

仿生微纳结构抗菌表面研究进展

裴阳阳，宋青，李鹏

(西北工业大学 柔性电子研究院, 西安 710072)

摘要：介绍了天然抗菌微纳结构的特点及抗菌效果，从灵感来源、基底材料、构建方法、表面特性和结构、抗菌效率六个方面，总结了利用不同技术模拟蝉和蜻蜓的翅膀、蛾眼和壁虎皮肤微纳结构的仿生研究进展。阐述了材料表面微纳结构的形貌和粗糙度对抗菌效率的影响，发现具有多层次、间隔紧密、尖锐纳米柱结构的表面对革兰氏阳性和革兰氏阴性菌均表现出较强的抗菌活性。微纳结构抗菌表面与细菌相互作用，破坏细胞壁/膜，导致细菌死亡，该抗菌机制是物理机械性的，避免了细菌耐药性的产生。该综述为今后仿生微纳结构抗菌表面的发展提供了理论基础，并提出了未来的研究思路和发展方向。

关键词：抗菌表面；仿生材料；微纳结构表面；表面改性；细菌粘附；生物被膜；抗菌机理

中图分类号：TG174.4；R613 **文献标识码：**A **文章编号：**1001-3660(2019)07-0200-11

DOI：10.16490/j.cnki.issn.1001-3660.2019.07.022

Research Progress of Biomimetic Micro/Nano-structured Antibacterial Surfaces

PEI Yang-yang, SONG Qing, LI Peng

(Institute of Flexible Electronics, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China)

ABSTRACT: The preparation of materials with antimicrobial properties by surface modification technology is one of the research hotspots in the field of antimicrobial materials in recent years. This review briefly introduced the characteristics and antimicrobial effects of natural antimicrobial micro/nano-structure, and summarized the research progress of simulating micro/nano-structures of cicada and dragonfly wing, moth eyes, and gecko skin by using different techniques from the aspects of inspiration sources, substrate materials, fabrication methods, surface characteristics and structures, and antimicrobial efficiencies. The effect of surface morphology and roughness of micro/nanostructure on the antimicrobial efficiency was discussed. It was found that the surface structures with multi-layered, closely spaced, and sharp ended nanopillars had strong antimicrobial activities against both Gram-positive and Gram-negative bacteria. Recent studies showed that these natural antimicrobial surfaces interacted with bacteria and destroyed cell wall/membranes, resulting in bacterial death. The antibacterial mechanism of the micro/nano-structured surfaces is physico-mechanical, and therefore the surfaces prevent the occurrence of bacterial resistance. This review provided the theoretical basis for the future development of biomimetic micro/nano-structured antibacterial surfaces, and pointed out the future research directions in this promising field.

收稿日期：2018-11-15；修订日期：2019-04-08

Received: 2018-11-15; Revised: 2019-04-08

基金项目：国家重点研发计划（2018YFC1105402）；国家自然科学基金（面上项目 21875189，青年科学基金项目 21706222）

Fund: Supported by the National Key R&D Program of China (2018YFC1105402) and the National Natural Science Foundation of China (21875189, 21706222)

作者简介：裴阳阳（1992—），女，博士研究生，主要研究方向为生物材料表面工程。

Biography: PEI Yang-yang (1992—), Female, Ph. D. candidate, Research focus: biomaterial surface engineering.

通讯作者：李鹏（1983—），男，博士，教授，主要研究方向为抗菌高分子与材料表界面工程。邮箱：iampli@nwpu.edu.cn

Corresponding author: LI Peng (1983—), Male, Ph. D., Professor, Research focus: antimicrobial polymers and surface engineering. E-mail: iampli@nwpu.edu.cn

KEY WORDS: antibacterial surfaces; biomimetic materials; micro/nano-structured surfaces; surface modification; bacterial adhesion; biofilm; antibacterial mechanisms

微生物在材料表面粘附生长, 进而形成生物被膜 (biofilm), 该现象广泛存在于各种表面, 包括船舰水下部分、自来水管道、空调系统、食品加工设备以及医疗植入物等^[1-3]。生物被膜中细菌的代谢活动可以腐蚀金属管道、船体, 降低空调系统的能量交换效率, 造成高昂的经济损失; 在食品加工设备表面形成的生物被膜会引起人们食物中毒; 此外, 在医疗植入物表面形成的生物被膜容易导致植入物相关感染^[4]、植入物排斥, 严重时甚至可以导致患者死亡^[5-7]。为了解决这些问题, 被生物被膜附着的植入物不得不被移除或替换, 这些额外的手术不仅为患者带来了身体上的痛苦, 同时还伴随着经济上的负担, 以及医疗资源的浪费。因此, 有效抑制细菌生物被膜的形成, 在减少由生物被膜引起的工业经济损失、降低食物中毒和医疗植入物感染风险方面具有重要的意义。

当细菌聚集在一起, 形成附着于固体表面并包裹在胞外多糖基质中的群落时, 即形成了生物被膜。其发展过程分为细菌的初始可逆粘附、不可逆粘附以及生物被膜生长期、成熟期及散播期^[8]。细菌生物被膜的形成是其适应生存环境的一种机制, 生物被膜的结构及其内部菌落的复杂调控是细菌适应环境多样化以及抵抗抑菌药物而得以生存的重要原因^[9-10]。生物被膜一旦形成, 就难以根除, 并且容易造成严重后果。近几十年来, 生物被膜的去除已经成为一项全球性的研究挑战^[11]。游离菌体在材料表面发生初始粘附是形成生物被膜的必要条件, 为了防止材料表面生物被膜的形成, 首先考虑的方法是防止细菌的初始粘附。

为了减少和消除细菌在材料表面的初始粘附以及生物被膜的形成, 多种表面改性技术已用于构建具有抗菌功能的表面。这些制备方法可以分为两类: 一种是表面通过化学改性, 即通过高分子聚合^[12-14]、表面官能化及衍生化^[15-16]、涂覆具有杀菌功能的涂层 (如抗生素、金属纳米粒子)^[17-18]等方法, 得到具有抗菌效果的材料表面; 另外一种是通过物理方法改变表面形貌结构来达到抗菌效果^[19-20]。尽管经两种方法改性的表面都显示出相应的抗菌效果, 但是化学方法有其显著的缺点, 譬如, 将抗生素载入表面可导致细菌耐药性的产生^[21-22]。

经过数十亿年的进化, 自然界中的生物拥有近乎完美的表面微纳结构和功能^[23], 譬如可保持表面清洁的鲨鱼皮肤^[24-25]、“出淤泥而不染”的荷叶^[26]等。其中一些具有微纳结构的生物表面有天然的抗菌功能, 例如蝉和蜻蜓的翅膀^[27]、蛾眼^[28]和壁虎皮肤^[29]等, 可以有效抵御病原菌的侵袭。这些天然微纳结构为构建抗菌功能表面提供了完美的仿生模板^[30]。模拟天然生物抗菌微纳结构, 利用人工方法制备的抗菌表面,

通过其表面微纳结构抑制细菌在表面的初始粘附或杀灭细菌, 为防止生物被膜的形成提供了一种安全、可靠的方案。基于此, 文中概述了自然界中一些典型的具有抗菌功能的天然生物表面 (蝉/蜻蜓翅膀、蛾眼和壁虎皮肤), 并综述了人工制备仿生微纳结构抗菌表面的研究进展, 总结了这类表面的抗菌机理和影响因素, 对进一步合理设计仿生微纳结构抗菌表面提出了展望和建议。

1 具有抗菌功能的天然微纳结构

自然界中一些生物表面具有独特的精细微纳结构, 使其具有特定的功能, 如自清洁性^[31]、超疏水性^[32]、抗污性^[5]以及抗菌性^[33-34]等。具有这些功能的天然生物表面包括昆虫翅膀 (蝉/蜻蜓翅膀)、蛾眼以及壁虎皮肤等, 下面分别进行简要介绍。

