

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2020.06.008

· 综述 ·

# 牙本质的仿生再矿化

宋群<sup>1</sup>, 刘啸晨<sup>2</sup>, 马雨轩<sup>1</sup>, 王晨语<sup>1</sup>, 焦凯<sup>3</sup>, 牛丽娜<sup>1</sup>

1. 军事口腔医学国家重点实验室 口腔疾病国家临床医学研究中心 陕西省口腔疾病重点实验室 第四军医大学口腔医院修复科, 陕西 西安(710032); 2. 浙江大学医学院附属口腔医院修复科, 浙江 杭州(310058); 3. 军事口腔医学国家重点实验室 口腔疾病国家临床医学研究中心 陕西省口腔疾病重点实验室 第四军医大学口腔医院解剖生理教研室, 陕西 西安(710032)

**【摘要】** 近年来,在修复由龋病等原因引起的牙本质脱矿的研究中,牙本质仿生再矿化技术以其精确控制无定形矿物质前体在脱矿牙本质胶原纤维内有序沉积、形成的磷灰石晶体与天然矿化牙本质相似、自下而上的再矿化方式不依赖于籽晶存在等优点,逐渐成为这一领域的研究热点。本文回顾了脱矿牙本质再矿化的理念和实践的进展,并着重对牙本质仿生再矿化策略的相关研究进行综述,文献复习结果表明,传统的牙本质再矿化方法通常是脱矿牙本质与矿物质晶体的无序混合,这样矿化后的牙本质在形态特征和机械性能上均无法与天然矿化牙本质相媲美;而近年逐渐兴起的牙本质仿生再矿化技术则复现了天然矿化牙本质中矿物质在牙本质胶原纤维内有序排列的结构特点,其微观结构、理化性能均得到极大提高,有望在树脂-牙本质粘结混合层和龋坏牙本质脱矿层的再矿化研究领域实现新的突破。目前牙本质仿生再矿化在临床应用上需要克服的技术障碍在于如何在再矿化过程中持续补充矿化所需的各种有效成份,并在缓慢释放各成份的同时保持母体材料的机械性能不变,研究者们已相继提出了三步法输送仿生再矿化原材料,以及预先制备聚合物稳定的矿化前体、再使用介孔硅纳米材料作为输送矿化成份的系统的构想,为牙本质仿生再矿化策略向临床应用的转化提供了初步体外实验基础。

**【关键词】** 牙本质; 仿生再矿化; 引导组织再矿化; 羟基磷灰石; 胶原纤维; 非胶原蛋白; 聚丙烯酸; 无定形磷酸钙

**【中图分类号】** R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2020)06-0383-07



开放科学(资源服务)标识码(OSID)

**【引用著录格式】** 宋群,刘啸晨,马雨轩,等.牙本质的仿生再矿化[J].口腔疾病防治,2020,28(6):383-389.

**Biomimetic remineralization of dentin** SONG Qun<sup>1</sup>, LIU Xiaochen<sup>2</sup>, MA Yuxuan<sup>1</sup>, WANG Chenyu<sup>1</sup>, JIAO Kai<sup>3</sup>, NIU Lina<sup>1</sup>. 1. State Key Laboratory of Military Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Shanxi Key Laboratory of Oral Diseases, Department of Prosthodontics, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 2. Department of Prosthodontics, Affiliated Stomatological Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 3. State Key Laboratory of Military Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Shaanxi Key Laboratory of Oral Diseases, Department of Oral Anatomy and Physiology and TMD, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China  
Corresponding author: NIU Lina, Email: niulina831013@126.com, Tel: 86-29-84776032; JIAO Kai, Email: kjiao1@fmmu.edu.cn, Tel: 86-29-84776032

**【Abstract】** In recent years, due to precise control of the amorphous mineral precursor in the demineralization of dentine collagen fibers in orderly deposition, forming apatite crystals similar to the natural mineralized dentin, the bottom-up remineralization approach which does not depend on the existence of seed crystallites, dentin biomimetic mineraliza-

