

DLC 膜的生物相容性研究进展及在生物医用材料中的应用 *

徐丽萍, 林松盛

1. 广州有色金属研究院 新材料研究所, 广东 广州 510650;
2. 现代材料表面工程技术国家工程实验室, 广东, 广州, 510650;
3. 广东省现代表面工程技术重点实验室, 广东 广州 510650

摘 要: 综述了 DLC 膜的生物相容性研究进展及其在生物医用材料中的应用. 生物相容性研究主要在 DLC 膜的细胞毒性及血液相容性方面进行了阐述; 而应用进展主要在口腔修复、心血管介入治疗和心脏病治疗、人工髋关节等承重植入体等方面进行了阐述. 最后指出了存在的问题及发展趋势.

关键词: 类金刚石薄膜; 生物医用材料; 生物相容性; 表面改性

中图分类号: TG17

文献标识码: A

生物医用材料因长期(或临时)与人体接触, 必须与生物环境充分相容, 即与生物体不发生任何毒性、致敏、炎症、致癌及血栓等生物反应, 而这些主要取决于材料表面与生物体环境的相互作用. 所以, 生物医用材料及其器械的表面性能尤为重要. 除了开发新型材料外, 通过表面改性的方法改善材料的表面性能, 弥补材料自身的不足已成为生物医用材料领域的一个主要研究方向, 在材料表面制备生物相容性且具一定功能性的薄膜是极具应用潜力的. 类金刚石(Diamond-like carbon, DLC)薄膜具有类似金刚石的性质, 如硬度高、摩擦系数低及优异的化学惰性, 已广泛应用于机械、光学和微电子等领域中. 此外, DLC 在生理环境中较稳定, 近于惰性, 并且能够在低于 250 °C 下沉积, 可在几乎所有基质材料上制备, 如金属、陶瓷、玻璃和塑料等. 因此, DLC 表面改性已成为生物医用材料领域的研究热点.

1 DLC膜的制备方法及其基本性质

1.1 DLC 膜的制备方法

类金刚石薄膜的低温气相制备工艺可分为化学气相沉积(CVD)法和物理气相沉积(PVD)法. 化学气相沉积法是利用高温或等离子激发离解碳的气态化合物, 而后通过化学反应在基底形成类金刚石薄膜. 其主要包括热丝化学气相沉积法、电子辅助化学气相沉积法、直流等离子体喷射化学气相沉积法和直流弧光等离子化学气相沉积法等. 由于 CVD 法在类金刚石薄膜的制备工艺方面还存在一些问题有待解决, 因此工业上采用较多的是物理气相沉积法. 类金刚石薄膜的物理气相沉积法主要是利用气体离子轰击石墨靶材或利用热源蒸发石墨靶材, 使碳原子或者离子基团脱离, 从而在基体上形成 DLC 薄膜. 其主要包括脉冲激光沉积(PLD)、离子束溅射沉积与离

收稿日期: 2015-06-29

*基金项目: 广东省战略性新兴产业核心技术攻关项目(2011A08142004)

作者简介: 徐丽萍(1977-), 女, 河北阜城人, 高级工程师, 研究生.

子束增强沉积、磁控溅射和真空阴极电弧沉积等。

1.2 DLC膜的基本性质

DLC膜的理化性质近似于金刚石薄膜,差别在于DLC中含有混合的 sp^3 和 sp^2 键,并且是不定形的.DLC的硬度为20~50 GPa、密度为1.8~2.1 g/cm³、摩擦系数为0.02~0.20^[1],电阻率在 $1\times10^5\sim1\times10^{12}\ \Omega\cdot\text{cm}$ 之间^[2-3],热导率大于40 W/(m·K),折射率为1.8~2.3,具有从红外到紫外的高光学透过率^[4].表明,DLC具有硬度高、光透度好、摩擦系数较低、高热传导性和高室温电阻率的理化特性.此外,DLC膜具有很强的化学稳定性,这对材料表面的耐腐蚀性能提高非常有利.在铜合金薄片仪表元件上镀DLC膜的研究表明^[5],DLC膜在抗酸碱腐蚀、抗有机气体腐蚀及耐湿热等性能方面均优于钠盐钝化膜。