蝉生活在多种复杂环境中, 为了适应不同的环境, 翅膀拥有独特的纳米锥结构, 使其具有良好的抗菌特性^[35]。Tobin 等^[36]对 15 种蝉翅表面纳米结构进行了研究, 发现其表面纳米锥结构的直径范围为 82~148 nm, 锥间距范围为 44~177 nm, 高度范围为 146~159 nm。Ivanova 等在 2012 年报道了蝉 (*Psaltoda claripennis*) 翅表面纳米结构对革兰氏阴性菌铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 具有杀灭作用 (见图 1)。扫描电镜结果显示, 蝉翅表面纳米锥高度为 200 nm, 顶部和底部直径分别为 60 nm 和 100 nm, 锥间距为 170 nm。当细菌接触蝉翅表面的纳米锥时, 其形态发生快速变化, 大部分细菌在 5 min 之内被杀灭。细菌通常不易在超疏水性表面粘附, 但是该实验中, 细菌仍附着在具有超疏水性的蝉翅表面 (水接触角为 158.8°)。由此可知, 蝉翅的抗菌作用并不是因为超疏水性引起的低细菌粘附性, 而是通过纳米锥与细菌接触将其杀死。图 1c、d 中的扫描电镜结果显示, 纳米锥插入蝉翅表面的铜绿假单胞菌, 导致细菌死亡^[37]。现有研究结果证实, 蝉翅可以有效地杀死多种革兰氏阴性菌 (譬如大肠杆菌、荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 和铜绿假单胞菌等), 但是对革兰氏阳性菌 (譬如枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 和金黄色葡萄球菌等) 的杀伤力相对较弱。与革兰氏阴性菌相比, 蝉翅表面上革兰氏阳性菌的细胞形态没有发生变化, 通过细菌活性分析, 发现这些细菌均是存活状态^[38]。

与蝉翅类似, 蜻蜓 (*Diplacodes bipunctata*) 翅膀表面显示出清晰的纳米团簇结构 (见图 2), 即直径在 90 nm 以下的纳米柱形成 S 形群体分布的纳米簇结构, 其空间分布间距在 200~1800 nm 之间, 且分布随

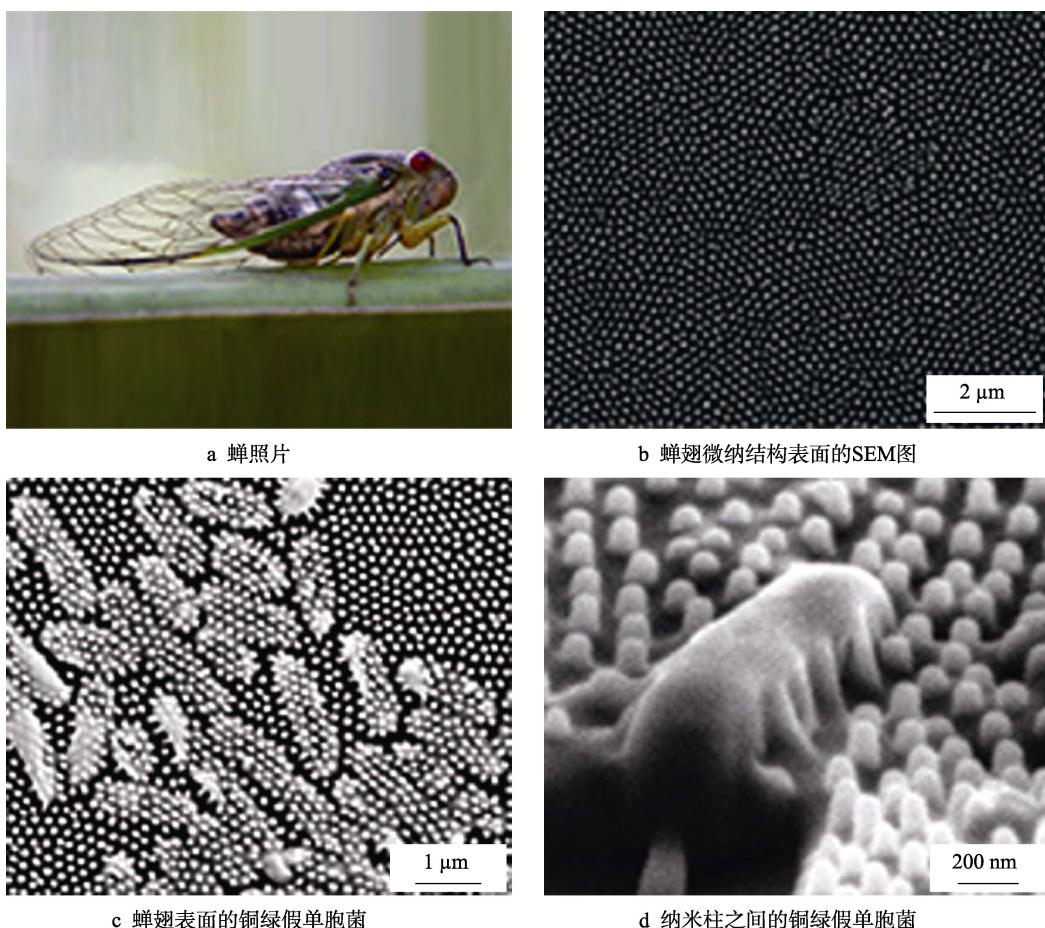


图1 蝉翅微纳结构表面SEM图及其上面的细菌

Fig.1 SEM images of the surface micro/nano-structure of the cicada wing and the bacteria:

- a) Photograph of a cicada;
- b) SEM images of the micro/nano-structure of the cicada wing;
- c) *P. aeruginosa* on the surface of a cicada wing;
- d) *P. aeruginosa* cell sinking between the nanopillars

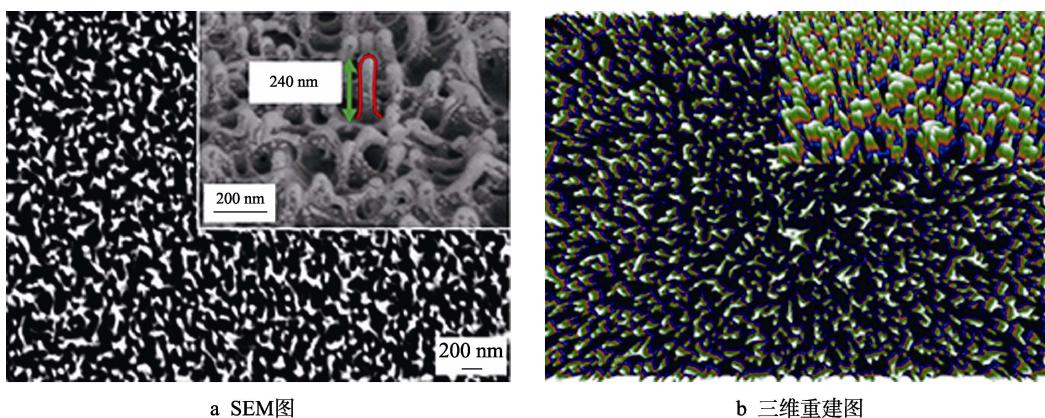


图2 蜻蜓翅膀的SEM图和三维重建图

Fig.2 SEM images and three-dimensional reconstruction images of the dragonfly wing:
a) SEM images; b) Three-dimensional reconstruction images

