doi: 10.11933/j.issn.1007-9289.20190415002

聚四氟乙烯表面 PDA/TiO2 复合薄膜的构建及其细胞响应性

何旭昭,胡惠文,朱翼飞,程 逵,翁文剑 (浙江大学材料科学与工程学院,杭州 310027)

摘要:聚四氟乙烯(PTFE)具有良好的生物稳定性,是一种被广泛应用的生物材料。利用聚多巴胺(PDA)化学及原位共沉积法,在PTFE基板表面沉积制备复合薄膜,以改善其表面的亲水性和细胞响应特性。研究结果显示,由PDA和TiO2构成的薄膜可以有效地沉积与PTFE基板表面。薄膜均匀且与基板结合牢固,剪切强度可达23.5 MPa。薄膜中的TiO2含量可以通过沉积液中的TiO2水溶胶加入量调节。具有薄膜的PTFE表面成纤维细胞和成骨细胞响应性较之PTFE基板显著改进,1d的细胞粘附试验和3d的细胞增殖试验均显示涂层表面细胞数量显著高于无涂层的PTFE。这种在PTFE表面构建二氧化钛涂层的方法简单易行,在PTFE植入体表面修饰方面具有较好的应用前景。 关键词:PDA/TiO2复合薄膜;细胞响应性;聚四氟乙烯;表面改性

中图分类号: TG174.44

文献标志码:A

文章编号:1007-9289(2019)05-0030-07

Preparation of PDA/TiO₂ Composite Film on PTFE and Its Cellular Response

HE Xuzhao, HU Huiwen, ZHU Yifei, CHENG Kui, WENG Wenjian

(School of Materials Science and Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

Abstract: Polytetrafluoroethylene (PTFE) has been widely applied as a biomaterial owing to its good stability and bioinertness. A PDA/TiO₂ composite film was prepared on the surface of PTFE substrate through polydopamine (PDA) assisted in-situ co-deposition, so that the hydrophilicity and cellular responses could be improved. It was found that the film consists of PDA and TiO₂. The content of TiO₂ in the film can be controlled through the amount of TiO₂ sol added in the deposition solution. The film is bonded to the substrate strongly. The shear strength reaches 23.5 MPa. Fibroblasts and osteoblasts are seeded on the surface of the modified substrate, and one-day cell adhesion and three-day proliferation experiments show that the cellular response of the modified substrate are significantly improved. Such deposition method is simple and easy, exhibiting wide potential in surface modification of PTFE for biomedical application. **Keywords:** PDA/TiO₂ composite film; cellular responses; PTFE; surface modification

0 引 言

聚四氟乙烯 (PTFE) 具有良好的生物稳定性或 生物惰性,不会引起机体的排斥^[1-3],是目前人工 血管以及隆鼻假体所使用主要材料之一^[4-5]。然 而,其极低的表面能使得表面具有很强的疏水特 性,这使得其难以促进细胞附着与后续的增殖分 化等,进而直接影响了其在生物体内与组织的结 合^[6]。然而,常用的改进 PTFE 表面亲水特性的方法,如离子束注入^[7-9]、钠-萘络合物处理^[10-13]、等离子体处理^[14-16] 和高温熔融^[17]等,尽管能够活化 其表面并提高亲水性,但是有些方法操作复杂且 有毒成份残留影响细胞响应,有些会造成 PTFE 基体的损伤,还有些方法表面亲水特性会随时间 延长而逐渐消失。因此,研究简单高效的、对基 板损伤小并可提高表面细胞响应性的 PTFE 表面

收稿日期: 2019-04-15; 修回日期: 2019-08-28

通信作者:程逵(1972—),男(汉),教授,博士;研究方向:生物医用材料; E-mail: chengkui@zju.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金 (51872259)

Fund: Supported by National Natural Science Foundation of China (51872259)

引用格式:何旭昭,胡惠文,朱翼飞,等.聚四氟乙烯表面 PDA/TiO2 复合薄膜的构建及其细胞响应性[J].中国表面工程,2019,32(5):30-36. HE X Z, HU H W, ZHU Y F, et al. Preparation of PDA/TiO2 composite film on PTFE and its cellular response[J]. China Surface Engineering, 2019, 32(5): 30-36. 改性方法对其生物医用研究具有重要的意义。