由于DLC膜的性能与其组成、结构有关,而其组成和结构又随制备条件及工艺参数的不同而有所不同.因此,在DLC膜的应用过程中,通常会根据实际需要来选择制备条件、工艺或通过掺杂其它元素的方式来调整DLC膜的性能。

2 DLC膜的生物相容性研究

生物医用材料对宿主而言是一种异物,在体内必定会产生某种应答或排异现象.生物医用材料主要应用于机体中,应使发生的反应被接受、不产生有害作用,这就要求其不仅要满足临床应用时所需的物理化学性能,还需具有良好的生物相容性,从而确保其临床应用的有效性和安全性.生物相容性包含两层含义,即血液相容性和组织相容性.血液相容性是指材料与血液直接接触后产生的相互作用,包括抗血小板血栓形成、抗凝血性、抗溶血性和抗白细胞减少性等.组织相容性是指材料与血液外的组织和器官接触产生的相互作用,包括细胞粘附性、无抑制细胞生长性(无细胞毒性)、细胞激活性、抗细胞原生质转化性、无抗原性、无致癌性、无致畸性等^[6].国内外研究人员在DLC生物相容性方面做了大量的工作,多为细胞毒性及血液相容性的有关研究。

2.1 DLC膜的细胞毒性研究

细胞毒性实验是一类在离体状态下模拟生物体生长环境,检测材料和器械接触机体组织后生物学反应的体外试验,已被列为生物材料生物安全性检

测的首选和必选项目,是生物学评价体系中最重要

的检测指标之一,具有简便、敏感性高、节省动物、节约经费、缩短生物材料研究周期等优点。

对DLC膜的细胞毒性研究始于20世纪90年代,研究人员先后采用了多种细胞对DLC膜的细胞毒性进行了研究.A.C.Evans等人^[7]的研究证明,含氢类金刚石薄膜对小鼠腹膜巨噬细胞及成纤维细胞无任何毒性作用.I.R.Mccoll等学者^[8]采用标准细胞株进行了类金刚石薄膜的体外细胞毒性实验,结果表明类金刚石薄膜不但对细胞无毒而且可以促进细胞的粘附与生长.T.J.Kinnari等人^[9]进行了人克隆结肠腺癌细胞(CACO-2细胞)在DLC膜上的细胞粘附实验,实验观察到CACO-2细胞在DLC表面粘附及分化得很好,说明DLC膜对CACO-2细胞无毒性.Salguereido等人^[10]进行人成骨肉瘤细胞(MG63细胞)在无氢DLC膜上的细胞粘附实验,研究发现粘附在无氢DLC膜上的MG63细胞数量较少,说明其引导MG63细胞粘附的能力较差,但是粘附在其上的细胞均展示出正常的细胞形貌.文献[11]采用小鼠原成骨细胞(MC3T-E1细胞)研究DLC的细胞相容性,结果表明DLC膜对MC3T-E1细胞的早期粘附行为及形貌没有影响.文献[12-13]研究了DLC对人脐静脉内皮细胞(HUVEC细胞)的影响,研究发现DLC膜对HUVEC细胞有很好的粘附性,对HUVEC细胞的增殖和其分泌一氧化氮、前列环素(PGI₂)的功能没有明显影响,材料对HUVEC细胞具有良好的细胞相容性,同时具有内皮化的可行性。

2.2 DLC膜的血液相容性研究

具有优良血液相容性的医用生物材料对血液或血液成分的功能和性质的影响在适当的范围内,主要表现在粘附血小板较少、不激活血小板、不发生血栓、不激活凝血系统、促进凝血时间缩短和无溶血作用,以及不对其他血液成分产生不利的影响.判断一种医用材料的血液相容性,通常是从其抗凝血能力及不损伤血液成分和功能两个方面来考虑.前者为材料表面抑制血管内血液形成血栓的能力,后者指材料对血液的溶血现象(红细胞破坏)、血小板数量减少、机能降低、血细胞暂时性减少及白细胞功能下降和补体激活等血液生理功能的影响.其中最受关注的是抗凝血性能,因若在材料表面有血栓形成(即发生凝血),而其具有累积效应,随时间的推移,凝血程度会越来越高,从而对人体造成严重的危害^[14].目

前,国际上常用的凝血试验包括部分凝血激活酶时间(PTT)、凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原、特异性凝血因子评价试验等,其中PTT试验已建立标准化试验方法^[15-16],蛋白吸附试验和血小板粘附实验也是评价材料抗凝血性能的常用方法^[14]。