机。研究表明，蜻蜓翅膀表面纳米簇在3 h之内杀灭革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的效率分别为 $4.6 \times 10^5 \text{ cells}/(\text{cm}^2 \cdot \text{min})$ 和 $1.4 \times 10^5 \text{ cells}/(\text{cm}^2 \cdot \text{min})$ ，杀灭革兰氏阴性菌铜绿假单胞菌的效率为 $3.0 \times 10^5 \text{ cells}/(\text{cm}^2 \cdot \text{min})$ 。这表明蜻蜓翅膀不仅可以杀死革兰氏阴性菌，而且对革兰氏阳性菌也具有抗菌效果^[39]，而蝉翅

仅对革兰氏阴性菌具有抗菌效果。

蛾眼具有多种功能，不仅具有低反射率、抗污、防雾等性能^[40]，还有抗菌性能^[41]。Minoura等的研究表明，具有纳米柱结构的蛾眼（见图3）对革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌和革兰氏阴性菌大肠杆菌均具有抗菌效果。通过薄膜覆盖法（JIS Z2801方法）测

定的蛾眼抗菌结果表明, 蛾眼与菌落数量浓度为 1×10^6 cfu/mL 的金黄色葡萄球菌孵育 24 h 后, 细菌全部被杀灭, 与初始菌落数量浓度为 2.5×10^5 cfu/mL 的大肠杆菌孵育 24 h 后, 存活的细菌浓度为 2.5×10^4

cfu/mL, 说明蛾眼对革兰氏阳性菌的抗菌效果明显优于革兰氏阴性菌。该结果与蜻蜓翅膀的抗菌效果不一致, 可能源于蛾眼表面的纳米结构和化学物质产生的协同抗菌作用^[28]。

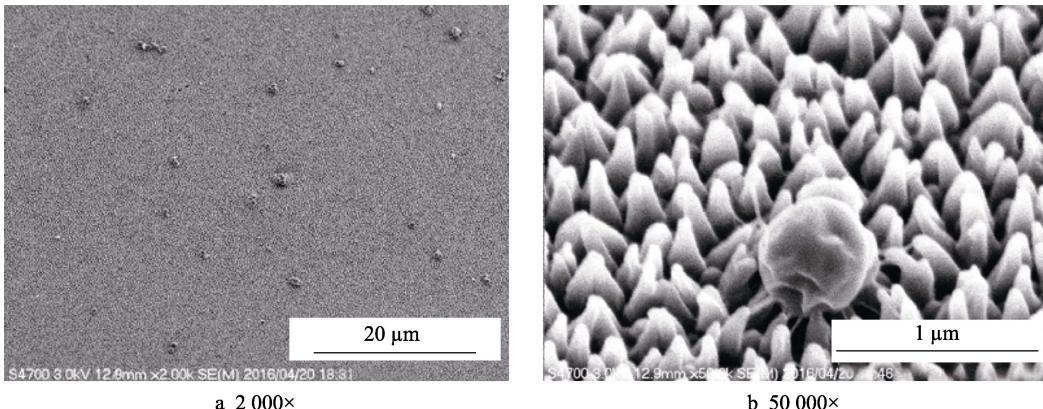


图 3 蛾眼及其表面粘附细菌的 SEM 图
Fig.3 SEM images of moth eye and bacterial adhesion on the surface

壁虎皮肤的超疏水性和独特的小刺结构, 也使其具有抗菌功能。壁虎皮肤表面的小刺与蝉翅表面纳米锥结构具有相似的尺度, 但壁虎皮肤小刺的间距明显大于蝉翅纳米锥的间距, 约为蝉翅纳米锥间距的 2 倍。小刺可弯曲, 具有弹性和柔韧性。Watson 等^[29]的研究表明, 壁虎皮肤对革兰氏阴性菌牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*) 是致命的。当细菌与壁虎皮肤接触时, 细菌细胞壁会被壁虎皮肤的小刺拉伸, 并发生破裂。目前, 皮肤表面小刺的尺寸因素和化学性质是构建壁虎皮肤仿生表面的主要研究方向。

综上可知, 具有抗菌功能的生物表面呈现出规则或者有序起伏的微纳结构, 具有不同的高度和密度, 尺寸范围从几十纳米到几百纳米不等。抗菌生物材料表面的微纳结构对革兰氏阴性菌普遍具有高效的杀灭性能, 但是对于革兰氏阳性菌的抗菌效果较差^[37], 或者大多数实验不涉及对革兰氏阳性菌的测试。造成这种抗菌效果差异的原因可能是因为二者的细胞壁结构不同, 革兰氏阳性菌细胞壁肽聚糖层通常比革兰氏阴性菌厚 4~5 倍^[42-43]。因此, 相对于革兰氏阴性菌来说, 阳性菌更厚的细胞壁抵抗微纳结构表面对其破坏的能力更强, 这为未来仿生微纳结构抗菌表面的构建提出了挑战。

自然界中具有抗菌功能的微纳结构表面为构建人工抗菌表面提供了灵感, 这些表面微纳结构是由进化决定的。一旦对其有了充分的了解, 就可以选择合适的方法来模拟这些表面微纳结构, 使人工构建的抗菌表面具有相当甚至超过天然生物表面的抗菌效果。

2 仿生微纳结构抗菌表面

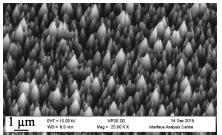
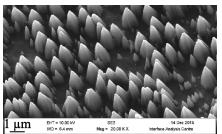
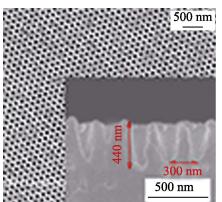
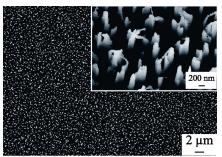
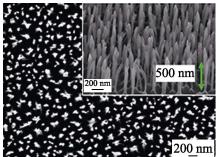
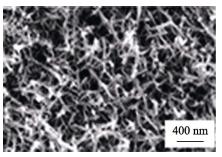
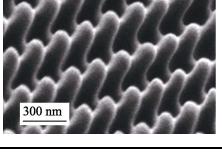
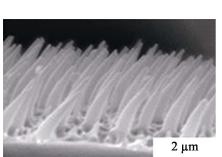
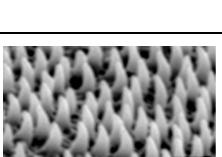
生物微纳结构抗菌表面启发了一系列仿生抗菌

表面的制备。人们利用仿生学手段, 对蝉和蜻蜓翅膀、蛾眼及壁虎皮肤的微纳结构进行模拟, 构建出了多种具有良好抗菌性能的微纳结构表面。

构建抗菌表面基底材料的选择取决于材料所具有的功能和性质, 包括生物相容性、化学惰性、毒性、疲劳强度、耐磨性和耐腐蚀性等^[44]。钛及钛合金是常用的手术级植入材料^[45-46], 与传统的钛表面相比, 有纳米管状的钛表面具有更好的抗菌性能^[47]。其他构建抗菌表面的基底材料包括石墨烯^[48]、金刚石^[49]、黑硅^[50-51]和一系列聚合物, 例如聚甲基丙烯酸甲酯^[52]、聚丙烯酸酯^[24]、聚苯乙烯^[53]等。各种表面微纳结构加工技术已被用于制备不同的抗菌材料, 包括反应离子束蚀刻^[49]、等离子体蚀刻^[50]、微波等离子体化学气相沉积^[49]、纳米压印光刻^[52]和生物模板法^[53]等。通过比较不同的制造技术在成本、工艺复杂性、精确性等方面的优势, 选择合适的方法, 模拟自然界中具有抗菌功能的微纳结构表面, 已构建出一系列具有良好抗菌性能的仿生表面。表 1 从灵感来源、基底材料、构建方法、表面特性和结构、抗菌效率等 6 个方面对目前仿生抗菌表面的制备及结构进行了总结, 突出了仿生表面结构特征及其抗菌活性。

