

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2024.04.001

· 专家论坛 ·

金属纳米酶在菌斑生物膜相关口腔疾病防治中的研究进展

李昊, 廖胤涵

广西医科大学口腔医学院 附属口腔医院, 广西口腔颌面修复与重建研究重点实验室, 广西 南宁(530021)

【摘要】 口腔菌斑生物膜作为多种细菌生存、代谢的基础,使口腔细菌难以被清除。随着抗生素滥用造成的耐药菌群出现,菌斑生物膜相关口腔疾病的防治难度进一步增加。尽管目前在研究生物膜形成、破坏有关机制方面取得了一定进展,但可用于临床的有效治疗方案仍较缺乏。金属纳米酶具有纳米粒子的物理特性及类似天然酶的催化活性。金属纳米酶的纳米级尺寸提供了更大的比表面积,在发挥类酶作用产生大量活性氧的同时促进活性氧快速扩散到活性催化位点,增强纳米酶的抗氧化特性;同时金属纳米酶易通过电化学还原法、溶剂热合成法、微波辅助合成法等方法制取,且具有产生高浓度的羟基自由基、催化牙菌斑生物膜降解、氧化应激裂解葡聚糖抑制生物膜形成、释放金属离子杀灭细菌的潜力,有望成为防治口腔菌斑生物膜相关口腔疾病的新选择。金属纳米酶可通过口服、静脉注射、呼吸等方式进入生物体,但可能引发肺毒性、肝脏毒性、神经毒性等潜在毒性效应。在复杂的生物环境下,金属纳米酶毒性的发生可能涉及多重机制,其作用机制和安全性评价有待深入研究。本文拟从金属纳米酶的特性、抗菌机制、生物毒性及其在菌斑生物膜相关口腔疾病防治中的应用等多个方面阐述金属纳米酶的研究进展,为口腔疾病的防治提供新思路。

【关键词】 金属纳米酶; 纳米酶; 人工酶; 人工纳米材料; 纳米粒子; 活性氧; 氧化应激; 菌斑生物膜; 生物膜; 口腔疾病; 生物毒性

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2024)04-0241-08

【引用著录格式】 李昊, 廖胤涵. 金属纳米酶在菌斑生物膜相关口腔疾病防治中的研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2024, 32(4): 241-248. doi:10.12016/j.issn.2096-1456.2024.04.001.

Research progress on the application of metal nanoenzymes in the prevention and treatment of plaque biofilm-associated oral diseases LI Hao, LIAO Yinhan. College & Affiliated Hospital of Stomatology, Guangxi Medical University; Guangxi Key Laboratory of Oral and Maxillofacial Rehabilitation and Reconstruction, Nanning 530021, China

Corresponding author: LI Hao, Email: sherrylee2011@126.com; Tel: 86-771-5358349

【Abstract】 Oral plaque biofilms are one of the bases for the survival and metabolism of different bacteria. With the emergence of drug-resistant bacteria due to antibiotic abuse, the prevention and treatment of plaque biofilm-associated oral diseases are becoming increasingly difficult. Although some research progress has been made in the field of biofilm formation and destruction, there is still a lack of effective clinical therapies for plaque biofilm-associated oral diseases. Metal nanoenzymes possess the physical properties of nanoparticles and exhibit catalytic activity similar to that of natural enzymes. The nanoscale size of metal nanoenzymes provides a greater specific surface area to help reactive oxygen species spread rapidly to active catalytic sites and improve the antioxidant properties of nanoenzymes. Additionally, metal nanoenzymes are easy to produce using different methods, such as electrochemical reduction, solvent thermal synthesis and microwave-assisted synthesis. Moreover, metal nanoenzymes can produce a high concentration of hydroxyl radicals, catalyze plaque biofilm degradation, lyse glucan and inhibit biofilm formation by oxidative stress reactions, as well as kill bacteria by releasing metal ions. Thus, metal nanoenzymes are expected to become a new option for the prevention and treatment of oral plaque biofilm-associated diseases. However, metal nanoenzymes can enter organisms through

【收稿日期】 2023-09-26; **【修回日期】** 2023-12-19

【基金项目】 国家自然科学基金项目(82060195)

【通信作者】 李昊, 教授, 博士, Email: sherrylee2011@126.com, Tel: 86-771-5358349



微信公众号

oral, intravenous and respiratory routes, triggering potential toxic effects such as pulmonary toxicity, hepatotoxicity and neurotoxicity. In a complex biological environment, the occurrence of metal nanoenzymes toxicity may involve multiple mechanisms, and the mechanism of action and safety need to be thoroughly investigated. In this paper, we intend to describe the research progress on metal nanoenzymes through an overview of their properties, antibacterial mechanisms, biotoxicity and applications in the prevention and treatment of oral plaque biofilm-related diseases, which may provide new ideas for the prevention and treatment of these diseases.