近些年来,科研人员在DLC膜和掺杂的DLC膜的血液相容性方面做了大量的研究.Gutensohn等人^[17]在SU316L血管支架表面制备了DLC薄膜,经实验证实DLC薄膜可以降低不锈钢中Ni,Cr,Mn和Mo等金属离子在血液中的溶出,使SU316L的血液相容性提高.Sui等人^[18]对镀有DLC膜的NiTi合金进行了研究,结果表明DLC膜能显著提高NiTi合金的血液相容性及耐腐蚀性能.文献[12]通过体外凝血实验,对加入类金刚石材料的血浆进行PT,TT和APTT检测,结果显示其较正常血浆组未见明显延长,说明了类金刚石薄膜的体外血液相容性好.Kwok和Hasebe等人^[19-20]分别对磷掺杂DLC(P-DLC)膜和对氟掺杂DLC(F-DLC)膜的血液相容性进行了研究,结果显示磷元素和氟元素的加入有助于提高DLC膜血液相容性.文献[14]对在SU316L表面采用射频反应磁控溅射法制备的F-DLC薄膜进行了血液相容性研究.血小板粘附实验结果表明,F-DLC膜可以明显减少样品的血小板黏附量,改善血小板的变形程度;蛋白吸附实验结果表明,SU316L表面镀上F-DLC薄膜后,相应的白蛋白与纤维蛋白原的比值普遍高于未镀膜的SU316L表面上的相应值,说明镀上F-DLC薄膜可以改善样品的血液相容性.文献[21]通过在316L不锈钢基体与F-DLC之间制备一层SiC过渡层,并对SiC/F-DLC复合膜的血液相容性进行了研究.结果表明,相比于F-DLC薄膜,复合薄膜的附着力显著增加,血液相容性明显改善。

大量的体外实验研究结果均表明,DLC膜具有良好的血液相容性,掺杂或添加过渡层能进一步提高DLC膜的血液相容性.但是,对于DLC膜具有良好的血液相容性的原因,科研人员尚无一致的结论。

3 DLC膜在生物医用材料中的应用

基于DLC膜优异的物理化学性能和良好的生物相容性,人们期待利用DLC来改善生物医用材料表面性能,从而满足材料的临床使用要求.一种有效的方法是在生物医用材料表面制备DLC膜,使材料

表面获得优于基体材料或基体材料自身不具备的性能,如耐磨性能、摩擦性能、生物相容性等。

在口腔修复学领域中,DLC膜主要用于改善口腔修复材料的表面耐磨性能及抗菌性能.研究表明,在义齿人造牙表面制备50 nm厚的纳米DLC薄膜后,其耐磨性得到明显改善,几乎接近天然牙釉质^[22].在义齿金属材料钴铬合金及纯钛表面上制备纳米DLC膜后,可以显著降低变形链球菌、白色念珠菌及粘性放线菌的粘附数量,从而改善这两种义齿金属材料的细菌粘附性能^[23-24]。

在心血管介入治疗和心脏病治疗领域中,DLC膜主要被用来改善材料的血液相容性.一些公司如德国的血管支架制造公司Phytis L.D.A.已经将带有DLC膜的支架产品推向市场.Salahas等人^[25]对245位植入带有DLC涂层的Phytis支架的患者进行介入治疗后的临床观察及术后6个月随访,结果显示这种支架植入成功率高且安全、有效.Cardio Carbon Company Ltd开发出了带有DLC膜改性层的人工瓣膜,并且已经进入商业化。

在人工髋关节等承重植入体方面,DLC膜被用来改善基体材料的耐腐蚀性能和耐磨性能.关于超高分子量聚乙烯(UHMWPE)表面带有DLC膜的体外摩擦磨损研究已经有很多报道,如Anttila A.等人曾对带有DLC膜的人工髋关节进行体外模拟,结果表明其具有优异的耐腐蚀性能和耐磨性能^[26].但是那些证实DLC膜能改善承重植入体耐磨性能和耐腐蚀性能的体外研究,实验均是在销盘式摩擦磨损试验机或髋关节、膝关节模拟试验机上并以生理盐水或水为润滑液条件下进行的,而在实际载荷和含有血清的润滑液条件下进行的研究,结果显示DLC膜并没有明显改善基体材料的性能^[27].因此,DLC膜在承重植入体中的应用及其商业化方面仍需研究和探索。