由表 1 可以看出, 与天然生物抗菌表面相比, 以蝉和蜻蜓翅膀、蛾眼和壁虎皮肤为模板的仿生抗菌表面具有相似的微纳结构。各种仿生材料的表面特征虽然不同, 但是都具有精细的微纳结构, 如纳米柱、纳米锥、纳米刺等, 高度从几百纳米到几微米不等。抗菌实验表明, 仿生材料表面对革兰氏阴性菌都具有抗菌效果, 某些表面对革兰氏阳性菌也具有抗菌效果, 这可能与表面微纳结构的密度、尺寸、形状以及微生物的细胞壁结构有关。

表1 仿生微纳结构抗菌表面研究进展
Tab.1 Progress of biomimetic micro/nano-structured antibacterial surfaces

Inspirations	Substrate materials	Fabrication methods	Surface features	Surface structures	Antibacterial efficacies	
					Gram-positive bacteria	Gram-negative bacteria
Diamond ^[49]	Diamond ^[49]	Bias-assisted reactive ion etching	Nanocone Height 800~2.5 μm; Diameter 350~750 nm; Tip diameter 10~40 nm		—	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Cicada wing	Diamond ^[49]	Bias-assisted reactive ion etching	Nanocone Height 100 nm or 3~5 μm; Diameter 100 nm~1.2 μm; Tip diameter 10~40 nm		—	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Poly(methyl methacrylate) ^[52,54]	Nanopatterning process		Nanopillars Height 460 nm; Diameter 300 nm; Water contact angle 114.5±2°		—	<i>Pseudomonas aeruginosa; Escherichia coli</i>
Silicon ^[55]	Deep reactive ion etching		Nanopillars Height 4 μm; Diameter 220 nm; Water contact angle 154°		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Dragonfly wing	Black-silicon ^[39]	Reactive ion etching	Nanopillars Diameter 20~80 nm; Water contact angle 80°		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Titanium ^[56]	Hydrothermal etching process		Nanowires Diameter 40.2 nm; Water contact angle 73°; Roughness 401.4 nm		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Moth eye	Poly(methylmethacrylate) ^[57]	Nanopatterning process	Nanocone Height 350 nm; Tip diameter 80 nm; Spacing 250 nm		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa; Escherichia coli</i>
Gecko skin	Poly(styrene) ^[53]	Benchtop biotemplating method	Spinules Density 8/μm ² ; Spacing 600 nm~1 μm; Base diameter 350~400 nm; Tip diameter 50~80 nm		<i>Lactobacillus casei; Lactobacillus rhamnosus; Lactobacillus acidophilus; Lactobacillus salivarius; Lactobacillus plantarum; Bifidobacterium longum</i>	
	Poly(acrylic) ^[58]	Two-step templating process	Spinules Spacing~500 nm; Water contact angle 108°±4°		<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>

3 影响表面微纳结构抗菌性能的因素

生物被膜形成的第一阶段是细菌可逆粘附于固体表面, 这主要是由细菌的布朗运动, 以及细菌与表面的相互作用力(包括静电、重力、范德华力和材料的亲疏水性能等)所介导的。此外, 表面的粗糙度^[59-64]和形貌^[65-67]在细菌可逆粘附中也起了关键作用。通过对这些因素的研究, 可以更好地了解天然及仿生微纳结构表面的抗菌机制。

粗糙度是表面微纳结构高度变化的量度^[68]。最初, 人们对金属表面粗糙度和细菌附着能力之间的关系进行了大量研究^[5,69], 发现超光滑表面会抑制细菌的粘附, 而表面粗糙度大的基底会促进生物被膜的形成^[70-71]。Kelleher 等^[62]研究了三种蝉翅对革兰氏阴性菌荧光假单胞菌的抗菌活性, 发现随着纳米柱高度、直径和间距的减小, 形成的纳米柱更短、更尖锐、更密集, 表面粗糙度因子为 6.46 的蝉翅表面比粗糙度因子为 3.4 的表面杀菌活性更强。Wu 等^[72]比较了具

有相似直径但不同密度的纳米柱抗菌效果: 在表面构建直径为 80 nm 的纳米柱(约为金黄色葡萄球菌直径的 1/10), 当表面平均柱密度约为 40 柱/ μm^2 , 粗糙度为 39.1 nm 时, 纳米柱对金黄色葡萄球菌具有最高的抗菌效率, 几乎达到 100%; 当纳米柱密度约为 70 柱/ μm^2 的高密度或小于 20 柱/ μm^2 的低密度时, 其表面粗糙度小于 20 nm, 几乎没有抗菌效果。该研究结果与 May 等先前研究的纳米柱抗菌结果形成了鲜明对比, May 等发现排列较密集的纳米柱能更有效地杀死与表面接触的细菌^[50]。以上研究表明, 通过改变表面纳米结构的分布密度、直径以及高度能够适当地改变表面粗糙度, 可以提高抗菌效率。

Wu 等^[73]利用电沉积法制备了三种不同形貌的表面金纳米结构(见图 4), 并且研究了这三种微纳结构的抗菌效果。表 2 总结了三种微纳结构的特征及抗菌性能, 不同形貌的金纳米结构均对金黄色葡萄球菌具有抗菌功能, 且抗菌率差别不大, 均可达 99% 以上。

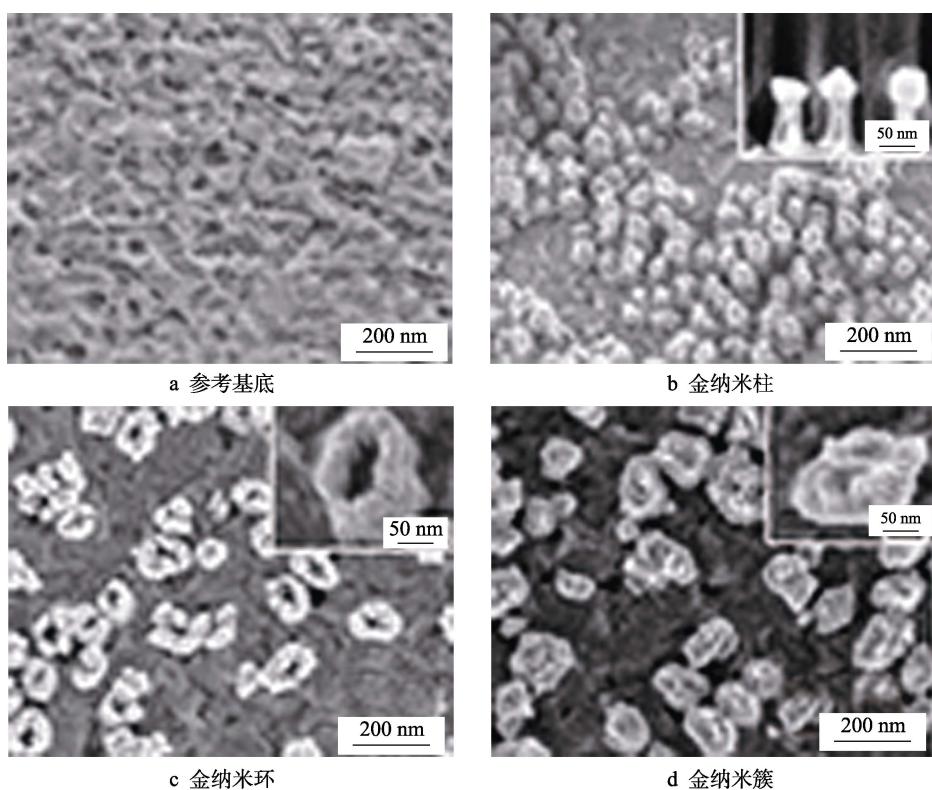


图 4 各种金纳米结构的 SEM 图

Fig.4 SEM images of various Au nanostructures: a) Control surface; b) Au nanopillars; c) Au nanorings; d) Au nanocluster