【Key words】 metal nanoenzymes; nanoenzymes; artificial enzymes; artificial nanomaterials; nanoparticles; reactive oxygen species; oxidative stress; plaque biofilm; biofilm; oral disease; biological toxicity

J Prev Treat Stomatol Dis, 2024, 32(4): 241-248.

【Competing interests】 The authors declare no competing interests.

This study was supported by the grants from National Natural Science Foundation of China (No.82060195).

口腔作为消化道的起始部分,为多种细菌、酵母、病毒等微生物提供了适宜的生存环境,其中细菌作为常驻微生物的主要成分,大多数以依附在细菌生物膜上的形式生长,这种生物膜结构使细菌对外来物质带来的伤害具有很强的抵抗力。这种生物膜的存在是龋病、牙龈炎、牙周炎、念珠菌病、种植体周围炎等多种口腔慢性感染性疾病的危险因素;同时,还可引起胃肠道和心血管系统的疾病等全身疾病^[1-2]。因此,控制该生物膜具有重要的临床意义。

抗生素的广泛使用、滥用导致多重耐药菌的出现,为细菌感染的控制造成了更多的困难。与传统抗生素相比,金属纳米酶作为一种纳米酶、一种新型的生物安全材料,在病原微生物的快速检测以及细菌感染性疾病的防治中表现出了良好的潜力,为开发口腔新型抑菌药物提供了契机。纳米酶是一种具有类酶催化活性的纳米材料,具有纳米粒子粒径小、能在生理条件下催化天然酶底物的特点,并且与天然酶或其他人工模拟酶相比,纳米酶具有易制取、成本低、稳定性高的优点^[3],因此广泛应用于多个医学领域,包括用于制备医疗器械与伤口敷料的纳米粒子抗菌涂层以及载药释药的纳米粒子。

近年来纳米酶在抑菌领域的应用研究较多,但有关其用于口腔菌斑生物膜的报道较少。本文拟从金属纳米酶的特性、抗菌机制、生物毒性及其在口腔菌斑生物膜相关疾病防治中的应用等多个方面阐述金属纳米酶的研究进展,为该疾病的防治提供新思路。

1 口腔菌斑生物膜的结构特性、与疾病的关系

人类口腔中有700种不同类型的微生物^[4],包

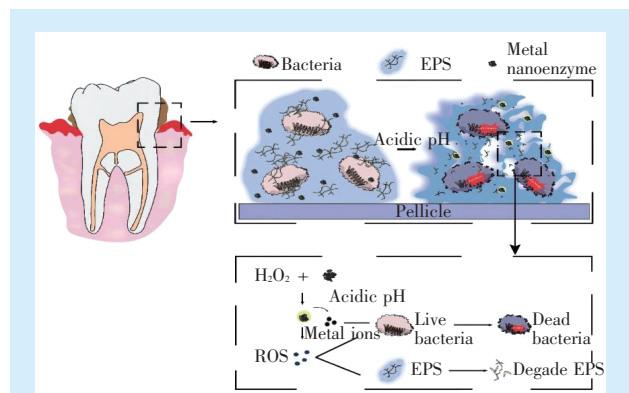
括细菌、真菌、病毒、支原体等。其中,细菌能否发挥致病性,与口腔菌斑生物膜的存在有密切联系^[5]。口腔微生态中由蛋白质、氨基酸、碳水化合物、脂类组成的细胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)所包裹的未矿化细菌群体称为口腔菌斑生物膜(以下简称生物膜),是口腔细菌生存、代谢和致病的基础^[6-7]。与游离细菌相比,紧密附着于生物膜中的细菌毒力与耐药性更强,能够有效抵抗宿主的免疫反应^[8]。口腔内生物膜根据定植部位不同可分为龈上生物膜、龈下生物膜、种植体周围生物膜、颊黏膜生物膜、舌背生物膜等。不同的定植部位由于其所处的生长环境不同,具有不同的优势菌群和微生态组成,是多种口腔疾病发生发展的重要原因,并与某些全身疾病相关^[9]。任何口腔生物膜相关疾病的发生都不是单一或几种优势菌的作用,而是复杂的口腔微生态中多细菌作用的结果^[10]。此外,口腔独特的环境,例如狭窄不易清洁的牙间隙、黏膜的皱襞给细菌提供了良好的生长环境,使生物膜相关口腔疾病的防治增加了难度。