**【收稿日期】** 2019-02-13; **【修回日期】** 2020-01-30

**【基金项目】** 国家自然科学基金优秀青年基金项目(81722015);国家自然科学基金面上项目(81870805);浙江省青年基金项目(LQ14H140005)

**【作者简介】** 宋群, 医师, 硕士研究生, Email: 641191078@qq.com

**【通信作者】** 牛丽娜, 副教授, 博士, Email: niulina831013@126.com, Tel: 86-29-84776032; 焦凯, 副教授, 博士, Email: kjiao1@fmmu.edu.cn, Tel: 86-29-84776032

tion techniques gradually become a hotspot in the research field of restoration of demineralized dentin caused by dental caries. This paper reviews the changing concepts and practices of the remineralization of demineralized dentin, emphasizing biomimetic remineralization studies. The results of the literature review show that the traditional dentin remineralization method is usually a disordered mixture of demineralized dentin and minerals, so mineralized dentin is not comparable to natural mineralized dentin in terms of the morphological characteristics and mechanical properties. With its gradual increase in recent years, dentine biomimetic mineralization technology perfectly resembles the minerals in the dentin overlapping sequence arranged with the dentine collagen fiber structure characteristics, leading to greatly improved microstructural, physical and chemical properties. As a result, dentine biomimetic mineralization technology is expected to achieve new breakthroughs in the fields of resin-dentin bonding mixing layers and the decay of dentin. At present, the technical obstacles that need to be overcome in the clinical application of the biomimetic remineralization of dentin are how to continuously supplement all the active ingredients needed for mineralization in the process of remineralization and how to keep the mechanical properties of the parent material unchanged while slowly releasing all ingredients. Researchers have successively proposed three-step transportation of the biomimetic remineralization of raw materials, as well as the preparation of mineralization precursors stabilized by polymers in advance and the reuse of mesoporous silicon nanomaterials for the transportation of the mineralized ingredient system. The concept described above provides the preliminary in vitro experimental basis for the transformation of the biomimetic remineralization strategy of dentin in clinical applications.

**【Key words】** dentin; biomimetic remineralization; guided tissue remineralization; hydroxyapatite; collagen fibril; noncollagenous proteins; poly acrylic acid; amorphous calcium phosphate

**J Prev Treat Stomatol Dis, 2020, 28(6): 383-389.**

牙齿是人体高度矿化的器官。在正常生理情况下,牙齿的脱矿与再矿化相互平衡,然而在病理情况下,脱矿作用就会大于再矿化作用,导致牙体组织的破坏,进而损害牙齿的功能。口腔首要疾患——龋病,就是最常见的病理性脱矿的结果。致龋微生物可使碳水化合物分解产酸,并与牙本质内源性基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)协同作用,导致牙齿无机质的脱矿和胶原有机质的降解,逐步形成龋洞<sup>[1-2]</sup>。目前,龋病已被世界卫生组织列为继癌症、心血管疾病之后的第三大慢性非传染性疾病。2015年世界卫生组织研究数据显示:恒牙患龋已达24亿人,乳牙患龋已达6.21亿人,龋病防治已不仅是口腔医学问题,也日益成为倍受关注的公共卫生课题<sup>[3]</sup>。目前临床上对于龋病的治疗仍以外科手术治疗为主,即在去净龋坏牙体组织的基础上,采用修复材料充填窝洞以恢复牙体的生理形态与功能;所使用的修复材料主要是以树脂牙本质粘接为基础的牙色复合树脂材料,其粘接机制是首先用酸蚀剂或酸性树脂单体酸蚀粘接面,使胶原纤维脱矿,进而粘接剂进入裸露的胶原纤维内并与之交联形成混合层。然而,受树脂渐进性渗透的影响,树脂粘接剂很难完全渗透、包裹脱矿的胶原纤维,使得部分胶

原纤维裸露在粘接界面,形成与龋坏牙本质类似的脱矿结构,在复杂的口腔内环境如唾液酶、温度、咬合力等多因素的作用下,这部分树脂渗透不良区域很容易降解,从而使粘接面的完整性被破坏,粘接强度降低,最终可能导致树脂-牙本质粘接修复的失败<sup>[3]</sup>。因此如何恢复脱矿牙体组织的矿化结构,使牙本质胶原纤维内、外部均能受到矿物质保护,免于在外源性刺激下发生降解,对防治龋病和提高粘接界面稳定性,延长粘接修复体使用寿命方面具有重要意义。本文综述了牙本质传统再矿化存在的难以克服的缺陷,以及在仿生矿化和纳米技术的基础上发展起来的牙本质引导组织再矿化(guided tissue remineralization)的概念,探讨该策略在再矿化树脂-牙本质粘接混合层和龋坏牙本质脱矿层研究中的进展和存在的问题;最后,展望牙本质仿生再矿化策略从体外实验向临床应用转化的前景。

## 1 从牙本质的传统再矿化到仿生再矿化

### 1.1 牙本质的传统再矿化

正常的牙本质基质是由有序编织的胶原基质、选序排列的无机相磷灰石晶体和少量的非胶原蛋白(noncollagenous proteins, NCPs)组成的<sup>[4]</sup>。

