片相比，經過 O-PIII 處理的 T_L 、 T_M 及 T_H 試片表面 hMSCs 的貼附形態優於未經過 O-PIII 處理的 T_C 試片。

四、細胞增生分析

圖 4 為 MTT 試驗分析 hMSCs 培養於 O-PIII 處理前後純鈦金屬試片表面 1、3、5 及 7 天後之增生情形，並使用酵素免疫分析儀測量其吸光值 ($*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$)。結果顯示，經過 O-PIII 處理的 T_L 、 T_M 及 T_H 試片與未經過 O-PIII 處理的 T_C 試片相比，經過 O-PIII 處理的 T_L 及 T_M 試片，其表面 hMSCs 的增生量多於未經過 O-PIII 處理的 T_C 試片。

五、細胞分化分析

圖 5 為茜素紅 S 試驗分析 hMSCs 培養於 O-PIII 處理前後純鈦金屬試片表面 7 及 14 天後之分化情形，並使用酵素免疫分析儀測量其吸光值 ($*p < 0.05$, $**p < 0.01$)。結果顯示，經過 O-PIII 處理的 T_L 、 T_M 及 T_H 試片與未經過 O-PIII 處理的 T_C 試片相比，經過 O-PIII 處理的 T_L 及 T_M 試片，其表面 hMSCs 的分化量多於未經過 O-PIII 處理的 T_C 試片。

六、結論

本研究使用 O-PIII 處理可在純鈦金屬表面生成緻密的氧化層 (主要是二氧化鈦)，此氧化層可降低人工植牙用純鈦金屬表面細菌的貼附量，並提升人工植牙用純鈦金屬表面細胞貼附、增生及初期分化之能力。

肆、參考文獻

1. Elias C, Lima J, Valiev R, Meyers M. Biomedical applications of titanium and its alloys. *JOM Journal of the Minerals, Metals and Materials Society*. 2008;60:46-9.
2. Tan L, Dodd RA, Crone WC. Corrosion and wear-corrosion behavior of NiTi modified by plasma source ion implantation. *Biomaterials*. 2003;24:3931-9.
3. Zhou W, Zhong X, Wu X, Yuan L, Zhao Z, Wang H, et al. The effect of surface roughness and wettability of nanostructured TiO₂ film on TCA-8113 epithelial-like cells. *Surface and Coatings Technology*. 2006;200:6155-60.
4. Mändl S, Sader R, Thorwarth G, Krause D, Zeilhofer HF, Horch HH, et al. Biocompatibility of titanium based implants treated with plasma immersion ion implantation. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 2003;206:517-21.
5. Pan J, Thierry D, Leygraf C. Electrochemical impedance spectroscopy study of the passive oxide film on titanium for implant application. *Electrochimica Acta*. 1996;41:1143-53.
6. Zitter H, Plenk H. The electrochemical behavior of metallic implant materials as an indicator of their biocompatibility. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1987;21:881-96.
7. Solar RJ, Pollack SR, Korostoff E. In vitro corrosion testing of titanium surgical implant alloys: An approach to understanding titanium release from implants. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1979;13:217-50.
8. Tengvall P, Lundström I. Physico-chemical considerations of titanium as a biomaterial. *Clinical Materials*. 1992;9:115-34.
9. Larsson C, Lardelli M, White I, Lendahl U. The human

- NOTCH1, 2, and 3 genes are located at chromosome positions 9q34, 1p13-p11, and 19p13.2-p13.1 in regions of neoplasia-associated translocation. *Genomics*. 1994;24:253-8.
10. Pan J, Liao H, Leygraf C, Thierry D, Li J. Variation of oxide films on titanium induced by osteoblast-like cell culture and the influence of an H₂O₂ pretreatment. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1998;40:244-56.
 11. Tan L, Crone WC. Surface characterization of NiTi modified by plasma source ion implantation. *Acta Materialia*. 2002;50:4449-60.
 12. Lackner JM, Waldhauser W, Ebner R, Major B, Schöberl T. Pulsed laser deposition of titanium oxide coatings at room temperature-structural, mechanical and tribological properties. *Surface and Coatings Technology*. 2004;180-181:585-90.
 13. Lampin M, Warocquier-Clérout R, Legris C, Degrange M, Sigot-Luizard MF. Correlation between substratum roughness and wettability, cell adhesion, and cell migration. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1997;36:99-108.
 14. Keller JC, Stanford CM, Wightman JP, Draughn RA, Zaharias R. Characterizations of titanium implant surfaces. III. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1994;28:939-46.
 15. Kieswetter K, Schwartz Z, Dean DD, Boyan BD. The Role of Implant Surface Characteristics in the Healing of Bone. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1996;7:329-45.
 16. Kelly EJ. Electrochemical-behavior of titanium. In: Bockris JOM, Conway BE, White RE, editors. *Modern Aspects of Electrochemistry*. New York: Plenum Press; 1982. p. 319-424.
 17. Hiromoto S, Hanawa T, Asami K. Composition of surface oxide film of titanium with culturing murine fibroblasts L929. *Biomaterials*. 2004;25:979-86.