目前,临床针对生物膜导致的口腔疾病主要治疗手段为机械清除治疗,但是由于存在器械难以到达的部位,需联合局部或全身药物治疗巩固疗效,例如:口服甲硝唑片,牙周袋局部涂布多西环素、米诺环素凝胶^[11],口腔含漱3%过氧化氢、0.12%~0.2%复方氯己定含漱液等。近年来,随着抗菌药物的滥用,耐药“超级细菌”日益增多,且口腔生物膜的酸性环境可降低多种抗生素的疗效^[6],研发新型药物代替传统抗菌药物,减少细菌耐药性产生并提高药物疗效,在生物膜相关口腔疾病防治方面已成为亟待解决的问题。

2 金属纳米酶特性及抗生物膜机制

自2007年Gao等^[12]发现磁性氧化铁(Fe_3O_4)纳米粒子具有类似过氧化氢酶中的酶模拟活性以来,出现了诸多具备天然酶催化活性的人工纳米材料研究报道。纳米酶是一种新型的具有类天然酶催化活性的纳米粒子^[13],具有廉价易得、易制备^[14]、结构稳定、可批量生产等优点,在生物医学领域具有重要的应用前景。作为人工纳米酶之一,金属纳米酶主要是一类含有金属元素(金、银、铂、铁、锌等)的具有类酶活性的纳米粒子。其中,金属纳米酶相较于普通金属纳米粒子,由于具有氧化还原酶催化活性的特点,成为目前抗口腔生物膜研究中的主流材料之一,根据成分不同,可分为:金属氧化物、金属纳米材料和金属硫化物等^[15-16]。包括金属纳米酶在内的纳米粒子,具有独特的物理特性,如粒子直径小(1~100 nm)、易分散与团聚、具有磁性、光热学性质、X射线吸收、荧光性能等^[12, 17],在光热治疗、疾病诊断与治疗、成像、信号检测等方面具有广阔的应用前景^[18-20]。

金属纳米酶能通过释放金属离子,进入细菌细胞膜,作用于核酸、蛋白质,从而破坏细菌的正常代谢;部分纳米粒子具有尖锐外形,破坏细胞轮廓,使细菌细胞膜、细胞壁丧失完整性^[21];某些具有氧化还原酶催化活性的金属纳米酶还可催化产生高浓度的羟基自由基($\cdot\text{OH}$)等发挥杀菌效果^[22](图1)。



Metal nanoenzymes kill bacteria, degrade biofilm and inhibit biofilm formation with releasing metal ions to destroy the normal metabolism of bacteria, utilizing its sharp shape to destroy the outline of bacteria, exerting catalytic function to generate ROS under the acidic condition. ROS: reactive oxygen species; EPS: extracellular polymeric substances

Figure 1 Mechanisms associated with metal nanoenzyme against dental plaque biofilm