作为表面生物医用涂层或薄膜应用时,相当 多的研究发现 TiO2 是一种表面亲水性较好且具有 优良细胞响应性的材料^[18-20]。Liu 等^[21] 通过研究发 现相比于 Ti 基板, TiO2 涂层包覆的 Ti 基板更能 促进成骨细胞粘附和增殖。因此,如在 PTFE 表 面形成一层 TiO2 薄膜有可能有效提高其细胞响应 性。然而,由于 PTFE 基板表面能极低,在其表 面直接制备 TiO2 薄膜有一定的困难。近年来的研 究发现,源于贻贝黏附蛋白中的一种黏附功能单 元——多巴胺,能够自聚成膜并具有良好的粘附 性,几乎可以黏附在所有材料表面[22-23],且具有良 好的生物相容性^[24]。因此,利用聚多巴胺 (PDA) 能够将其作为"粘结剂"实现多种材料表面的改性 以及涂层或薄膜的制备。Lee 等[22] 发现将 PTFE 浸泡于多巴胺缓冲液中一段时间,其表面即出现 一层 PDA 薄膜。利用这一特点,在 PDA 形成过 程中引入 TiO2 有可能在 PTFE 表面形成复合薄膜。

鉴于此,研究通过将多巴胺缓冲液与TiO2水 溶胶混合,采用聚多巴胺化学及原位共沉积法在 PTFE 基板表面沉积得到 PDA/TiO2 复合薄膜,并 对其与基板的结合力以及亲水性和细胞响应性等 进行了评估。

1 试 验

1.1 薄膜制备

按体积比1:1:1将丙酮、无水乙醇和去离 子水的制备成混合溶液,将1cm×1cm的聚四氟 乙烯 (PTFE, 诺伊费德有限公司) 基板放入混合溶 液中超声清洗 30 min 后,置于 60 ℃ 烘箱干燥, 再采用等离子体 (空气等离子体) 对 PTFE 基板活 化 30 min。将 0.0607 g 的 TRIS 和 0.10 g 盐酸多巴 胺(阿拉丁化学试剂有限公司)依次加入到50 mL 去离子水中, 磁力搅拌至完全溶解, 调节 pH=8.5 得到多巴胺-TRIS缓冲液。然后,将TiO2水溶胶 (湖南钛唐纳米科技有限公司, 20%, 质量分数) 与去离子水按体积比1:5混合,超声震荡1h得 到稀释后的 TiO2 水溶胶。在磁力搅拌下将一定量 的 TiO2 水溶胶加入多巴胺-TRIS 缓冲液中, 混合 均匀。将经等离子体处理后的 PTFE 基板分别浸 入不同 TiO2 含量水溶胶的混合溶液以及多巴胺-TRIS 缓冲液中 24 h, 浸泡完毕后将其取出置于防

潮柜中2h,即可得到所需的PDA/TiO2复合薄膜及PDA薄膜参比样。

1.2 薄膜表征

采用扫描电子显微镜 (SEM) 观察复合薄膜表 面形貌,并使用原子力显微镜 (AFM) 表征其表面 粗糙程度。采用能谱分析仪 (EDS) 表征复合薄膜 中所含元素。基板表面的亲水性使用接触角测量 仪 (OCA20) 表征。紫外照射后的接触角利用 365 nm 紫外灯照射 20 min 后测量。复合薄膜与基板的结 合牢固程度通过用去离子水冲刷的方法来表征。 其具体结合力大小通过剪切强度来表征:将 3 M 胶带粘结在薄膜表面,利用力学试验机水平撕扯 胶带测得薄膜与基板的剪切强度^[25]。