表 2 不同金纳米结构表面特征及抗菌效果

Tab.2 Surface characteristics and antibacterial efficacies of different Au nanostructures

	Diameter/nm	Height/nm	Density/ μm^{-2}	Surface coverage/%	Antibacterial performance/%
Control surface	—	<20	—	—	0
Au nanopillars	~50	~100	~100	~50	>99
Au nanorings	100-200	~100	~30	~50	>99
Au nanocluster	100-200	~100	~30	~50	>99

自然界中的蜻蜓种类繁多，其翅膀表面的微纳结构也不尽相同。Mainwaring 等通过对三种蜻蜓 (*Hemianax papuensis*, *Austroaeschna multipunctata*, *Diplacodes bipunctata*) 翅膀与细菌之间相互作用的研究，发现三种蜻蜓翅膀对铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌及其孢子均具有杀灭作用。扫描电镜结果显示，粘附在三种蜻蜓翅膀表面的革兰氏阴性菌铜绿假单胞菌均发生了明显的形变，但是粘附在蜻蜓 *H. papuensis* 和 *A. multipunctata* 翅膀的革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌及其孢子的变形程度远不如其在蜻蜓 *D. bipunctata* 翅膀上的形变。说明蜻蜓 *D. bipunctata* 翅膀的抗菌效果强于其他两种蜻蜓翅膀，这与其表面疏水角相关 (*D. bipunctata* (151.7°) < *A. multipunctata* (157.5°) < *H. papuensis* (161.8°))。*D. bipunctata* 翅膀表面对细菌的吸附能力较强，使其吞陷细菌的能力约高于其他两种蜻蜓翅膀 25%~30%。综上所述，三种蜻蜓翅膀表面不同的微纳结构使其抗菌效果存在差异^[39,74]。

4 抗菌表面微纳结构与细菌的作用机制

抗菌表面微纳结构与细菌的作用机制将为仿生抗菌表面的构建提供理论依据。为了研究蝉翅与细菌之间的相互作用，Ivanova 等将 10 nm 厚的金层涂覆在蝉翅表面，从而改变蝉翅表面的化学特性和疏水性，但是保留其天然具有的纳米锥结构。结果显示，镀金后，蝉翅的抗菌活性没有改变，说明其抗菌机制是物理性的^[37]。Pogodin 等^[75-76]提出一个生物物理模型来解释蝉翅表面纳米锥结构和细菌之间的相互作用：细菌与蝉翅表面接触时分为两个区域，与纳米柱直接接触的区域和悬挂在纳米柱之间的区域。当细菌

粘附在纳米柱上时，悬挂在柱子之间的部分由于拉伸作用而破裂，并且最终塌陷在微纳结构表面上（见图 5）。Li^[60]的研究表明，与平滑表面相比，微纳结构表面的抗菌功能主要由于细菌在其表面粘附面积的增加，增强了细胞膜的拉伸应变，当拉伸足够时，细菌破裂死亡。Xue 等^[77]在细菌和材料表面微纳结构相互作用的基础上，提出了一种弹性力学模型，并利用该模型解释了拉伸作用导致的细菌破裂，发现对于特定的细菌细胞刚性，材料表面的抗菌性能由表面微纳结构的几何参数决定。此外，重力以及诸如范德华力的非特异性力在细菌细胞壁破裂中也起到了一定的作用。Bandara 等^[27]研究了蜻蜓翅膀与大肠杆菌的相互作用，结果表明：大肠杆菌细胞膜的损伤是由纳米柱和细菌细胞外聚合物 (Extracellular Polymeric Substances, EPS) 之间的强粘附力以及粘附的细菌试图在蜻蜓翅膀表面移动时产生的剪切力引发的（见图 6）。

抗菌材料微纳结构的发展需要人们进一步了解微米和纳米尺度上材料表面结构与细菌的相互作用。目前普遍认为，表面微纳结构造成细菌死亡的机制本质上是物理机械性的。最初，该过程被简化为：细菌与纳米柱接触时，悬挂在纳米柱之间的细胞部分由于拉伸作用发生破裂，导致细菌死亡^[60]。之后的研究表明：表面微纳结构的抗菌机制是，在细菌粘附过程中，细菌通过 EPS 产生的粘附力附着在表面，当细菌试图逃离不利表面时，产生的剪切力导致细胞膜拉伸变形，最终细菌破裂死亡。目前，微纳结构表面抗菌机制的差异，很大程度上归因于表面微纳结构特征的不同，以及微生物复杂的适应性，这造成了微纳结构表面和细菌相互作用的各种可能性。对天然生物微纳结构抗菌表面抗菌机制的研究将有助于模拟构建具有抗菌功能的人造微纳结构表面。

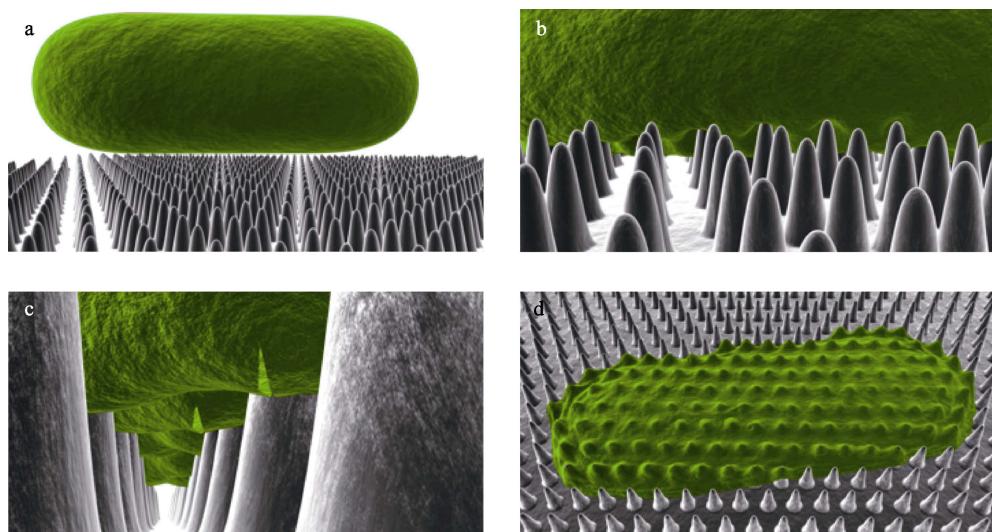


图 5 蝉翅纳米柱与细菌之间相互作用的三维模拟

Fig.5 Three-dimensional representation of the modeled interactions between cicada wing nanopillars and bacteria