图1 金属纳米酶抗菌斑生物膜相关机制

在传统观念中,纳米材料具有生物与化学惰性,一般用于制作负载药物或吸附其他功能性物质的载体^[23-24];而天然酶具有高效特异的催化性能,常用于各种生物学反应,尤其氧化酶(oxidase, OXD)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)以及过氧化物酶(peroxidase, POD)等对活性氧(reactive oxygen-species, ROS)产生的调控备受关注,其中 OXD、SOD、POD可提高 ROS 水平, CAT、GPx 表现为降低 ROS 水平,实现 ROS 可控的调节。ROS 是正常细胞内代谢的副产物,包括过氧化氢(H_2O_2)、 $\cdot\text{OH}$ 、超氧化物($\text{O}_2\cdot^-$)与单线态氧($^1\text{O}_2$);但过量的 ROS 会通过 $\cdot\text{OH}$ 介导的连锁反应诱导氧化应激,进而引起细胞损伤,因此可用于杀菌。金属纳米酶可催化产生高浓度的 $\cdot\text{OH}$ 而导致氧化应激,通过降解生物膜基质中多糖、脂类及蛋白质,从而破坏生物膜,降低细菌活性,使细菌处于漂浮状态、失去生物膜保护,恢复对抗菌药物的敏感性^[21-22]。不仅如此,金属纳米酶还可以表现出光催化抗菌作用,例如,二氧化钛(TiO_2)纳米酶可被紫外线诱导,协同增效杀伤细菌^[25]。将类 OXD 或 POD 活性的金属纳米酶与双氧水联合使用,利用其在酸性条件下催化 H_2O_2 转化为 $\cdot\text{OH}$ 的特性,可进一步增强双氧水在口腔中的杀菌效果^[26]。此外,金属纳米酶可通过活化 H_2O_2 产生大量 $\cdot\text{OH}$,氧化应激裂解细胞外基质的重要组成部分葡聚糖^[26],从而抑制生物膜的形成。综上,纳米酶的出现突破纳米材料仅作为载体使用的思路,解决了天然酶纯化困难、在体内易失活、不易保存和使用等问题,作为一种新型的生物材料,金属纳米酶可通过多种机制共同作用发挥抑菌作用,为纳米材料在生物医学领域的应用开辟了新发展方向。

3 金属纳米酶的生物毒性及对策

随着纳米粒子在生物医学领域的广泛应用,其生物毒性或安全性也受到越来越多的关注。研究显示,纳米粒子的尺寸、形状、表面特征,包括电荷和其他物理性质,这些特征相互作用,可以改变纳米粒子的毒性^[27]。由于粒子直径小,金属纳米酶可通过呼吸道进入人体,并从肺部运输到其他组织并扩散到全身,大多在肝脏、肾脏、脑、脾脏和心脏等器官中被吸收;还可穿透皮肤扩散到真皮层;经口服在胃肠道中积累^[28]。大剂量的金属纳

米粒子会导致体质量减轻,并增加血液、肺部、肝脏、大脑、肾脏和脾脏的氧化应激^[28]。同时,纳米粒子可以穿过胎盘和血脑屏障,处于围产期的啮齿动物长期暴露于纳米粒子会导致后代肠道生态失调、肾脏损伤和神经行为改变;对生殖系统也存在一定负面影响^[29-30]。金属纳米粒子难以被代谢,多源于其表面稳定性及易团聚性。因此,可用天然或合成的聚合物(聚乙二醇、磷脂、叶酸和多肽等)对金属纳米酶表面进行包裹,改变其表面性质及粒径大小,提高它们的生物相容性,例如,聚乙二醇具有生物可降解性和生物相容性,可作为纳米粒子的涂层,用于降低纳米粒子的细胞毒性,避免皮肤过敏^[31];Xiao等^[32]收集膝状假单胞菌制作仿生膜用于负载纳米硒和锰离子,增强抗肿瘤药物诱导癌细胞死亡效应,且对正常器官毒性极微。

4 影响金属纳米酶抗生物膜性能的主要因素

4.1 粒径大小

大多数研究表明,尺寸越小的金属纳米酶催化活性越强。例如:氧化铈纳米粒子直径越小,铈离子(Ce^{3+})的分数越大,SOD与CAT的催化活性随铈浓度增高而增强^[33]; Fe_3O_4 纳米粒径越小,与底物相互作用的表面体积比更大,催化活性越高^[12]。然而,部分尺寸大的纳米粒子反而具有更好的催化作用,例如,金纳米粒子(Au nanoparticles, Au NPs)的催化性能随着其粒径的减小而下降^[34]。

4.2 形态

纳米材料的形态是影响其催化活性的关键因素。例如,Wang^[3]制备了不同粗细和形态的纳米粒子,比较其类氧化酶性能,结果表明,柱状的纳米管直径最小(70 nm)时,金属纳米酶中离子的扩散速度增加,活性物质的比表面积更大,氧化还原的活性位点更多,催化活性越强;Ge等^[35]通过电子自旋共振法和体外实验双重检测,证明低面能的钯八面体相较于高面能的钯立方体具有更大的内在抗氧化酶活性。