根据羟基磷灰石和胶原的相对位置关系,牙本质的矿化可以分为纤维内矿化、纤维间矿化和纤维外矿化三部分。其中纤维内矿化决定着牙本质在纳米尺度上的力学性能,并能够防止胶原在外源性刺激(如热刺激、外源性细菌酶及次氯酸钠等)下变性降解。

一般认为,牙本质矿化过程就是羟基磷灰石在预成型的牙本质胶原纤维内及胶原纤维间有序沉积的过程,而调控这一过程的关键就在于非胶原蛋白,如成牙本质基质蛋白、牙本质磷蛋白、牙本质涎蛋白等<sup>[5-7]</sup>。这一类蛋白的共同特点是富含携带羧基的谷氨酸、天冬氨酸,因此在中性环境中带有大量的负电荷。此外这些蛋白上的丝氨酸经磷酸化作用后生成磷酸丝氨酸,进一步增强了非胶原蛋白的阴离子特性。这种特性使其能够螯合大量的钙离子,从而在超饱和的磷酸钙矿化液中维持溶液的稳定而不发生沉淀,为钙/磷优先成核及随后的磷灰石结晶提供了位点<sup>[7]</sup>。

牙本质再矿化作为龋损牙体组织再修复的关键技术,早在半世纪前就已开始受到重视。传统的牙本质再矿化方法往往是在龋损周围提供大量的氟化物和钙磷底物,以促进再矿化的发生<sup>[8]</sup>。另有研究者使用能释放氟化物的树脂<sup>[9]</sup>,或者含有生物活性玻璃离子的树脂粘接剂来促进树脂牙本质粘接界面裸露胶原的再矿化<sup>[10-11]</sup>,提高粘接修复体抵抗继发龋的能力。但是这种传统的再矿化方法并未意识到NCPs调控矿化的重要性,而仅仅局限于钙磷底物的补充<sup>[12]</sup>。同时,这种再矿化的前提是牙本质仅发生部分脱矿,脱矿区内存在残余籽晶,这样钙和磷酸根离子才能以籽晶为起始部位进行外延性生长。而在没有籽晶存在的完全脱矿区域,如全酸蚀粘接系统产生的混合层内的完全脱矿牙本质、微创去龋后留下的龋损内层脱矿牙本质,传统的牙本质再矿化方法往往只能使钙磷结晶无序沉积在脱矿胶原纤维表面,并未见有羟基磷灰石晶体在胶原纤维内部有序沉积<sup>[13]</sup>。这样形成的再矿化牙本质在形态和机械性能上与天然矿化牙本质存在着很大的差距,因此,寻找能够实现完全脱矿牙本质纤维内矿化的新的再矿化方法势在必行。

## 1.2 牙本质的仿生再矿化

为了解决完全脱矿牙本质的纤维内再矿化问题,有学者提出模拟生物矿化过程,采用人工方法精确控制磷灰石无机矿物相在胶原内部有序沉积

的仿生矿化(biomimetic mineralization)的概念<sup>[13]</sup>。最初,多使用天然或重组的非胶原蛋白来调控胶原的原位矿化<sup>[14]</sup>,但由于此类产品的来源有限且价格昂贵<sup>[14-15]</sup>,有研究者转而开始用多种非胶原蛋白仿生类似物模拟天然蛋白质的功能性区域<sup>[14, 16-17]</sup>。其中代表性成果就是Franklin Tay课题组提出的牙本质引导组织再矿化策略。即在常温常压下使用聚电解质模拟非胶原蛋白调控生物矿化的功能,稳定并引导无定形磷酸钙(amorphous calcium phosphate, ACP)纳米前体渗入脱矿牙本质胶原内,在纤维内及纤维间有序沉积,形成与自然牙本质组织形态、尺寸及分级结构类似的矿物相。Jiao等<sup>[14]</sup>以两种聚电解质——聚丙烯酸(poly acrylic acid, PAA)和聚乙烯基膦酸(poly vinylphosphonic acid, PVPA)作为牙本质非胶原蛋白-牙本质磷蛋白的类似物,以三氧化矿化凝聚物作为钙离子源,以模拟体液作为磷酸根离子来源诱导脱矿牙本质的再矿化,成功实现了裸露的牙本质胶原纤维间和纤维内的再矿化。其中,含羧酸根官能团的聚阴离子电解质——聚丙烯酸模拟牙本质基质蛋白1(dentin matrix protein, DMP-1)富含天门冬氨酸和丝氨酸的N-末端区域,将ACP稳定在流体性的纳米前驱体状态,为其渗透到胶原的微纤维间隙中做好准备;含膦酸酯的聚阴离子电解质——聚乙烯基膦酸模拟DMP-1富含磷酸化的丝氨酸的C-末端区域,粘附于胶原纤维或微原纤维表面的特定位点,使后者成为磷酸化、带负电荷的活性矿化模板,同时PVPA可介导PAA稳定的ACP纳米前驱体渗入胶原纤维间隙中,形成按一定的层次迭序排列在纤维内和纤维间的磷灰石晶体。这种“自下而上”的再矿化方式不依赖于胶原纤维内籽晶的存在,并能够恢复混合层中裸露胶原纤维的硬度和酶排除机制,使其接近于天然矿化牙本质<sup>[14]</sup>,因而在龋病预防及提高树脂-牙本质粘接耐久性方面具有很大潜力。