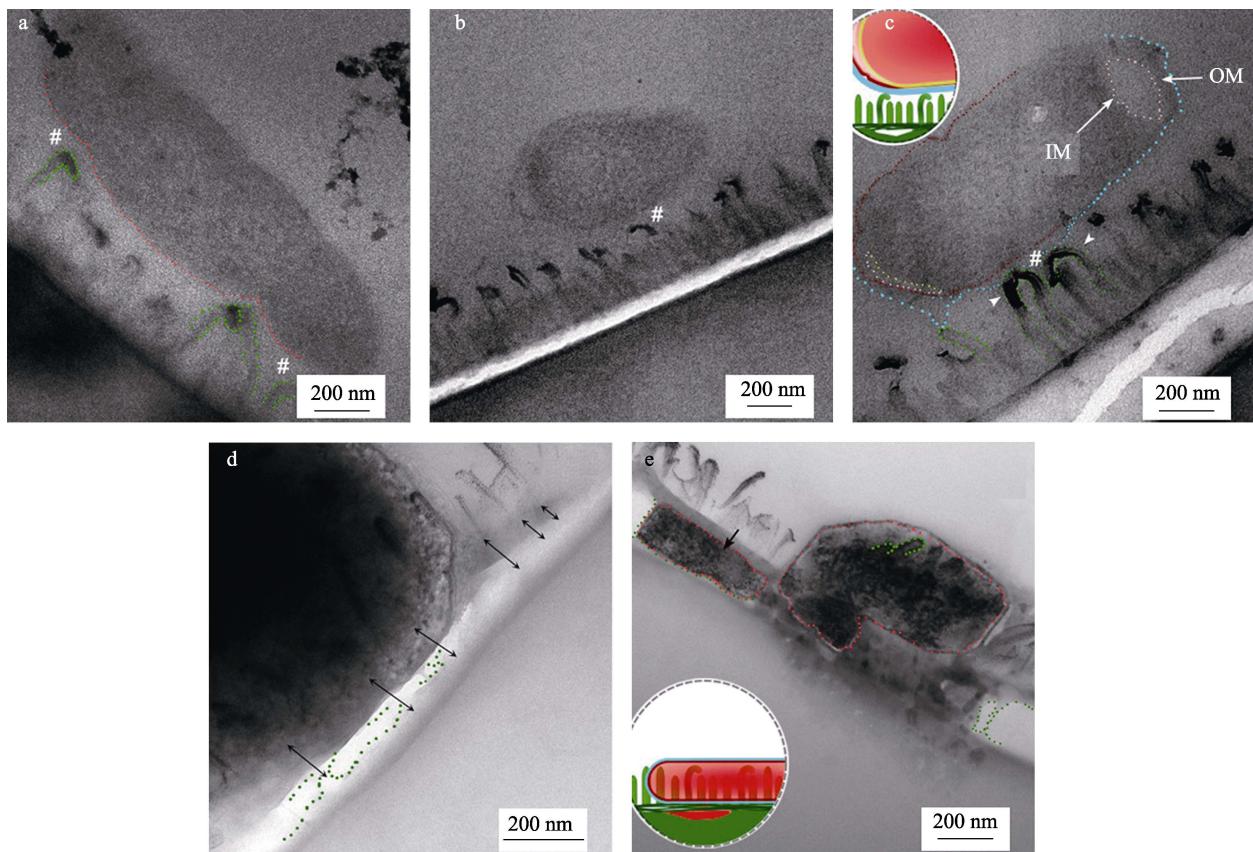


图 6 界面处细菌-纳米柱相互作用的 TEM 图
Fig.6 TEM micrographs of bacteria-nanopillars interaction at the interface

5 结论与展望

自然界中具有抗菌效果的微纳结构赋予了表面抗菌功能，为人工构建功能性抗菌表面提供了极好的模板。同时，通过对天然生物表面微纳结构抗菌机制的研究，为新型抗菌材料的研发提供了新的思路。人们采用不同的制备方法，在各种基材表面构建出与天然生物表面（如蝉/蜻蜓翅膀、蛾眼、壁虎皮肤等）相似的微纳结构，并且发现这类生物表面的抗菌机制主要是由其表面微纳结构的物理机械性质决定的，因而细菌不会产生耐药性。

研究发现，抗菌表面的形貌和粗糙度对微纳结构的抗菌效果具有显著的影响。通过对已有研究的比较发现：抗菌表面通常由直径为 50~250 nm、高度为 100 nm~4 μm 的微纳结构（如纳米柱、纳米锥、纳米刺等）组成，其中具有多层次、间隔紧密、尖锐纳米柱结构的表面对革兰氏阳性和革兰氏阴性菌均具有较强的抗菌活性^[50,52,78]。微纳结构抗菌表面与细菌相互作用是物理机械性的，目前主要有两种解释理论。总之，对微纳结构表面抗菌影响因素以及抗菌机制的研究，使人们对表面微纳结构有了更深入的了解，为构建性能优良的抗菌表面提供了理论基础，从而更好地模拟天然生物抗菌表面。

目前，已知的生物抗菌表面或者人工制备的抗菌

表面对革兰氏阴性和阳性菌在短时间内均显示出一定的抗菌效果，然而其广谱性和长效性都有待验证和提高。现阶段，设计仿生微纳结构抗菌表面的主要思路是基于对生物抗菌表面微纳结构的简化，通过利用各种表面加工技术在微米或纳米尺度上模拟自然界中具有抗菌功能的微纳结构表面。为了重现这些精细结构，如何优化表面的物理和化学性能，以提高抗菌效率，是构建人工抗菌表面所面临的挑战之一。此外，仿生微纳结构抗菌表面的设计和制备还处于实验室阶段，为了大规模使用，开发高效、廉价、可大批量生产的制备技术变得尤为重要。综上所述，如何在模拟生物抗菌表面上，创造出性能更加优越并且可大规模廉价生产的仿生微纳结构抗菌表面是该领域科研工作者面临的挑战：在模拟自然的基础上，超越自然！

参考文献：

- [1] FLEMMING H C, WINGENDER J, SZEWZYK U, et al. Biofilms: An emergent form of bacterial life[J]. *Nature reviews microbiology*, 2016, 14(9): 563-575.
- [2] O'TOOLE G, KAPLAN H B, KOLTER R. Biofilm formation as microbial development[J]. *Annual review of microbiology*, 2000, 54(1): 49-79.