1.3 生物学评价

利用复合薄膜表面细胞的黏附与增殖情况来 评价其生物相容性。所用的细胞为小鼠前成骨细 胞 (MC3T3-E1)和小鼠成纤维细胞 (NIH3T3)。细 胞的培养条件如下:将细胞株置于 37 ℃,5% CO2 体积分数以及湿度饱和的细胞培养箱内。使用 CCK-8 试剂盒测试细胞粘附和增殖性能。具体检 测方法如下^[26]:培养细胞一定时间后,将样品取 出置于新的 24 孔板中,并向每个孔中分别加入 500 μL 细胞培养基以及 50 μL CCK-8 溶液,将其 置于细胞培养箱中反应 3 h; 然后将反应后的培养 基吸入到全新 96 孔板中,每孔容量为 120 μL,利 用酶标仪在测定其在 450 nm 处的吸光度 (OD 值)。

为表征细胞在材料表面的黏附与铺展情况, 在材料表面接种密度为 1×10⁵ cells/cm² 的细胞后, 置于细胞培养箱中培养 24 h,取出后先用 4% 多 聚甲醛固定 15 min,固定完毕后加入 0.4% 聚乙二 醇辛基苯基醚 (Triton X-100)进行处理,处理时间 为 15 min,然后使用鬼笔环肽对细胞的骨架进行 染色,染色时间为 30 min,使用 DAPI 染料对细 胞核染色 5 min,染色完成后使用荧光显微镜对细 胞的形态进行观察。

2 结果与讨论

2.1 薄膜的形貌与组成

通过原位共沉积法制得的薄膜如图 1 所示。从图 1(a) 中可见,初始的聚四氟乙烯基板表面较粗糙。通过 AFM 表征显示其粗糙度为 (41.4±3.2) nm;

进行等离子体处理后,其表面粗糙程度明显增大 (图 1(b)),增至(86.0±4.0)nm。粗糙度的提高显示 等离子体处理去除了部分表面,这有利于暴露新 鲜表面并形成悬挂键,从而提高表面能并促进后 续的反应。浸泡形成 PDA 后(图 1(c)),基板表面 变得更加平整光滑,其粗糙度也降至(31.6±1.1)nm。 当 PDA 与 TiO2 纳米颗粒共沉积后(图 1(d)),表 面形成一层纳米颗粒致密堆积的均匀薄膜。这使 得表面粗糙度略有增至(34.3±1.5)nm。图 2(a)中 的 XRD 测试结果显示,在 25.35°、37.83°、48.12°、 53.92°、55.11°和 62.71°等处的衍射峰,与锐钛矿 相二氧化钛的特征衍射峰峰位吻合良好。这显示 PDA/TiO2 复合薄膜中有锐钛矿相 TiO2 存在。

水接触角结果显示 PTFE 基板表面处于疏水 状态,水接触角约为 118°左右。而如图 2(b)所 示, PDA/TiO2 复合薄膜表面亲水性随着浸泡溶液 中 TiO2 水溶胶的体积的增加而显著下降。不仅如 此,经 365 nm 紫外光照射后,PDA/TiO2 复合薄 膜的水接触角显著降低,且降低幅度与薄膜沉积 混合液中 TiO2 水溶胶含量的增多成正比。考虑到 TiO₂在紫外光照射下具有显著的光致亲水特性, 表面亲水性在紫外光照后的变化主要来自于薄膜中的TiO₂,紫外光照后水接触角下降幅度的增加 意味着复合薄膜中的TiO₂含量显著增加。表1中 PDA/TiO₂复合薄膜的化学成分分析进一步证实了 这一点。如表1所示,基板表面主要有C、F两种 元素,经过等离子体处理后基板的元素组成变化 不大。当表面沉积PDA/TiO₂复合薄膜后薄膜中 Ti的存在显示表面的颗粒为TiO₂纳米颗粒。且随 着TiO₂加入量的增加,所检测到的复合薄膜中 Ti元素含量也随之增加。

这些结果显示,所得的到复合薄膜表面亲水 性得到了改善,且复合薄膜中的TiO2含量可以通 过混合溶液中TiO2水溶胶的加入量来调控,进而 调控薄膜表面的亲水特性。如前所述,由于PTFE 的疏水特性是影响其表面细胞响应性的重要因 素,这种可调的亲水特性可能有利于增强细胞粘 附。而且,其表面亲水特性可能通过简单的紫外 光照进行调控,这在其表面亲水特性减弱,如在 长期存放之后的再亲水化是十分有益的。