随着NCP及其类似物调控牙本质I型胶原仿生矿化作用的发现,越来越多的研究开始使用合成的聚阴离子大分子来模拟天然NCP的功能性区域。除前述的聚丙烯酸外,聚天冬氨酸、聚谷氨酸、羧基化的聚乙二醇等被用于模拟NCP脱质子活性形式的负电荷特性<sup>[18-19]</sup>。另有研究利用末端分别是羧基和胺基的聚酰胺-胺型树枝状大分子(PAMAM-COOH、PAMAM-NH<sub>2</sub>)来模拟非胶原蛋白在生物矿化中的双重作用<sup>[20]</sup>。树枝状大分子由一

个核心分子向末端基团辐射的多个分支组成,由于它们易于官能化的末端基团和仿生特性,同时,其分子结构与许多重要蛋白质的结构形态十分匹配,这些树枝状大分子聚合物在仿生矿化领域被广泛研究<sup>[20-21]</sup>。Xie等<sup>[22]</sup>证实PAMAM-COOH可结合脱矿牙本质胶原并诱导矿化物沉积从而封闭牙本质小管;Wang等<sup>[23]</sup>的研究利用PAMAM-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>作为非胶原蛋白的仿生类似物,与聚丙烯酸协同作用,诱导脱矿牙本质的再矿化;Liang等<sup>[24]</sup>则在脱矿牙本质表面构造PAMAM涂层,以无定形磷酸钙纳米颗粒为钙、磷离子来源,实现了矿物质晶体在脱矿牙本质层的沉积。

近年来,有学者研究发现自酸蚀粘接剂中的酸性功能单体——甲基丙烯酸葵基磷酸酯(methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate, MDP)可能发挥非胶原蛋白仿生类似物的功能,具有启动并调控牙本质I型胶原纤维内矿化的作用<sup>[25]</sup>。MDP的磷酸酯官能团含有P=O及P-OH结构,在水溶液中形成的P-O-结构与钙离子之间存在相互作用,或者通过带部分负电荷的P=O和P-O-C结构螯合溶液中的钙离子,并起到磷酸钙晶体成核、生长模板的作用。Nurrohman等<sup>[26]</sup>研究了MDP、磷酸二氢甘油二甲基丙烯酸酯(glycero-phosphate dimethacrylate, GPDM)和Phenyl-P三种磷酸酯功能单体对胶原纤维仿生矿化的影响。该研究发现这三种单体均能吸附并固定于胶原纤维上,但只有MDP可以诱导羟基磷灰石晶体于I型胶原纤维内沉积。

## 2 牙本质仿生再矿化策略在体外实验中的探索

### 2.1 树脂-牙本质粘接混合层的仿生再矿化

树脂-牙本质粘接主要依靠粘接剂渗入脱矿的胶原纤维网内,二者相互交联缠绕形成微机械固位。然而,受限于树脂的梯度渗透性,混合层中存在大量的不全渗透的脱矿胶原纤维暴露于粘接界面。在外源性机械力和内源性酶的作用下,裸露的胶原纤维逐渐发生蠕变和循环疲劳断裂,使树脂-牙本质粘接的强度和稳定性都受到极大的破坏。而引导组织再矿化技术通过实现脱矿胶原纤维的再矿化,隔绝了内、外源性的刺激,同时恢复了自然矿化牙本质的硬度,从而保持了树脂-牙本质粘接界面的稳定性。

应用引导组织再矿化系统可成功诱导全酸蚀树脂牙本质粘接界面的再矿化。古丽莎等<sup>[27]</sup>在3个月后于透射电子显微镜(transmission Electron