- [3] GIL C, SOLANO C, BURGUI S, et al. Biofilm matrix exoproteins induce a protective immune response against *Staphylococcus aureus* biofilm infection[J]. *Infection and immunity*, 2014, 82(3): 1017-1029.
- [4] TENKE P, KOVACS B, JÄCKEL M, et al. The role of biofilm infection in urology[J]. *World journal of urology*, 2006, 24(1): 13-20.
- [5] HASAN J, CRAWFORD R J, IVANOVA E P. Antibacterial surfaces: The quest for a new generation of biomaterials[J]. *Trends in biotechnology*, 2013, 31(5): 295-304.
- [6] ISTA L K, QIAN Y, PARTHASARATHY A, et al. Reusable nanoengineered surfaces for bacterial recruitment and decontamination[J]. *Biointerphases*, 2016, 11(1): 19-21.
- [7] GILLETT A, WAUGH D, LAWRENCE J, et al. Laser surface modification for the prevention of biofouling by infection causing *Escherichia coli*[J]. *Journal of laser applications*, 2016, 28(2): 225-228.
- [8] MAH T F, O'TOOLE G A. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents[J]. *Trends in microbiology*, 2001, 9(1): 34-39.
- [9] LANDINI P, ANTONIANI D, BURGESS J G, et al. Molecular mechanisms of compounds affecting bacterial biofilm formation and dispersal[J]. *Applied microbiology & biotechnology*, 2010, 86(3): 813-823.
- [10] FERRARIS S, SPRIANO S. Antibacterial titanium surfaces for medical implants[J]. *Materials science & engineering C*, 2016, 61: 965-978.
- [11] BUSH K, COURVALIN P, DANTAS G, et al. Tackling antibiotic resistance[J]. *Nature reviews microbiology*, 2011, 9(12): 894-896.
- [12] GAO Q, LI P, ZHAO H, et al. Methacrylate-ended poly-peptides and polypeptoids for antimicrobial and antifouling coatings[J]. *Polymer chemistry*, 2017, 8(41): 6386-6397.
- [13] YE Y, SONG Q, MAO Y. Solventless hybrid grafting of antimicrobial polymers for self-sterilizing surfaces[J]. *Journal of materials chemistry*, 2011, 21(35): 13188-13194.
- [14] YE Y, SONG Q, MAO Y. Single-step fabrication of non-leaching antibacterial surfaces using vapor crosslinking[J]. *Journal of materials chemistry*, 2010, 21(1): 257-262.
- [15] TIRAFERRI A, VECITIS C D, ELIMELECH M, et al. Covalent binding of single-walled carbon nanotubes to polyamide membranes for antimicrobial surface properties[J]. *ACS applied materials & interfaces*, 2011, 3(8): 2869-2877.
- [16] FIK C P, KRUMM C, MUENNIG C, et al. Impact of functional satellite groups on the antimicrobial activity and hemocompatibility of telechelic poly(2-methoxyazoline)s[J]. *Biomacromolecules*, 2012, 13(1): 165-172.
- [17] CAMPOCCIA D, MONTANARO L, ARCIOLA C R. A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(34): 8533-8554.
- [18] SU Y, ZHI Z, GAO Q, et al. Autoclaving-derived surface coating with in vitro and in vivo antimicrobial and anti-biofilm efficacies[J]. *Advanced healthcare materials*, 2017, 6(6): 1601173.
- [19] RIZZELLO L, CINGOLANI R, POMPA P P. Nanotechnology tools for antibacterial materials[J]. *Nanomedicine*, 2013, 8(5): 807-821.
- [20] GRAHAM M V, CADY N C. Nano and microscale topographies for the prevention of bacterial surface fouling[J]. *Coatings*, 2014, 4(1): 37-59.
- [21] TRIPATHY A, SEN P, SU B, et al. Natural and bioinspired nanostructured bactericidal surfaces[J]. *Advances in colloid and interface science*, 2017, 248: 85-104.
- [22] LEVY S B, MARSHALL B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses[J]. *Nature medicine*, 2004, 10(Suppl): 122-129.
- [23] SANCHEZ C, ARRIBART H, GUILLE M M. Biomimetic and bioinspiration as tools for the design of innovative materials and systems[J]. *Nature materials*, 2005, 4(4): 277-288.
- [24] SAKAMOTO A, TERUI Y, HORIE C, et al. Antibacterial effects of protruding and recessed shark skin micropatterned surfaces of polyacrylate plate with a shallow groove[J]. *Fems microbiology letters*, 2015, 361(1): 10-16.
- [25] MANN E E, MANNA D, METTETAL M R, et al. Surface micropattern limits bacterial contamination[J]. *Antimicrob resist infect control*, 2014, 3(1): 28.
- [26] YANG H, YOU W, SHEN Q, et al. Preparation of lotus-leaf-like antibacterial film based on mesoporous silica microcapsule-supported Ag nanoparticles[J]. *RSC advances*, 2013, 4(6): 2793-2796.
- [27] BANDARA C D, SINGH S, AFARA I O, et al. Bactericidal effects of natural nanotopography of dragonfly wing on *Escherichia coli*[J]. *ACS applied materials & interfaces*, 2017, 9(8): 6746-6760.
- [28] MINOURA K, YAMADA M, MIZOGUCHI T, et al. Antibacterial effects of the artificial surface of nanoimprinted moth-eye film[J]. *Plos one*, 2017, 12(9): e0185366.
- [29] WATSON G S, GREEN D W, SCHWARZKOPF L, et al. A gecko skin micro/nano structure—A low adhesion, superhydrophobic, anti-wetting, self-cleaning, biocompatible, antibacterial surface[J]. *Acta biomaterialia*, 2015, 21: 109-122.
- [30] FULLENKAMP D E, RIVERA J G, GONG Y K, et al. Mussel-inspired silver-releasing antibacterial hydrogels [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(15): 3783-3791.
- [31] LIU K, JIANG L. Bio-inspired design of multiscale structures for function integration[J]. *Nano today*, 2011, 6(2): 155-175.
- [32] NGUYEN S H, WEBB H K, MAHON P J, et al. Natural insect and plant micro-/nanostructured surfaces: an ex-

- cellent selection of valuable templates with superhydrophobic and self-cleaning properties[J]. *Molecules*, 2014, 19(9): 13614-13630.
- [33] WATSON G S, GREEN D W, CRIBB B W, et al. Insect analogue to the lotus leaf: A planthopper wing membrane incorporating a low-adhesion, nonwetting, superhydrophobic, bactericidal, and biocompatible surface[J]. *ACS applied materials & interfaces*, 2017, 9(28): 24381-24392.
- [34] RIGO S, CAI C, GUNKEL-GRABOLE G, et al. Nanoscience-based strategies to engineer antimicrobial surfaces[J]. *Advanced science*, 2018, 5(5): 1700892.
- [35] SUN M, WATSON G S, ZHENG Y, et al. Wetting properties on nanostructured surfaces of cicada wings[J]. *Journal of experimental biology*, 2009, 212(19): 3148-3155.
- [36] TOBIN M J, PUSKAR L, HASAN J, et al. High spatial resolution mapping of superhydrophobic cicada wing surface chemistry using infrared microspectroscopy and infrared imaging at two synchrotron beamlines[J]. *Journal of synchrotron radiation*, 2013, 20(3): 482-489.
- [37] IVANOVA E P, HASAN J, WEBB H K, et al. Natural bactericidal surfaces: mechanical rupture of *Pseudomonas aeruginosa* cells by cicada wings[J]. *Small*, 2012, 8(16): 2489-2494.
- [38] HASAN J, WEBB H, TRUONG V K, et al. Selective bactericidal activity of nanopatterned superhydrophobic cicada psaltoda claripennis wing surfaces[J]. *Applied microbiology & biotechnology*, 2013, 97(20): 9257-9262.
- [39] IVANOVA E P, HASAN J, WEBB H K, et al. Bactericidal activity of black silicon[J]. *Nature communications*, 2013, 4(4): 2838.
- [40] TAGUCHI T, HAYASHI H, FUJII A, et al. Ultra-low-reflective 60-in. LCD with uniform moth-eye surface for digital signage[J]. *Sid symposium digest of technical papers*, 2012, 41(1): 1196-1199.
- [41] YAMADA M, MINOURA K, NAKAHARA T, et al. Synthetic polymer film having surface provided with bactericidal activity: United states, US20170258081A1 [P]. 2017-09-14.
- [42] CABEEN M T, JACOB SWAGNER C. Bacterial cell shape[J]. *Nature reviews microbiology*, 2005, 3(8): 601-610.
- [43] BEVERIDGE T. Structures of gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles[J]. *Journal of bacteriology*, 1999, 181(16): 4725-4733.
- [44] NAG S, BANERJEE R. Fundamentals of medical implant materials[J]. *Materials for medical devices*, 2012, 23: 7-17.
- [45] TRUONG V K, WEBB H K, FADEEVA E, et al. Air-directed attachment of coccoid bacteria to the surface of superhydrophobic lotus-like titanium[J]. *Biofouling*, 2012, 28(6): 539-550.
- [46] DIU T, FARUQUI N, SJÖSTRÖM T, et al. Cicada-inspired cell-instructive nanopatterned arrays[J]. *Scientific reports*, 2014, 4(4): 7122-7128.
- [47] PUCKETT S D, TAYLOR E, RAIMONDO T, et al. The relationship between the nanostructure of titanium surfaces and bacterial attachment[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(4): 706-713.
- [48] PHAM V T, TRUONG V K, QUINN M D, et al. Graphene induces formation of pores that kill spherical and rod-shaped bacteria[J]. *ACS nano*, 2015, 9(8): 8458-8467.
- [49] FISHER L E, YANG Y, YUEN M F, et al. Bactericidal activity of biomimetic diamond nanocone surfaces[J]. *Biointerphases*, 2016, 11(1): 11-14.
- [50] MAY P W, CLEGG M, SILVA T A, et al. Diamond-coated ‘black silicon’ as a promising material for high-surface-area electrochemical electrodes and antibacterial surfaces[J]. *Journal of materials chemistry B*, 2016, 4(34): 5737-5746.
- [51] WANG X, BHADRA C M, DANG T H Y, et al. A bactericidal microfluidic device constructed using nano-textured black silicon[J]. *RSC advances*, 2016, 6(31): 26300-26306.
- [52] DICKSON M N, LIANG E I, RODRIGUEZ L A, et al. Nanopatterned polymer surfaces with bactericidal properties[J]. *Biointerphases*, 2015, 10(2): 021010.
- [53] GREEN D W, LEE K H, WATSON J A, et al. High quality bioreplication of intricate nanostructures from a fragile gecko skin surface with bactericidal properties[J]. *Scientific reports*, 2017, 7: 41023.
- [54] KIM S, JUNG U T, KIM S K, et al. Nanostructured multifunctional surface with antireflective and antimicrobial characteristics[J]. *ACS applied materials & interfaces*, 2015, 7(1): 326-331.
- [55] HASAN J, RAJ S, YADAV L, et al. Engineering a nanostructured “super surface” with superhydrophobic and superkilling properties[J]. *RSC advances*, 2015, 5(56): 44953-44959.
- [56] BHADRA C M, KHANH T V, PHAM V T, et al. Antibacterial titanium nano-patterned arrays inspired by dragonfly wings[J]. *Scientific reports*, 2015, 5: 16817.
- [57] VIELA F, NAVARROBAENA I, HERNÁNDEZ J J, et al. Moth eye mimetic cytotocompatible bactericidal nanotopography: A convergent design[J]. *Bioinspiration & biomimetics*, 2018, 13(2): 026011.
- [58] LI X, CHEUNG G S, WATSON G S, et al. The nano-tipped hairs of gecko skin and biotemplated replicas impair and/or kill pathogenic bacteria with high efficiency [J]. *Nanoscale*, 2016, 8(45): 18860-18869.
- [59] CRAWFORD R J, WEBB H K, TRUONG V K, et al. Surface topographical factors influencing bacterial attachment[J]. *Advances in colloid and interface science*, 2012, 179-182(13): 142-149.
- [60] LI X. Bactericidal mechanism of nanopatterned surfaces [J]. *Physical chemistry chemical physics*, 2016, 18(2): 1311-1316.
- [61] NOWLIN K, BOSEMAN A, COVELL A, et al. Adhesion-dependent rupturing of *Saccharomyces cerevisiae* on