DLC膜在高频手术刀中也有研究和应用.高频手术刀一般用不锈钢制造,在使用时会与肌肉粘连并在电加热作用下发出难闻的臭味,美国ART公司利用DLC表面能小、不湿润的特点,通过掺入网状结构的SiO₂,并掺入过渡金属元素以调节其导电性,生产出不粘肉的高频手术刀并推向市场,明显改善了医务人员的工作条件^[12].文献[28]对带有掺铜DLC(DLC-Cu)膜的电外科器具进行了动物实验研究,并与不带涂层的电外科器具进行对比,结果表明带涂

层的电外科器具造成的损伤面积和热损伤面积均小于不带涂层的器具。

4 结 语

虽然科研人员在生物医用材料的 DLC 膜改性方面做了大量积极而有意义的工作,但是真正推广到实际应用的 DLC 改性生物医用材料或器件还是少之又少。一个主要原因是绝大多数的研究都是体外研究,而体外模拟环境和真正的体内服役环境差异较大。因此,为使 DLC 膜获得更广泛的实际应用还需要大量体内研究数据来佐证。此外,如何提高 DLC 膜与基体间的结合力,过渡层的添加及元素掺杂对 DLC 膜性能的影响也需要进一步研究。总之,随着人们对 DLC 膜的深入了解,其将会在生物医用材料领域中获得更广泛的应用。

参考文献:

- [1] MONAGHAN D P, TEER D G, LOGAN P A, et al. Deposition of wear resistant coatings based on diamond like carbon by unbalanced magnetron sputtering [J]. *Surface & Coatings Technology*, 1993, 60(1-3): 525-530.
- [2] CHEN Z Y, YU Y H, ZHAO J P, et al. Electrical properties of nitrogen incorporated tetrahedral amorphous carbon films [J]. *Thin Solid Films*, 1999, 339(1-2): 74-77.
- [3] AHMED S F, MOON M W, LEE K R. Enhancement of electron field emission property with silver incorporation into diamond-like carbon matrix [J]. *Applied Physics Letters*, 2008, 92: 193502-1-193502-3.
- [4] HONGLERTKONGSAKUL K, PAOSAWATYANYONG B, MAY P W. Electrical and optical properties of diamond-like carbon films deposited by pulsed laser ablation [J]. *Diamond and Related Materials*, 2010, 19(7-9): 999-1002.
- [5] 刘声雷. DLC 膜化工设备防腐材料的研究 [J]. *安徽化工*, 1999(6): 32-33.
- [6] 俞耀庭, 张兴栋. 生物医用材料 [M]. 天津: 天津大学出版社, 2000: 14.
- [7] ANTILA A, LAPPALAINEN R, HEINONEN H, et al. Superiority of diamondlike carbon coating on articulating surfaces of artificial hip joints [J]. *New Diamond Front Carbon Technol*, 1999, 9(4): 283-288.
- [8] MCCOLL I R, GRANT D M, GREEN S M, et al. Low temperature plasma-assisted chemical vapour deposition of amorphous carbon films for biomedical-polymeric substrates [J]. *Diamond and Related Materials*, 1994, 3(1-2): 83-87.
- [9] KINNARI TJ, SOININEN A, ESTEBAN J, et al. Adhesion of staphylococcal and Caco-2 cells on diamond-like carbon polymer hybrid coating [J]. *J Biomed Mater Res*, 2008, 86(3): 760-768.
- [10] SALGUEIREDO E, VILA M, SILVA MA, et al. Biocompatibility evaluation of Si_3N_4 substrates for biomedical applications [J]. *Diam Relat Mater*, 2008, 17(4-5): 878-881.
- [11] MEUNIER C, STAUFFER Y, DAGLAR A, et al. Comparison of hydrogenated and unhydrogenated carbon films obtained by FCVA onto Ti6Al4V: structure, hardness and biocompatibility study [J]. *Surf Coat Technol*, 2006, 200(22-23): 6346-49.
- [12] 程怀兵. 类金刚石薄膜血液相容性研究及人脐静脉内皮细胞种植实验研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2008.
- [13] 孙明. 类金刚石薄膜与内皮细胞的相容性研究及其体内植入实验的初步评价 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2009.
- [14] 戴永丰. 氟化类金刚石膜血液相容性研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2011.
- [15] 由少华, 朱雪涛, 刘欣, 等. GB/T 14233.2-2005 医用输液、输血、注射器具检验方法: 生物学试验方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- [16] ASTM. Standard Test method for assessment of intravascular medical device materials on partial thromboplastin time (PTT) [S]. New York: ASTM International, 2004.
- [17] GUTENSOHN K, BEYTHIEN C, BAU J, et al. In vitro analyses of diamond-like carbon coated stents: reduction of metal ion release, platelet activation and thrombogenicity [J]. *Thrombosis Res*, 2000, 99 (6): 577-585.
- [18] SUI J H, GAO Z Y, CAI W, et al. DLC films fabricated by plasma immersion ion implantation and deposition on the NiTi alloys for improving their corrosion resistance and biocompatibility [J]. *Mater Sci Eng*, 2007, 454: 472-476.
- [19] KWOK S C H, WAN G J, HO J P Y, et al. Characteristics of phosphorus-doped diamond-like carbon films synthesized by plasma immersion ion implantation and deposition (PIII and D) [J]. *Surf Coat Technol*, 2007, 201(15): 6643-6646.
- [20] HASEBE T, ISHIMARU T, KAMIJO A, et al. Effects of surface roughness on anti-thrombogenicity of diamond-like carbon films [J]. *Diam Relat Mater*, 2007, 16 (4-7): 1343-1348.
- [21] 余清. SiC 过渡层制备温度对 SiC/F-DLC 复合薄膜血液相容性的影响 [D]. 苏州: 苏州大学, 2014.
- [22] 孙延, 姚月玲, 黎永钧, 等. 纳米非晶金刚石薄膜对树脂人工牙耐磨性及其影响因素的实验研究 [J]. *中国美容医学*, 2004, 13(1): 60-62.
- [23] CHEN Gang, WANG Zhongyi, WANG Hui, et al. Effects of