Microscopy, TEM)下观察到纤维内和纤维间有明显的磷灰石晶体沉积,晶体的C-轴与胶原纤维的纵轴方向一致。其中,靠近牙本质表面的“水树”区域和靠近复合树脂界面的水分子富集区域是磷灰石晶体沉积的主要地带,这就弥补了由于亲水性树脂单体成分吸水析出造成的薄弱区,有利于提高树脂牙本质粘接的耐久性。体外长期微拉伸粘接强度测试结果也证实仿生再矿化能够有效维持树脂牙本质粘接强度,延长树脂牙本质粘接的耐久性,同时这种再矿化系统对粘接剂层的潜在空隙有再矿化的潜能。对粘接界面进行纳米动态机械分析结果证实混合层中裸露的胶原再矿化后,其复数模量、储能模量和损耗模量达到了自然矿化牙本质的水平。

通过TEM动态追踪粘接界面的再矿化过程,上述引导组织再矿化过程大致可分为以下几个阶段:①超饱和矿化中的钙离子和磷酸氢根离子经过自组装形成稳定的微粒单元——直径约0.87 nm的前成核聚合物,又称预成核簇(pre-nucleation cluster, PNC),PNC由枝状的三磷酸钙(Ca<sub>2</sub>(HPO<sub>4</sub>)<sub>3</sub><sup>2-</sup>)离子聚集体构成,它在溶液中螯合一个钙离子并进一步聚集,形成更大的球状ACP(10~30 nm)。PNC是热力学稳定的聚集体,可存在于各种超饱和或者不饱和的矿化体系中,并且在从离子簇到最终羟基磷灰石晶体的逐步转化过程中,最初的PNC结构始终存在<sup>[14]</sup>。在缺乏聚羧酸类电解质如PAA、聚天冬氨酸(polyaspartic acid, PAsp)等的稳定作用下,PNC迅速通过一系列相转换形成磷灰石晶体沉淀。而在PAA、PAsp等存在的条件下,溶液中的ACP表现为液体性质和高度可塑性特征,能够渗入牙本质胶原纤维内部间隙中;②含磷酸酯的高聚电解质如PVPA可粘附于牙本质胶原纤维表面的特定位点,使其成为矿化活性模版,并与带负电的ACP相互作用,诱导ACP在胶原纤维内成核;③ACP通过自下而上的成晶模式在胶原纤维内的空间里进一步成长、成熟,形成沿着胶原纤维长轴有序排列的磷灰石纳米微晶体;④磷灰石微晶体不断生长,最终完成牙本质胶原纤维内矿化。

将引导组织再矿化技术应用于自酸蚀树脂牙本质粘接界面时,同样可以实现脱矿胶原基质的再矿化。不同于全酸蚀粘接剂,自酸蚀粘接剂含有的酸性树脂单体可以同时酸蚀并渗透进入牙本质,产生不同厚度的完全或部分脱矿的胶原基质。其中,强酸度的自酸蚀粘接剂脱矿能力较强,

形成完全脱矿的较厚的混合层(约5  $\mu\text{m}$ 厚);中等酸度的自酸蚀粘接剂产生的混合层(约2  $\mu\text{m}$ 厚)基底部部分脱矿,而表层完全脱矿。这两种自酸蚀粘接剂形成的混合层经引导组织再矿化处理3个月后,TEM下观察可见明显的仿生再矿化现象,由于胶原纤维间的空隙被树脂单体所占据,因此再矿化主要发生在纤维内的空间里(即纤维内矿化)。而低酸度的自酸蚀粘接剂脱矿能力较弱,形成的是部分脱矿的较薄的混合层( $< 0.5 \mu\text{m}$ ),其中含有大量的残余籽晶,因此矿物质可能是以籽晶为模板通过外延性沉积而实现再矿化<sup>[28]</sup>。

## 2.2 龋坏牙本质的仿生再矿化

根据致龋微生物的分布和硬组织的脱矿情况,龋坏牙本质可以分为外部感染层和内部脱矿层。目前微创牙科学理念强调保留龋坏内层脱矿牙本质,并以此为粘接基底进行修复。这种损伤最小化的原则避免了不必要的牙体损耗,并最大限度地发挥牙齿的愈合潜能<sup>[28]</sup>。然而,在致龋菌的作用下,内层脱矿牙本质在结构和性质上均发生了改变。与正常牙本质相比,以龋坏内层脱矿牙本质为粘接基底进行修复时,粘接剂与脱矿牙本质界面间的混合层更厚且疏松,树脂成分更易降解,胶原纤维也更易变性。因此,如何提高粘接剂渗透的内层脱矿牙本质的矿化效果是临床治疗龋病亟需解决的问题。