- biological antimicrobial nanostructured surfaces[J]. *Journal of the royal society interface*, 2015, 12(102): 20140999.
- [62] KELLEHER S M, HABIMANA O, LAWLER J, et al. Cicada wing surface topography: an investigation into the bactericidal properties of nanostructural features[J]. *ACS applied materials & interfaces*, 2016, 8(24): 14966-14974.
- [63] EPSTEIN A K, HOCHBAUM A I, KIM P, et al. Control of bacterial biofilm growth on surfaces by nanostructural mechanics and geometry[J]. *Nanotechnology*, 2011, 22(49): 494007.
- [64] 薛福东, 刘俊杰, 郭龙芳, 等. 蝉翼表面结构对细菌细胞作用的理论研究[J]. 生物物理学报, 2014, 30(6): 454-462.
XUE Fu-dong, LIU Jun-jie, GUO Long-fang, et al. A theoretical study for effect of cicada wing surfaces on bacterial cells[J]. *Acta biophysica sinica*, 2014, 30(6): 454-462.
- [65] LINDSAY D, HOLY A V. Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know[J]. *Journal of hospital infection*, 2006, 64(4): 313-325.
- [66] ARCIOLA C R, CAMPOCCIA D, SPEZIALE P, et al. Biofilm formation in *Staphylococcus* implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(26): 5967.
- [67] AN Y H, FRIEDMAN R J. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces[J]. *Journal of biomedical materials research part A*, 2015, 43(3): 338-348.
- [68] FRÖJD V, CHÁVEZ D P L, ANDERSSON M, et al. In situ analysis of multispecies biofilm formation on customized titanium surfaces[J]. *Molecular oral microbiology*, 2011, 26(4): 241-252.
- [69] LI B, LOGAN B E. Bacterial adhesion to glass and metal-oxide surfaces[J]. *Colloids & surfaces B: Biointerfaces*, 2004, 36(2): 81-90.
- [70] TRUONG V K, LAPOVOV R, ESTRIN Y S, et al. The influence of nano-scale surface roughness on bacterial adhesion to ultrafine-grained titanium[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(13): 3674-3683.
- [71] ELLBOURNE A, CRAWFORD R J, IVANOVA E P. Nano-structured antimicrobial surfaces: from nature to synthetic analogues[J]. *Journal of colloid and interface science*, 2017, 508: 603-616.
- [72] WU S, ZUBER F, MANIURAWEBER K, et al. Nanos-structured surface topographies have an effect on bactericidal activity[J]. *Journal of nanobiotechnology*, 2018, 16(1): 20-28.
- [73] WU S, ZUBER F, BRUGGER J, et al. Antibacterial Au nanostructured surfaces[J]. *Nanoscale*, 2016, 8(5): 2620-2625.
- [74] MAINWARING D E, NGUYEN S H, WEBB H, et al. The nature of inherent bactericidal activity: Insights from the nanotopology of three species of dragonfly[J]. *Nanoscale*, 2016, 8(12): 6527-6534.
- [75] JAFAR H, KAUSHIK C. Recent advances in engineering topography mediated antibacterial surfaces[J]. *Nanoscale*, 2015, 7(38): 15568-15575.
- [76] POGODIN S, HASAN J, BAULIN V, et al. Biophysical model of bacterial cell interactions with nanopatterned cicada wing surfaces[J]. *Biophysical journal*, 2013, 104(4): 835-840.
- [77] XUE F, LIU J, GUO L, et al. Theoretical study on the bactericidal nature of nanopatterned surfaces[J]. *Journal of theoretical biology*, 2015, 385(3): 1-7.
- [78] LINKLATER D P, HKD N, BHADRA C M, et al. Influence of nanoscale topology on bactericidal efficiency of black silicon surfaces[J]. *Nanotechnology*, 2017, 28(24): 245-301.

(上接第 199 页)

- [53] RONDELLI G, TORRICELLI P, FINI M, et al. In vitro corrosion study by EIS of a nickel-free stainless steel for orthopaedic applications[J]. *Biomaterials*, 2005, 26: 739-744.
- [54] RECLARU L, ZIEGENHAGEN R, ESCHLER P Y, et al. Comparative corrosion study of "Ni-free" austenitic stainless steels in view of medical applications[J]. *Acta biomaterialia*, 2006, 2: 433-444.
- [55] BAYRAKTAR E, MORA R, GARCIA I M, et al. Heat treatment, surface roughness and corrosion effects on the damage mechanism of mechanical components in the very high cycle fatigue regime[J]. *International journal of fatigue*, 2009, 31: 1532-1540.
- [56] POONGUZHALI A, PUJAR M G, MALLIKA C, et al. Characterisation of microstructural damage due to corrosion fatigue in AISI type 316 LN stainless steels with different nitrogen contents[J]. *Corrosion engineering, science and technology*, 2016, 51(6): 408-415.
- [57] SHAIKH H, POONGUZHALI A, SIVAI B N, et al. Corrosion fatigue of AISI type 316LN stainless steel and its weld metal[J]. *Corrosion science*, 2009, 51: 37-48.
- [58] SIMMONS J W. Overview: High-nitrogen alloying of stainless steels[J]. *Materials science and engineering A*, 1996, 207: 159-169.
- [59] BEGUM Z, POONGUZHALI A, BASU R, et al. Studies of the tensile and corrosion fatigue behaviour of austenitic stainless steels[J]. *Corrosion science*, 2011, 53: 1424-1432.
- [60] SONNLEITNER R, MORI G, PANZENBÖCK M, et al. Corrosion fatigue of a manganese-nitrogen stabilized austenitic stainless steel[J]. *Materials and corrosion*, 2010, 61: 97-104.