[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2017.12.013

· 综述 ·

基质金属蛋白酶抑制剂防治牙酸蚀症的研究进展

蒋能舞^{1,2} 综述; 于皓^{1,2} 审校

1. 福建医科大学口腔医学院·附属口腔医院修复科, 福建福州(350002); 2. 福建省口腔生物材料工程技术研究中心, 福建福州(350002)

【摘要】 近年来牙酸蚀症的患病率不断上升, 预防及治疗牙酸蚀症已成为口腔医学的热点问题。基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)是一类含 Zn^{2+} 和 Ca^{2+} 的蛋白水解酶, 是牙酸蚀症发病过程中降解牙本质有机基质的主要蛋白水解酶之一。近年来有学者提出应用MMPs抑制剂以阻断牙本质有机基质的降解从而达到预防和治疗牙酸蚀症的目的。本文对MMPs抑制剂的作用机理及其用于牙酸蚀症预防和治疗的可行性作一综述, 为相关临床及科研工作提供策略。

【关键词】 酸蚀; 牙本质; 预防; 治疗; 基质金属蛋白酶; 基质金属蛋白酶抑制剂

【中图分类号】 R781.2 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2017)12-0810-04

【引用著录格式】 蒋能舞, 于皓. 基质金属蛋白酶抑制剂防治牙酸蚀症的研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2017, 25(12): 810-813.

Advances in research on the prevention and treatment of dental erosion by MMPs inhibitors JIANG Nengwu^{1, 2}, YU Hao^{1, 2}. 1. Department of Prosthodontics, School and Hospital of Stomatology, Fujian Medical University, Fuzhou 350002, China; 2. Fujian Biological Materials Engineering and Technology Center of Stomatology, Fuzhou 350002, China

Corresponding author: YU Hao, Email: kobegigi@126.com, Tel: 0086-591-83736431

【Abstract】 High prevalence of dental erosion has been reported in recent years. The prevention and treatment of dental erosion has therefore attracted lots of attention in dentistry. Matrix metalloproteinases (MMPs) is a type of proteolytic enzyme containing Zn^{2+} and Ca^{2+} , which can degrade organic matrix in advanced dental erosion. MMPs inhibitors were reported to have the potential to prevent the organic matrix of dentin from degradation, which might provide protective capacity against dental erosion. The present article reviews the mechanism and potential application of MMPs inhibitors in the prevention and treatment of dental erosion.

【Key words】 Dental erosion; Dentin; Prevention; Therapy; MMPs; MMPs inhibitors

牙酸蚀症是指在无细菌参与的情况下, 由于接触牙面的酸或其螯合物的化学侵蚀作用而引起的一种病理的、慢性的牙体硬组织表面浅层丧失。大量的调查和研究认为牙酸蚀症是一种多因素的疾病, 是化学、生物、行为等多种因素相互影

响、相互作用的结果^[1]。近年来, 随着人们生活习惯及环境的改变, 牙酸蚀症的患者与日俱增, 喜好碳酸饮料的人群、胃酸反流患者以及长期接触酸雾、酸酞职业史的工人成为高发人群^[2]。

酸蚀症是一个慢性而连续的过程, 随着牙齿酸蚀症的进展, 病损可累及牙本质, 导致牙本质敏感甚至牙髓炎症。基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)在口腔环境中主要存在于唾液和牙本质中, 是一组钙锌依赖性蛋白酶, 具有协同降解几乎所有的细胞外基质的作用, 在许多生理和病理的过程中发挥重要作用^[3]。MMPs在牙本质

【收稿日期】 2017-03-14; **【修回日期】** 2017-04-07

【基金项目】 福建省科技创新联合基金(2016Y9022); 福建省医学创新项目(2015-CX-31); 福建省青年拔尖人才项目(2014)