- tetrahedral amorphous carbon film deposited on dental cobalt-chromium alloys on bacterial adhesion[J]. Surface & Coatings Technology, 2012, 206(15): 3386–3392.
- [24] 陈钢. 纳米非晶金刚石薄膜在牙科钴铬合金及纯钛表面处理中的应用[D]. 西安: 第四军医大学, 2012.
- [25] SALAHAS A, VRAHATIS A, KARABINOS I, et al. Success, safety, and efficacy of implantation of diamond-like carbon-coated stents[J]. Angiology, 2007, 58(2): 203–210.
- [26] ANTILA A, LAPPALAINEN R, HEINONEN H, et al. Superiority of diamondlike carbon coating on articulating surfaces of artificial hip joints[J]. New Diamond Front Carbon Technol, 1999, 9(4): 283–88.
- [27] ALAKOSKI E, TIAINEN V, SOININEN A, et al. Load-bearing biomedical applications of diamond-like carbon coatings—Current status [J]. The open orthopaedics Journal, 2008(2): 43–59.
- [28] LIN L H, HSU Y J, CHIANG H J, et al. The application of minimally invasive devices with nanostructured surface functionalization: antisticking behavior on devices and liver tissue interface in rat [J/OL]. Journal of nanomaterials, 2015, 2015(2015). <http://dx.doi.org/10.1155/2015/357943>

Research progress of DLC films in biocompatibility and application in biomedical materials

XU Liping, LIN Songsheng

1. Guangdong General Research Institute of Industrial Technology, Guangzhou 510651, China; 2. National Engineering laboratory for Modern Materials Surface Engineering Technology, Guangzhou 510651, China; 3. Guangdong provincial key laboratory of modern surface engineering technology, Guangzhou 510651, China

Abstract: Research progress of DLC films in both biocompatibility and application in biomedical materials is reviewed in the paper. For the biocompatibility research, cytocompatibility and hemocompatibility of DLC films are mainly stated. For the application progress, the application of DLC films in oral restoration, cardiovascular intervention and heart disease, load-bearing implant like artificial hip joint and other field are expounded. Finally, the problems and trends in the development of DLC films are addressed.

Key words: diamond-like carbon films; biomedical materials; biocompatibility; surface modification