刘燕等<sup>[29]</sup>用PH循环方式制备出牙本质龋脱矿模型,将PAA和三偏磷酸钠(sodium trimetaphosphate, STMP)联合应用于引导组织再矿化中。其中,PAA将矿化液中的ACP稳定在流体性、可塑性强的状态。而STMP作为模版诱导剂,引导PAA稳定的ACP纳米前体在胶原纤维的特殊位点沉积、成核,最终在脱矿牙本质的全层形成纤维内和纤维间再矿化,其中晶体的大小、方向及结构层次与天然矿化牙本质类似。Burwell等<sup>[30]</sup>应用聚天冬氨酸作为单组份的非胶原蛋白类似物,对人工龋损进行再矿化。结果显示再矿化后的牙本质胶原纤维的弹性模量恢复至正常牙本质的水平(18~20 GPa),机械性能比再矿化之前提高了74%。随后,该课题组在上述矿化体系中引入氟化物,使磷灰石晶体同时沉积在纤维内和纤维间的空隙,形成的再矿化牙本质在纳米微结构上更加类似于天然矿化牙本质<sup>[31]</sup>。这些研究证实了使用引导组织再矿化技术修复脱矿牙本质的结构和功能的可行性,为牙本质仿生再矿化策略向临床应用的转化

提供了体外实验基础。

## 3 牙本质仿生再矿化策略的临床转化

### 3.1 引导组织再矿化技术的临床转化

在引导组织再矿化技术向临床应用转化的过程中,需要解决的首要问题就是如何在再矿化过程中持续补充矿化所需的各种有效成份,为此,Gu等<sup>[32]</sup>提出了三步法输送仿生再矿化原材料的构想,主要包括:首先将PVPA、STMP、三聚磷酸钠(sodium tripolyphosphate, STPP)等含有磷灰石晶体成核诱导物的治疗性底剂应用于酸蚀脱矿后的牙本质表面,使成核诱导物渗入脱矿胶原基质内并结合在特定位点上,将胶原纤维转化为矿化活性模板;其次,在牙本质粘接剂中添加PAA成份,并且PAA能够在粘接剂固化后从中缓慢、持续地释出,从而保证仿生再矿化过程中所必须的ACP纳米前体的形成和稳定;最后,选用含钙、磷离子的水门汀树脂作为垫底剂修复牙本质缺损,为仿生再矿化提供矿物质离子来源。

Gu等<sup>[32]</sup>在体外将磷灰石晶体成核诱导物(STMP)应用于脱矿牙本质表面,成功诱导了磷灰石晶体在胶原纤维内的有序沉积。Huang等<sup>[28]</sup>则在亲水性树脂中混入羧甲基壳聚糖、磷酸氢二钾(作为磷酸根离子来源)和Portland水门汀(作为钙离子来源),利用这种改性树脂实现了人工龋损牙本质粘接界面的再矿化。引导组织再矿化系统向临床转化的探索初见成效。然而,当矿物质离子从树脂中持续释出后,这种改良树脂的机械强度会随之不断下降,这就严重限制了材料的使用寿命,也使这类研究目前仍然局限于体外模拟阶段,无法真正应用于口内牙体组织缺损的修复治疗。因此如何在缓慢释放矿化所需有效成份的同时保持母体材料的机械性能不改变成为引导组织再矿化技术实现临床转化需要克服的关键问题。

### 3.2 仿生矿化填料输送系统

针对上述问题,有研究用喷雾干燥技术直接将ACP制备成纳米微球,并与微量的纳米银颗粒混匀后添加于牙本质粘接剂中。尽管在扫描电镜下观察发现使用这种方法也实现了脱矿牙本质的再矿化,并且由于微量银的存在有效抑制了牙本质表面菌斑生物膜的形成,但是这种方法制备的ACP纳米微球呈固态,失去了流动性和可塑性,而且与胶原纤维孔区(40 nm)相比,其直径(116 nm)过大,无法进入胶原纤维内部,最终形成的都是纤

维间和纤维外矿化<sup>[33]</sup>。另有研究发现富含羧基的羧甲基壳聚糖(carboxymethyl chitosan)具有模拟DMP1功能的作用,可以稳定溶液中的钙磷离子形成羧甲基壳聚糖/无定形磷酸钙纳米混合物(CMC/ACP),并将其应用于再矿化实验中,但这种混合物只能在液体状态下有效实现人工龋损的再矿化<sup>[34]</sup>,当制备成纳米颗粒时,仍然存在粒径过大的问题。