【作者简介】 蒋能舞, 在读硕士研究生, Email: dentjnw@163.com

【通信作者】 于皓, 副教授, 博士, Email: kobegigi@126.com

中的分布、含量和主要作用都不相同,其中参与牙本质胶原降解的主要是MMP-2和MMP-8和MMP-9^[4-6],成牙本质细胞是其重要来源之一^[7]。MMPs平时以无活性的酶原形式分泌,通常通过其氨基端的水解得以活化,可以被内源性因素和病理性因素所激活,内源性因素包括丝氨酸蛋白酶、细菌酶或已被激活的MMPs等;病理性因素包括弱酸、温度以及不适当应力等^[8]。激活的MMPs可引起细胞外基质有机组分的水解^[9],进一步促进牙酸蚀症的发展。在口腔环境中,高浓度的MMPs增加了牙酸蚀症的易感性,应用MMPs抑制剂以控制细胞外基质降解及重建,可提高牙本质的抗酸蚀能力,在牙酸蚀症预防和治疗具有较强的应用潜力。本文针对MMPs抑制剂用于牙酸蚀症的预防和治疗的研究进展作一综述,以期为牙酸蚀症的预防和治疗工作提供策略。

1 各种MMPs抑制剂及其相关机制

1.1 氟化物

氟化物作为目前应用最为广泛的预防和治疗牙齿酸蚀症的方法之一,尤其是含锡及钛的氟化物已经证实了其有效性^[10]。传统观点认为,氟化物应用的主要机理是与在牙体硬组织中含有的羟基磷灰石发生反应形成沉淀物。Kato等^[11]采用酶谱分析首次实验证实了氟化钠抑制MMPs的活性作用,提出离子中和机制。由于MMPs是一类Zn²⁺和Ca²⁺依赖酶,而F⁻带有强负电荷,过量的F⁻可能使这类阳离子失活进而抑制MMPs的激活。此前有研究已证实脱矿有机基质(Demineralised organic matrix, DOM)可作为机械屏障阻止离子在脱矿区的扩散并抑制酸蚀刺激,氟化物对牙体酸蚀的预防作用似乎取决于DOM的保留程度^[12]。

1.2 氯己定(Chlorhexidine, CHX)

氯己定,又称洗必泰,是一种广谱的、非特异性的MMPs抑制剂,已证实CHX是通过阳离子螯合作用抑制MMPs。也有学者认为CHX可能影响羟基和半胱氨酸在MMPs中的活性位点。在唾液浓度达到0.2%以上时,CHX的抑制活性也可能与蛋白质变性有关^[13]。

陈宇江将CHX作为预处理剂应用于牙本质层,采用冷热循环加载应力的方法模拟老化后,进行微拉伸测试和动物体外测试,结果显示CHX可抑制全酸蚀系统粘接后粘接界面的胶原降

解^[14]。使用2%的CHX在涂布粘接剂前预处理牙本质表面,可以抑制牙髓-牙本质复合体中成牙本质细胞层中MMP-2、MMP-8、MMP-9的表达^[15]。有研究发现2%CHX预处理牙本质后能够延缓胶原降解^[16]。虽然对于CHX定的作用机制尚不明确,但其抑制MMPs的有效性已得到广泛认可。

1.3 表没食子儿茶素没食子酸脂(Epigallocatechin gallate, EGCG)

EGCG是一种天然的MMPs抑制剂,是茶多酚的主要成分,对多种肿瘤细胞系的MMP-2、MMP-9的活性有明显的抑制作用。EGCG可以通过氢键和疏水键与胶原酶结合,导致胶原酶的二级结构发生改变,从而抑制了胶原酶的活性。有实验通过微拉伸测试、断裂模式分析观察到EGCG对外源性MMP-8的活性具有显著的抑制作用,有抑制牙本质脱矿的作用。该抑制作用具有浓度依赖性,当浓度达到400 μg/mL时对MMP-8的抑制作用较0.2% CHX更显著^[17]。此前Demeule等^[18]也做了关于EGCG抑制不同MMPs有效剂量的研究,发现抑制MMP-2和MMP-9的半数最大抑制浓度(IC50)分别为6 μM和0.8 μM。

1.4 乙二胺四乙酸(Ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)

研究证实EDTA能够通过螯合作用来抑制MMPs的溶胶原作用,竞争结合催化MMPs活化的阳离子,抑制MMPs的活性。目前,EDTA被广泛应用于溶解牙本质的矿物质相,并且能够避免牙本质原胶原纤维结构的改变^[19-20]。