(a) PTFE substrate

(b) PTFE substrate after plasma



(c) PDA film

(d) PDA / TiO_2 composite film

图 1 基板及薄膜表面形貌及粗糙度

Fig.1 Morphologies and roughness of the substrate and films

Tabla 1

rable i Typical chemical composition of substrate and mins				
Samples	Atomic percentage, a/%			
	С	F	Ti	0
PTFE substrate	26.88	72.74	0.00	0.37
PTFE substrates after plasma	27.70	71.87	0.00	0.43
PDA films	28.84	70.22	0.00	0.94
PDA/TiO ₂ composite films (1 mL)	28.14	71.23	0.05	0.59
PDA/TiO ₂ composite films (3 mL)	27.42	71.77	0.08	0.73
PDA/TiO ₂ composite films (5 mL)	26.84	72.22	0.09	0.85
PDA/TiO ₂ composite films (7 mL)	25.78	72.96	0.12	1.14

表1 基板和薄膜的化学组成成分

2.2 薄膜的结合强度

薄膜是否能够稳定存在于 PTFE 表面是影响 其性能稳定性的关键。针对这一特性,首先进行 了去离子水冲洗法测试。从冲洗前(图 3(a))和冲 洗后(图 3(b))的 SEM 形貌可以看出, PDA/TiO2

复合薄膜基本保持了完整连续,并无明显的脱落 现象。这是由于多巴胺溶液很容易在基板上发生 自聚合,所生成的 PDA 具有非常牢固的结合力, 而且在沉积过程中 TiO2 纳米颗粒可以嵌入到 PDA 的分子链中,与其牢固结合,因此去离子水冲洗 无法使 TiO2 颗粒从其表面脱附。这一结果意味 着,复合薄膜在体内液体环境、以及体液的冲刷 下具有较好的稳定性。进一步采用如图 4(a) 所示 的剪切强度法对复合薄膜与 PTFE 基板的结合强 度进行了表征。结果显示,复合薄膜与基板的剪 切强度达到了 23.5 MPa (图 4(b))。而且,对剪切 强度测试后的断裂表面的形貌分析表明,薄膜主 体绝大多数较牢固结合于基板上,只有少量薄膜 在剪切试验中从表面脱附,显示出混合断裂模 式。这些结果证明薄膜与基体有着良好的结合 强度。

(a) Before rinsing

(b) After rinsing for 1 min

图 3 PDA/TiO2 复合薄膜经去离子水冲前后 SEM 形貌 Fig.3 SEM images of the PDA/TiO2 composite films before and after rinsing with distilled water

图 4 薄膜剪切强度及断口形貌

Fig.4 Film bonding strength and SEM image of fracture after shear bond strength testing

2.3 薄膜的细胞响应性

PDA/TiO2 复合薄膜表面的细胞响应性对其进 一步细胞响应极为重要,细胞在薄膜表面初期的 附着及增殖性能常用来表征薄膜的细胞响应性 性。图 5 的 CCK-8 结果显示,成纤维细胞和前成 骨细胞均能在薄膜表面良好附着及增殖。当 PTFE 基板表面沉积 PDA/TiO2 复合薄膜后,其 24 h 细 胞 OD 值与 PTFE 及 PDA 膜对照组相比均略有增 加。由于 CCK-8 值与细胞数量相关,这一结果通 常意味着细胞数量的增加;而24h细胞数量通常 用来衡量表面上细胞附着的行为。因此,这一结 果意味着复合薄膜表面亲水性的增强促进了细胞 的附着。经过 72 h 培养后,包括 PTFE 在内的所 有基板表面的 OD 值均增高了,这一结果说明附 着在表面上的细胞数量通过增殖而增加了。不仅 如此, PDA/TiO2 复合薄膜样品的 OD 值增加幅度 显著高于对照的 PTFE 基板。这进一步显示, PDA/

TiO2 复合薄膜的表面进一步促进了细胞的增殖。 而且,所采用的两种不同各类的细胞显示出类似 的结果,这意味着该结果有一定的代表性。因此, 在 PTFE 基板表面制备 PDA/TiO2 复合薄膜,可以 有效地改进其表面包括细胞附着和细胞增殖在内 的细胞响应性。