一种理想的原位仿生再矿化策略是预先制备聚合物稳定的ACP前体(PAA-ACP),使用介孔硅纳米材料作为输送矿化成份的系统,装载PAA-ACP后再添加到牙本质粘接剂里,应用于经成核诱导物预处理的牙本质粘接面。粘接剂固化后PAA-ACP从介孔硅中缓释进入脱矿胶原纤维,逐渐完成纤维内再矿化。由于介孔硅材料具有巨大的比表面积和高度有序的三维孔道结构,且孔径大小可在较宽的范围内变化,因此是运输不同尺寸的PAA-ACP前体的理想载体;同时这种方法不依赖于硅酸盐水门汀或复合树脂作为钙磷来源,且介孔硅结构稳定,因此PAA-ACP的不断释放并不会导致粘接强度的下降。目前已有研究在粘接剂中使用胺功能化的介孔硅加载液态PAA-ACP,在体外成功实现了牙本质胶原的纤维内再矿化<sup>[35]</sup>。然而在将这种再矿化方法应用于临床治疗之前,仍需考量介孔硅输送系统的生物相容性,以及牙本质小管液等对原位再矿化的影响。

虽然引导组织再矿化技术的临床转化仍有很长的路程要走,不过随着研究的深入,相信在不久的将来,对脱矿牙本质仿生再矿化的研究会在逐步遇到问题并克服问题的过程中走向成熟,最终为龋病的临床治疗带来福音。

#### 参考文献

- [1] Toledano M, Cabello I, Osorio E, et al. Zn - containing polymer nanogels promote cervical dentin remineralization[J]. Clin Oral Investig, 2019, 23(3): 1197-1208.
- [2] Yuan GH, Chen L, Feng JS, et al. Dentin sialoprotein is a novel substrate of matrix metalloproteinase 9 *in vitro* and *in vivo*[J]. Sci Rep, 2017, 7: 42449.
- [3] Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, et al. Global burden of untreated caries: a systematic review and Meta regression[J]. J Dent Res, 2015, 94(5): 650-658.
- [4] Dorvee JR, Gerkowicz L, Bahmanyar S. Chondroitin sulfate is involved in the hypercalcification of the organic matrix of bovine peritubular dentin[J]. Arch Oral Biol, 2016, 62: 93-100.
- [5] Cao CY, Mei ML, Li QL, et al. Methods for biomimetic remineralization of human dentine: a systematic review[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(3): 4615-4627.
- [6] Chen Y, Zhang Y, Ramachandran A, et al. DSPP is essential for normal development of the dental-craniofacial complex[J]. J Dent Res, 2016, 95(3): 302-310.
- [7] Ritchie H. The functional significance of dentin sialoprotein-phosphoryn and dentin sialoprotein[J]. Int J Oral Sci, 2018, 10(4): 31.
- [8] Rodrigues MC, Natale LC, Arana-Chaves VE, et al. Calcium and phosphate release from resin-based materials containing different calcium orthophosphate nanoparticles[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2015, 103(8): 1670-1678.
- [9] Parkinson CR, Hughes N, Hall CJ, et al. Three randomized clinical trials to assess the short-term efficacy of anhydrous 0.484% w/w stannous fluoride dentifrices for the relief of dentin hypersensitivity[J]. Am J Dent, 2016, 29(1): 25-32.
- [10] Freda NM, Veitz-Keenan A. Calcium sodium phosphosilicate had some benefit on dentine hypersensitivity[J]. Evid Based Dent, 2016, 17(1): 12-13.
- [11] Chiari MD, Rodrigues MC, Xavier TA, et al. Mechanical properties and ion release from bioactive restorative composites containing glass fillers and calcium phosphate nano-structured particles [J]. Dent Mater, 2015, 31(6): 726-733.
- [12] Khvostenko D, Hilton TJ, Ferracane JL, et al. Bioactive glass fillers reduce bacterial penetration into marginal gaps for composite restorations[J]. Dent Mater, 2016, 32(1): 73-81.
- [13] Wang H, Xiao Z, Yang J, et al. Oriented and ordered biomimetic remineralization of the surface of demineralized dental enamel using HAP/ACP nanoparticles guided by glycine[J]. Sci Rep, 2017, 12(7): 40701.
- [14] Jiao K, Niu LN, Ma CF, et al. Complementarity and uncertainty in intrafibrillar mineralization of collagen[J]. Adv Funct Mater, 2016, 26(38): 6858-6875.
- [15] Cao CY, Mei ML, Li QL, et al. Methods for biomimetic mineralisation of human enamel: a systematic review[J]. Materials, 2015, 8(6): 2873-2886.
- [16] Sauro S, Osorio R, Watson TF, et al. Influence of phosphoproteins' biomimetic analogs on remineralization of mineral depleted resin-dentin interfaces created with ion releasing resin based systems[J]. Dent Mater, 2015, 31(7): 759-777.
- [17] Qi YP, Ye Z, Fok A, et al. Effects of molecular weight and concentration of poly(acrylic acid) on biomimetic mineralization of collagen[J]. ACS Biomater Sci Eng, 2018, 4(8): 2758-2766.
- [18] Wingender B, Bradley P, Saxena N, et al. Biomimetic organization of collagen matrices to template bone-like microstructures[J]. Matrix Biol, 2016, 52-54: 384-396.
- [19] Yu L, Martin IJ, Kasi RM, et al. Enhanced intrafibrillar mineralization of collagen fibrils induced by brushlike polymers[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2018, 10(34): 28440-28449.
- [20] Jee SE, Zhou J, Tan J, et al. Investigation of ethanol infiltration into demineralized dentin collagen fibrils using molecular dynamics simulations[J]. Acta Biomater, 2016, 36: 175-185.