1.5 季铵盐类

刘宁^[21]报道人工合成的三种季铵盐单体DMAE-CB(Methacryloxyethyl cetyl dimethyl ammonium bromide)、MAE-DB(2-methacryloxyethyl dodecyl methyl ammonium bromide)、MAE-HB(2-methacryloxyethyl hexadecyl methyl ammonium bromide)对MMP-9均具有抑制作用,且随着浓度的升高抑制作用增强,证实季铵盐单体在牙本质粘接剂固化后可以有效提高牙本质粘接界面的耐酶解能力。同时发现新型抗菌季铵盐单体,能够防止混合层胶原降解并保护树脂粘结界面。Umer等^[22]也发现了一种新型季铵盐可有效抑制MMPs对牙本质的脱矿作用。另外,双甲基丙烯酸季铵盐单体(Quaternary ammonium methacrylates, QAMs)、甲基丙烯酸-β羟乙基(2-hydroxyethylmethacrylate, HEMA)、

苯扎氯铵(Benzalkonium chloride, BAC)以及苯扎丙烯酸甲酯(Benzalkonium methacrylate, MBAC)等均在不同研究中显示出其对牙本质 MMPs 具有抑制作用^[23-26]。

1.6 四环素类

四环素类化合物除了拥有抗菌活性,也用作 MMPs 抑制剂,但其抑制不是通过抗菌机制发挥作用^[27],钙离子和锌离子结合区域位于四环素类化合物的 C-11 和 C-12^[28]。赵聪等^[29]发现米诺环素能够有效减少牙本质粘结界面的微渗漏。四环素类抑制剂对牙本质的双重保护作用,是其作为牙酸蚀症防治前景材料的良好基础。

1.7 其他 MMPs 抑制剂

除以上 MMPs 抑制剂外,也有文献报道拉托普利、原花青素以及临床常见的 Gluma 脱敏剂等可作为 MMPs 抑制剂发挥作用^[30-32]。MMPs 抑制剂种类繁多,寻找合适方法将其应用于牙酸蚀症的防治才是关键举措。

2 MMPs 抑制剂应用于临床的剂量

2.1 漱口液

国外学者将 MMPs 抑制剂加入漱口液中以分析其在牙酸蚀症进展中的作用。Charone 等^[13]分析了聚六亚甲基胍(Polyhexamethylenebiguanide hydrochloride, PHMB)和 CHX 在牙本质酸蚀中对脱矿有机基质降解酶的抑制活性。采用对照分析,6天后观察到,SPP(Sanifillperio premium)组(含 0.07% PHMB 和 0.05% 氟化钠)组织丧失最少,PHMB 和 CHX 组也出现了明显的效果,而氟化物组与对照组的组织丧失未见明显不同。商业产品 SPP 对预防牙体组织丧失效果最佳,与其含有 F⁻ 离子及 PHMB 有关,PHMB 是一类阳离子双胍剂,这与上述 F⁻ 离子结合有效阳离子能够发挥更强预防牙酸蚀症的结论相符。虽然实验证明了含有 MMPs 抑制剂的漱口液减少了酸蚀作用,但其临床应用效果仍未得到共识。

2.2 凝胶

研究表明 MMPs 抑制剂与牙体接触的时间与其保护效果呈正相关。因此,许多学者将 MMPs 抑制剂加入凝胶以提高其效用。Kato 等^[33]验证了凝胶的优越性,含 MMPs 抑制剂的凝胶(10 μM EGCG; 400 μM EGCG; 0.012% CHX)可完全抑制牙本质酸蚀,与氟化钠及空白对照组差异有统计学意义;扫描电镜分析中,含 MMPs 抑制剂处理组酸

蚀区域与未酸蚀区域无明显区别。含 MMP 抑制剂的凝胶能够引起牙本质小管阻塞,这种沉积物可能是由于 CHX 和多元酚能够与金属离子互相影响并能够从磷灰石中结合钙离子^[33]。与溶液相比,由于增加了与牙体的接触时间及亲和力,凝胶中有效成分能够渗透入牙体,因此拥有更好的效果。