图 6 中的细胞形态研究进一步显示了 PTFE 基板表面 PDA/TiO₂ 复合薄膜对细胞响应性的作用。表面接种成纤维细胞 1 天后细胞在其表面的 黏附与铺展情况显示,细胞在 PTFE 基板表面的 铺展状态较差,伪足较为不明显,可观察到的数 量十分有限,细胞大多呈蜷缩态(图 6(a));而在 PDA/TiO₂ 复合薄膜表面,细胞可以很好地在表面 黏附和铺展,细胞呈无规则铺展形态,可以观察 到更多伪足,如图 6(b)所示。这可以归结为 PTFE 基板表面的疏水特性,不利于细胞黏附和铺展。 进一步结合图 5 中细胞附着数量及增殖结果,可

图 5 细胞在基板与薄膜表面的黏附与增殖情况

Fig.5 Cell viability and proliferation of the substrate and films (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

(a) PTFE

(b) PDA / TiO₂

图 6 PTFE 及 PDA/TiO2 表面细胞形态 Fig.6 Cell morphologies on PTFE substrate and PDA/TiO2 film

以看出,在 PTFE 基板表面制备 PDA/TiO₂ 复合薄膜可以有效地改进其表面的细胞响应特性。

3 结 论

利用聚多巴胺化学通过原位共沉积法能够有效地在 PTFE 基板表面制备了 PDA/TiO₂ 复合薄膜, 且复合薄膜中的 TiO₂ 含量可以通过调节薄膜沉积混合溶液中的 TiO₂ 水溶胶含量调控。薄膜与基板结合牢固,其剥离剪切力达到了 23.5 MPa。同时,复合薄膜显示出良好的抗冲刷性能。复合薄膜表面具有较好的细胞相容性,NIH3T3 和 MC3T3-E1 细胞在其表面的附着及增殖情况均优于未改性的 PTFE 基板。这些研究结果表明,在 PTFE 基板表面沉积 PDA/TiO₂ 复合薄膜能显著提高其表面的细胞响应性,从而改进其作为生物医用材料应用时与组织细胞相互作用的性能。

参考文献

- [1] MARKKULA T K, HUNT J A, PU F R, et al. Surface chemical derivatization of plasma-treated PET and PTFE[J]. Surface and Interface Analysis, 2002, 34(1): 583-587.
- [2] PUSKAS J E, CHEN Y. Biomedical application of commercial polymers and novel polyisobutylene-based thermoplastic elastomers for soft tissue replacement[J]. Biomacromolecules, 2004, 5(4): 1141-1154.
- [3] KITAMURA A, KOBAYASHI T, MEGURO T, et al. Control of cell behavior on PTFE surface using ion beam irradiation[J]. Nuclear Inst & Methods in Physics Research B, 2009, 267(8-9): 1638-1641.
- [4] LI D, XUE H Y, ZENG G. Augmentation rhinoplasty with expanded polytetrafluoroethylene and prevention of complications[J]. Archives of Facial Plastic Surgery, 2010, 12(4):

246-251.