- [21] Xiao Y, Hui S, Chun D, et al. Recent developments and applications of bioinspired dendritic polymers[J]. *Polym Chem*, 2015, 6(5): 668-680.
- [22] Xie F, Wei X, Li Q, et al. *In vivo* analyses of the effects of polyamidoamine dendrimer on dentin biomineralization and dentinal tubules occlusion[J]. *Dent Mater J*, 2016, 35(1): 104-111.
- [23] Wang T, Yang S, Wang L, et al. Use of multifunctional phosphorylated PAMAM dendrimers for dentin biomimetic remineralization and dentinal tubule occlusion[J]. *RSC*, 2015, 5(15): 11136-11144.
- [24] Liang K, Xiao S, Wu J, et al. Long-term dentin remineralization by poly(amido amine) and rechargeable calcium phosphate nanocomposite after fluid challenges[J]. *Dent Mater*, 2018, 34(4): 607-618.
- [25] Feitosa VP, Oglari FA, Van Meerbeek B, et al. Can the hydrophilicity of functional monomers affect chemical interaction?[J]. *J Dent Res*, 2014, 93(2): 201-206.
- [26] Nurrohman H, Nakashima S, Takagaki T, et al. Immobilization of phosphate monomers on collagen induces biomimetic mineralization[J]. *Biomed Mater Eng*, 2015, 25(1): 89-99.
- [27] 古丽莎, 亓益品, 麦穗, 等. 牙本质混合层原位再矿化模型的构建及作用[J]. *中华口腔医学研究杂志(电子版)*, 2014, 8(2): 97-103.  
Gu Lisha, Yuan Yipin, Mai Sui, et al. An in-situ remineralization design of hybrid layer with the use of sodium tripolyphosphate as a therapeutic primer[J]. *Chin J Stomatol Res (Electronic Edition)*, 2014, 8(2): 97-103.
- [28] Huang Z, Qi Y, Zhang K, et al. Use of experimental-resin-based materials doped with carboxymethyl chitosan and calcium phosphate microfillers to induce biomimetic remineralization of caries-affected dentin[J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2019, 89: 81-88.
- [29] 刘燕. 脱矿牙本质-树脂混合层的引导组织再矿化机制及应用研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2011.  
Liu Yan. Studies of guided tissue remineralization of the hybrid layer created in caries-affected dentin: mechanism and application [D]. WU Han: Huazhong University of Science & Technology, 2011.
- [30] Burwell AK, Thula-Mata T, Gower LB, et al. Functional remineralization of dentin lesions using polymer-induced liquid-precursor process[J]. *Plos One*, 2012, 7(6): e38852-e38852.
- [31] Saxena N, Cremer MA, Dolling ES, et al. Influence of fluoride on the mineralization of collagen *via* the polymer-induced liquid-precursor (PILP) process[J]. *Dent Mater*, 2018, 34(9): 1378-1390.
- [32] Gu LS, Bradford PH, Dwayne DA, et al. Changes in stiffness of resin-infiltrated demineralized dentin after remineralization by a bottom-up biomimetic approach[J]. *Acta Biomater*, 2010, 6(4): 1453-1461.
- [33] Osorio R, Osorio E, Aguilera FS, et al. Silver improves collagen structure and stability at demineralized dentin: a dynamic-mechanical and Raman analysis[J]. *J Dent*, 2018, 79: 61-67.
- [34] Chen Z, Cao SS, Wang HR, et al. Biomimetic remineralization of demineralized dentine using scaffold of CMC/ACP nanocomplexes in an *in vitro* tooth model of deep caries[J]. *Plos One*, 2015, 10(1): e0116553.
- [35] Zhang W, Luo XJ, Niu LN, et al. Biomimetic intrafibrillar mineralization of type I collagen with intermediate precursors loaded mesoporous carriers[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11199.

(编辑 张琳, 曾曙光)



官网



公众号