18. Rinner M, Gerlach J, Ensinger W. Formation of titanium oxide films on titanium and Ti6Al4V by O₂-plasma immersion ion implantation. *Surface and Coatings Technology*. 2000;132:111-6.
19. Liu X, Chu PK, Ding C. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: R: Reports*. 2004;47:49-121.
20. Mändl S, Krause D, Thorwarth G, Sader R, Zeilhofer F, Horch HH, et al. Plasma immersion ion implantation treatment of medical implants. *Surface and Coatings Technology*. 2001;142-144:1046-50.
21. Mändl S, Sader R, Thorwarth G, Krause D, Zeilhofer HF, Horch HH, et al. Investigation on plasma immersion ion implantation treated medical implants. *Biomolecular Engineering*. 2002;19:129-32.
22. Browne M, Gregson PJ. Effect of mechanical surface pretreatment on metal ion release. *Biomaterials*. 2000;21:385-92.
23. Yeung KWK, Poon RWY, Liu XY, Ho JPY, Chung CY, Chu PK, et al. Corrosion resistance, surface mechanical properties, and cytocompatibility of plasma immersion ion implantation-treated nickel-titanium shape memory alloys. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2005;75A:256-67.
24. Mändl S, Rauschenbach B. Improving the biocompatibility of medical implants with plasma immersion ion implantation. *Surface and Coatings Technology*. 2002;156:276-83.
25. Tian XB, Chu PK, Fu R, Yang SQ. Hybrid processes based on plasma immersion ion implantation: a brief review. *Surface and Coatings Technology*. 2004;186:190-5.
26. Poon RWY, Ho JPY, Liu X, Chung CY, Chu PK, Yeung KWK, et al. Improvements of anti-corrosion and mechanical properties of NiTi orthopedic materials by acetylene, nitrogen and oxygen

- plasma immersion ion implantation. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms. 2005;237:411-6.
27. Yankov RA, Shevchenko N, Rogozin A, Maitz MF, Richter E, Moller W, et al. Reactive plasma immersion ion implantation for surface passivation. Surface and Coatings Technology. 2007;201:6752-8.
 28. Muñoz-Castro AE, López-Callejas R, Granda-Gutiérrez EE, Valencia-Alvarado R, Barocio SR, Peña-Eguiluz R, et al. Ion implantation of oxygen and nitrogen in CpTi. Progress in Organic Coatings. 2009;64:259-63.
 29. Yang Y, Oh N, Liu Y, Chen W, Oh S, Appleford M, et al. Enhancing osseointegration using surface-modified titanium implants. JOM Journal of the Minerals, Metals and Materials Society. 2006;58:71-6

伍、表及圖

表 1、O-PIII 處理前後純鈦金屬試片表面之接觸角及表面自由能

(數值為平均值±標準差)。

Group	Parameter	Contact angle (degree)				Surface free energy (mN/m)
		Distilled water		Diiodomethane		
		Mean	SD	Mean	SD	
	T _C	40.4	1.5	45.0	0.4	62.1
	T _L	33.3	1.4	37.9	0.5	67.6
	T _M	33.6	1.1	35.8	0.6	67.9
	T _H	13.3	1.4	14.0	0.5	79.2