2.3 牙膏

在日常清洁的同时预防牙酸蚀症是一种得到临床医生及患者广泛接受的方式,在证实了 MMPs 抑制剂(CHX、EGCG 等)加入溶液及凝胶均对牙酸蚀症有一定抑制作用后,国外学者设计了体外实验验证在牙膏中添加 MMPs 抑制剂有效预防牙酸蚀症^[34]。接触式表面轮廓仪检测结果显示,含 MMPs 抑制剂组的组织丧失比起空白对照组有明显减少,含 MMPs 抑制剂或氟化物的牙膏作用取决于脱矿有机基质的存留,其保留通过抑制牙体及唾液中的胶原酶活性使酸蚀后的组织再矿化。

值得强调的是,MMPs 抑制剂的作用载体很重要,在多种临床应用方式中,凝胶的预防保护作用最有效。然而,当酸蚀刺激超过 10 d(总酸蚀时间 200 min),组织丧失程度增大^[34],这就需要 MMPs 抑制剂进行反复应用,这类情况下牙膏或许会是更为简单的选择。

3 小结

目前针对牙酸蚀症常用的防治方法,除了常规的口腔健康宣教、饮食习惯纠正和引起牙酸蚀症的胃肠疾病治疗之外,临床上主要有脱敏处理、局部用氟以及激光治疗等,其机制大致相同,即通过表面处理在牙釉质或牙本质表面形成物理性沉淀物以达到治疗或预防牙酸蚀症的目的^[1-2]。然而这些实施方法具有局限性且长期效果难以维持,MMPs 抑制剂的使用无疑为牙酸蚀症的预防和治疗开启了另一扇大门。尽管各类抑制剂对不同的 MMPs 有抑制活性,但目前研究多限于体外实验,实验条件还存在一定的局限性,模拟口腔环境不够完全,例如唾液的流动性、获得性薄膜的形成及口内菌群等,另外其作用机制也尚不明确。综上所述,MMPs 抑制剂的应用为预防及治疗牙酸蚀症提供了新的思路。如能有针对性的使用特定 MMPs 抑制剂,将能达到有效预防和治理牙酸蚀症的最最终目的。