- [5] ZHANG X D, PENG Q J, XU Y C. Methods for carving expanded polytetrafluoroethylene prostheses in augmentation rhinoplasty and their impact on nose shape[J]. Plastic & Reconstructive Surgery, 2012, 130(6): 906e-908e.
- [6] III H S S, BLANTOCAS G Q, NOGUERA V R, et al. Lowenergy hydrogen ion shower (LEHIS) treatment of polytetrafluoroethylene (PTFE) materials[J]. Applied Surface Science, 2008, 255(5): 2951-2957.
- [7] KITAMURA A, SATOH T, KOKA M. Modification of teflon surface by proton microbeam and nitrogen ion beam[J]. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 2013, 314(9): 82-85.
- [8] LEE S W, HONG J W, WYE M Y. Surface modification and adhesion improvement of PTFE film by ion beam irradiation[J]. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 2004, 219(1): 963-967.
- [9] CHEN Y, ZHAO Z, LIU Y. Wettability characteristic of PT-FE and glass surface irradiated by keV ions[J]. Applied Surface Science, 2008, 254(17): 5497-5500.
- [10] BREWIS D M, DAHM R H. A review of electrochemical pretreatments of polymers[J]. International Journal of Adhesion and Adhesives, 2001, 21(5): 397-409.
- [11] MARCHESI J T, HA K, GARTON A, et al. Adhesion to sodium naphthalenide treated fluoropolymers. Part II. Effects of treatment conditions and fluoropolymer structure[J]. Journal of Adhesion, 1991, 36(1): 55-69.
- [12] ZHANG L S, ZHOU Y L, SUN Y H, et al. Surface modification mechanism of parylene C film by solution of sodiumnaphthalene complex[J]. Advanced Materials Research, 2011, 287(1): 2314-2317.
- [13] HONTSU S, NAKAMORI M, KATO N, et al. Formation of

hydroxyapatite thin films on surface-modified polytetrafluoroethylene substrates[J]. Japanese Journal of Applied Physics, 1998, 37: L1169-L1171.

- [14] CANULLO L, PEÑARROCHA D, CLEMENTINI M. Impact of plasma of argon cleaning treatment on implant abutments in patients with a history of periodontal disease and thin biotype: Radiographic results at 24-month follow-up of a RCT[J]. Clinical Oral Implants Research, 2015, 26(1): 8-14.
- [15] LI R, YE L, MAI Y W, et al. Application of plasma technologies in fibre-reinforced polymer composites: A review of recent developments[J]. Composites Part A: Applied Science and Manufacturing, 1997, 28(1): 73-86.
- [16] RYAN M E, BADYAL J P S. Surface texturing of PTFE film using nonequilibrium plasmas[J]. Macromolecules, 1996, 28(5): 1377-1382.
- [17] WANG H Y, LIN S, ZHANG S, et al. Biomimetic design and tribological properties of porous lubricating wear-resistance CF/PTFE/PEEK composite[J]. Journal of Materials Engineering, 2014, 4(6): 45-50.
- [18] LIU J X, YANG DZ, SHI F, et al. Sol-gel deposited TiO₂ film on NiTi surgical alloy for biocompatibility improvement[J]. Thin Solid Films, 2003, 429(1): 225-230.
- [19] PORTAN D V, KROUSTAKKI A A, DELIGIANMI D D, et al. On the biocompatibility between TiO₂ nanotubes layer and human osteoblasts[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2012, 100A(10): 2546-2553.
- [20] CHENG Z G, CHENG K, WENG W J, et al. SiO₂/TiO₂

nanocomposite films on polystyrene for light-induced cell detachment application[J]. ACS Applied Materials and Interfaces, 2016, 9(3): 2130-2137.

- [21] LUTING L, RITWIK B, THOMAS W, et al. Atomic layer deposition of nano-TiO₂ thin films with enhanced biocompatibility and antimicrobial activity for orthopedic implants[J]. International Journal of Nanomedicine, 2017, 12(2): 8711-8723.
- [22] LEE H, DELLATORE S M, MILLER W M, et al. Musselinspired surface chemistry for multifunctional coatings[J]. Science, 2007, 318(5849): 426-430.
- [23] DU Q, AN J, LI J, et al. Polydopamine as a new modification material to accelerate startup and promote anode performance in microbial fuel cells[J]. Journal of Power Sources, 2017, 343: 477-482.
- [24] DENG Z W, SHANG B, PENG B. Polydopamine based colloidal materials: Synthesis and applications[J]. Chemical Record, 2018, 18(4): 410-432.
- [25] 王小召. 表面光生电荷对蛋白质分子的调控机制及其生物
 学效应[D]. 杭州: 浙江大学, 2018: 101-102.
 WANG X Z. Regulation of protein molecules through lightinduced surface charge and its biological effects[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018: 101-102 (in Chinese).
- [26] CHENG K, WANG T T, YU M L, et al. Effects of RGD immobilization on light-induced cell sheet detachment from TiO₂ nanodots films[J]. Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications, 2016, 63: 240-246.