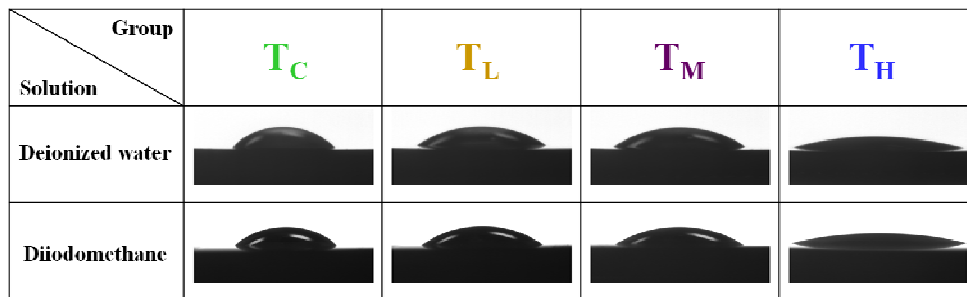


圖 1、接觸角量測儀量測去離子水及二碘甲烷於 O-PIII 處理前後

純鈦金屬試片表面之接觸角。

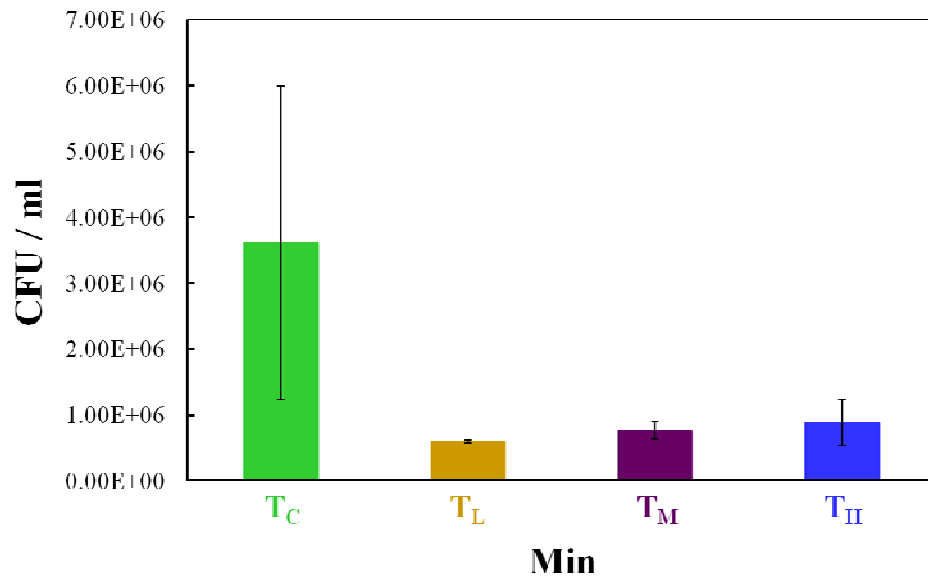


圖 2、緩症鏈球菌培養於 O-PIII 處理前後純鈦金屬試片表面 6 小時後之菌落生成數。

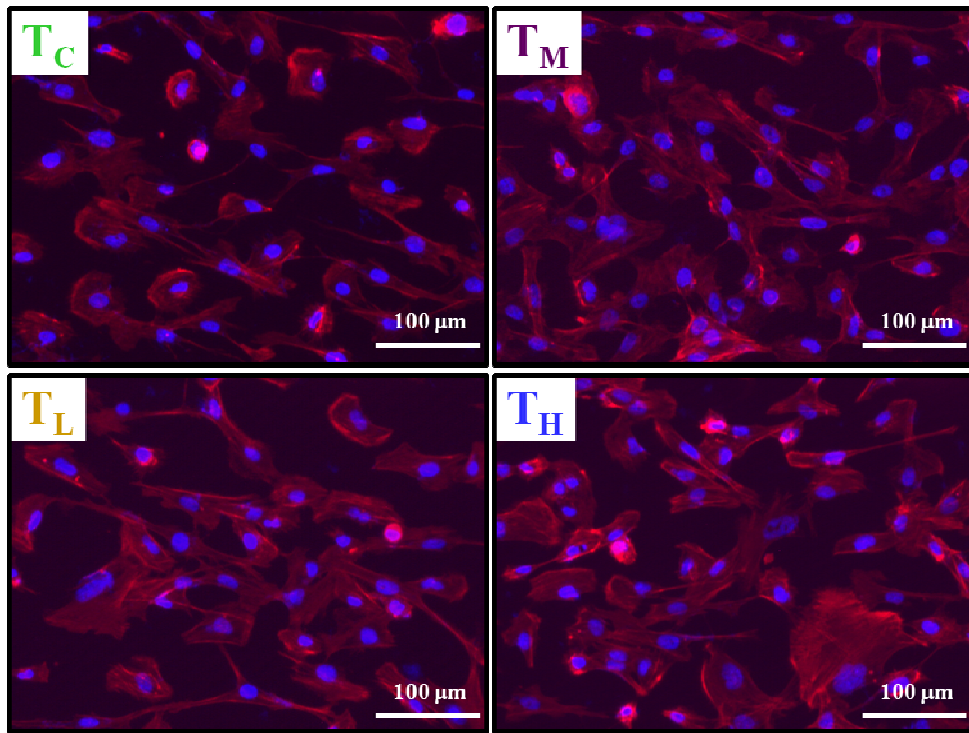


圖 3、螢光顯微鏡觀察 hMSCs 培養於 O-PHII 處理前後純鈦金屬試片表面 6 小時後之貼附形態。

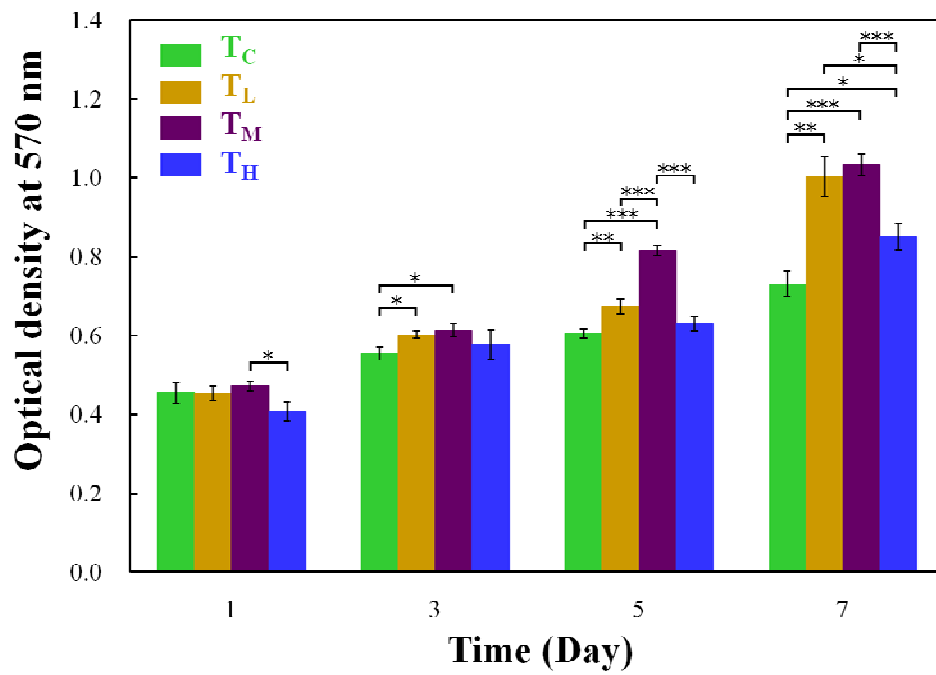