参考文献

- [1] 卢友光. 牙酸蚀症[J]. 中国实用口腔科杂志, 2014, 7(7): 394-398.
- [2] 李一棵, 陶丹英, 冯希平. 激光对牙酸蚀症预防作用的研究进展[J]. 口腔医学, 2016, 36(12): 1149-1152.
- [3] Buzalaf M, Hannas AR, Kato MT. Saliva and dental erosion [J]. J Appl Oral Sci, 2012, 20(5): 493-502.
- [4] Dumas J, Hurion N, Weill R, et al. Collagenase in mineralized tissues of human teeth [J]. FEBS Lett, 1985, 187(1): 51-55.
- [5] Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, et al. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin [J]. Arch Oral Biol, 2007, 52(2): 121-127.
- [6] 王丹杨. 人牙本质源 MMPs 的鉴定及其与牙本质粘接持久性的相关性研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2012.
- [7] 王晓春, 梁景平, 郭炳诗, 等. 基质金属蛋白酶-2,9,8 在成人成牙本质细胞中的表达及转移生长因子对其分泌的影响[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2008, 18(9): 497-501.
- [8] Lu P, Takai K, Weaver VM, et al. Extracellular matrix degradation and remodeling in development and disease [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2011, 3(12): 1750-1754.
- [9] Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, et al. Insights into preventive measures for dental erosion [J]. J Appl Oral Sci, 2009, 17(2): 75-86.
- [10] Vogel GL. Oral fluoride reservoirs and the prevention of dental caries [J]. Monogr Oral Sci, 2011, 22: 146-157.
- [11] Kato MT, Bolanho A, Zarella BL, et al. Sodium fluoride inhibits MMP-2 and MMP-9 [J]. J Dent Res, 2014, 93(1): 74-77.
- [12] Ganss C, Lussi A, Sommer N, et al. Efficacy of fluoride compounds and stannous chloride as erosion inhibitors in dentine [J]. Caries Res, 2010, 44(3): 248-252.
- [13] Charone S, Cardoso Cde A, Kato MT, et al. The effect of mouthwashes containing biguanides on the progression of erosion in dentin [J]. BMC Oral Health, 2014, 14(1): 131.
- [14] 陈宇江. 氯己定稳定牙本质粘接界面的体外和体内实验研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2013.
- [15] Gendron R, Grenier D, Sorsa T, et al. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine [J]. Clin Diagn Lab Immunol, 1999, 6(3): 437-439.
- [16] 李景辉, 刘慧, 乔佳, 等. 2%氯己定对牙本质自酸蚀粘接强度影响的初步研究[J]. 北京口腔医学, 2010, 18(3): 132-134.
- [17] 徐帅. 表没食子儿茶素没食子酸酯保护脱矿牙本质基质的相关作用研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2014.
- [18] Demeule M, Brossard M, Pagé M, et al. Matrix metalloproteinase inhibition by green tea catechins [J]. Biochim Biophys Acta, 2000, 1478(1): 51-60.
- [19] Carvalho RM, Tay F, Sano H, et al. Long-term mechanical properties of EDTA-demineralized dentin matrix [J]. J Adhes Dent, 2000, 2(3): 193-199.
- [20] Fuentes V, Ceballos L, Osorio R, et al. Tensile strength and microhardness of treated human dentin [J]. Dent Mater, 2004, 20(6): 522-529.
- [21] 刘宁. 季铵功能单体对牙本质基质金属蛋白酶的作用[D]. 西安: 第四军医大学, 2013.
- [22] Umer D, Yiu CK, Burrow MF, et al. Effect of a novel quaternary ammonium silane on dentin protease activities [J]. J Dent, 2017, 58: 19-27.
- [23] Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Uchiyama T, et al. The inhibitory effects of quaternary ammonium methacrylates on soluble and matrix-bound MMPs [J]. J Dent Res, 2011, 90(4): 535-540.
- [24] 孙素. HEMA 对人牙髓细胞、成牙本质样细胞中 MMPs 表达的影响与调控[D]. 昆明医科大学, 2015.
- [25] Sabatini C, Kim JH, Ortiz Alias P. In vitro evaluation of benzalkonium chloride in the preservation of adhesive interfaces [J]. Oper Dent, 2014, 39(3): 283-290.
- [26] Sabatini C, Pashley DH. Aging of adhesive interfaces treated with benzalkonium chloride and benzalkonium methacrylate [J]. Eur J Oral Sci, 2015, 123(2): 102-107.
- [27] Greenwald R, Golub L. Biologic properties of non-antibiotic, chemically modified tetracyclines (CMTs): a structured, annotated bibliography [J]. Curr Med Chem, 2001, 8(3): 237-242.
- [28] Liu Y, Ramamurthy N, Marecek J, et al. The lipophilicity, pharmacokinetics, and cellular uptake of different chemically-modified tetracyclines (CMTs) [J]. Curr Med Chem, 2001, 8(3): 243-252.
- [29] 赵聪, 迟爽, 李彤, 等. MMPs 抑制剂对湿性黏结微渗漏的影响[J]. 上海口腔医学, 2016, 25(5): 548-552.
- [30] 朱赞婕, 郑新宇, 陈晖. 卡托普利和氯己定对牙本质黏结持久性影响的对比研究[C]. 第九次全国牙体牙髓病学学术会议. 2014.
- [31] 唐成芳. 原花青素对牙本质及粘接界面耐脱矿和再矿化能力影响的实验研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2013.
- [32] Sabatini C, Scheffel DL, Scheffel RH, et al. Inhibition of endogenous human dentin MMPs by Gluma [J]. Dent Mater, 2014, 30(7): 752-758.
- [33] Kato MT, Leite AL, Hannas AR, et al. Gels containing MMP inhibitors prevent dental erosion in situ [J]. J Dent Res, 2010, 89(5): 468-472.
- [34] Hannas AR, Kato MT, Cardoso Cde A, et al. Preventive effect of toothpastes with MMP inhibitors on human dentine erosion and abrasion in vitro [J]. J Appl Oral Sci, 2016, 24(1): 61-66.

(编辑 罗燕鸿, 曾曙光)