圖 4、MTT 試驗分析 hMSCs 培養於 O-PIII 處理前後純鈦金屬試片表面 1、3、5 及 7 天後之增生情形，並使用酵素免疫分析儀測量其吸光值 (* $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$ ，*** $p < 0.001$)。

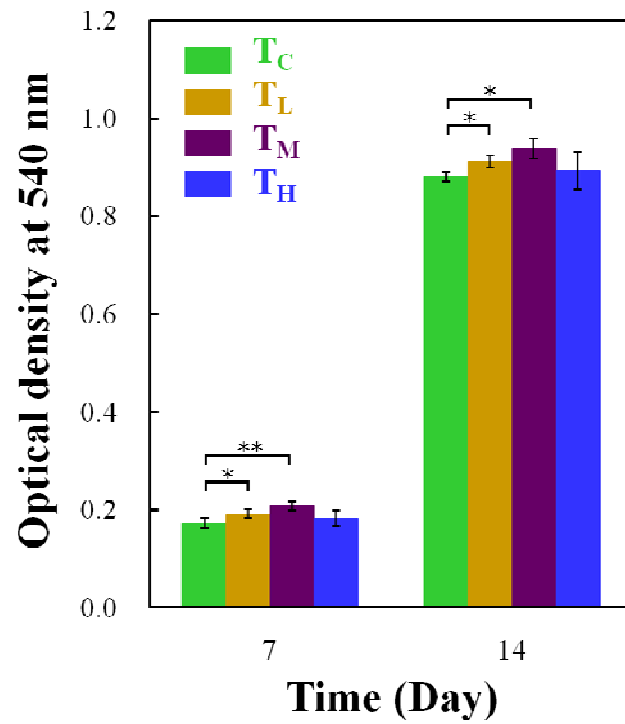


圖 5、茜素紅 S 試驗分析 hMSCs 培養於 O-PIII 處理前後純鈦金屬試片表面 7 及 14 天後之分化情形，並使用酵素免疫分析儀測量其吸光值 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)。