4.3 组成

既往研究指出,通过调节纳米材料各组分的含量可改变其酶催化活性。例如,Chen等^[36]合成金铂多功能纳米酶(AuPt)时发现,当Au:Pt在3:1的情况下表现出最高的酶催化效率。此外,形成双金属或多金属纳米复合材料可增强纳米酶催化反应性能。例如,钯(palladium, Pd)纳米粒子在黑暗中具有类似氧化酶的活性,然而Pd是一种较差等离子体金属,在可见光和近红外光谱区域难以应用于生物医学。Fan等^[37]将金纳米棒作为强等

离子核,在表面包裹一层Pd,得到的Au@PdNRs纳米酶,在近红外区域表现出较强的氧化酶活性。

4.4 表面性质

纳米酶参与的反应大多发生在表面,通过对其增加表面涂层或修饰,改变表面电荷以及活性位点的暴露程度,可对其活性产生影响^[13]。在生理条件下,金纳米团簇(Au nanoclusters, Au NCs)具有较低的类过氧化物酶活性,将肝素包裹在Au NCs表面,在PH=7的环境下,Au NCs对过氧化物酶底物3,3',5,5'-四甲基联苯胺(tetramethylbenzidine, TMB)氧化的催化性能可提高25倍,极大提升Au NCs的催化活性^[38]。

4.5 pH值

研究结果显示,金属纳米酶在酸性条件下表现出的类过氧化物酶的活性,可将 H_2O_2 分解成 $\cdot\text{OH}$;在中性和碱性条件下表现出的类过氧化氢酶的活性,催化 H_2O_2 生成 H_2O 和 O_2 ^[22]。Au NCs在微酸性环境下对TMB的催化活性相较于生理条件下(pH=7.4),提高了近50倍^[39];Cong等^[40]在不同pH值下检测纳米粒子包裹的有效药物的体外释放,研究发现,相较于中性条件,在酸性条件下二氧化锰纳米粒子类过氧化物酶催化速率加快,从而加速药物释放。这些研究提示,pH值对纳米酶的催化性能、生物性能有重要影响。

由此可见,研发高效抗生物膜、清除细菌的金属纳米酶,可通过调控各组分含量、形貌优化、表面改性、微环境调控等手段,使纳米酶表现出类过氧化物酶的高催化活性,引发氧化应激,发挥抗菌效应。

5 金属纳米酶在菌斑生物膜相关口腔疾病防治中的应用

5.1 牙体牙髓病

银(argentum, Ag)是最古老的抗菌金属,Ag纳米粒子杀菌的主要机制是穿透细菌细胞膜,造成物理损伤,产生ROS,并在释放Ag离子后使细菌线粒体功能障碍,最终导致细菌死亡^[41]。Ag纳米粒子已用于抗变形链球菌等致病菌,防治龋病。Motshekga等^[42]采用微波辅助合成法将氧化锌(ZnO)纳米粒子和Ag纳米粒子联合加入漱口水中,发现与分别含ZnO、0.2%氯己定、0.05%氟化钠的漱口水相比,含ZnO与Ag复合纳米粒子的漱口水对变形链球菌的抑菌性更强。氧化亚铜(CuO)纳米粒子对包括变形链球菌在内的多种致病菌均有良好的抑菌效果,且壳聚糖覆盖的 CuO 纳米粒子可以有效治疗继发性龋齿^[43]。由美国食品药品

监督管理局批准的氧化铁纳米粒子(ferumoxylol, Fer)已被证明可破坏顽固性牙菌斑生物膜,与 H_2O_2 结合可抑制龋病的发展,且Huang等^[44]指出当Fer与氟化亚锡联合使用时,具有显著的协同作用,更有效地抑制生物膜的积累和防止牙釉质损伤。具有POD样活性的催化氧化铁纳米粒子与 H_2O_2 协同作用,在酸性环境下产生自由基,加速变形链球菌生物膜的降解并杀死嵌入的细菌,从而有效抑制龋齿的发生。此外,催化氧化铁纳米粒子在酸性环境中释放微量铁离子,有助于减少羟基磷灰石的酸蚀,阻止牙体硬组织脱矿^[26]。氧化锌也可作为口腔材料改良的纳米载体,与其他金属纳米酶结合,可增强粘接剂、树脂等传统牙科材料的抗菌能力和力学性能^[45]。在牙髓病治疗中,粪肠球菌引起的根管再感染是引起根管治疗失败的主要原因,且复杂的根管解剖结构易使根管内生物膜清除困难。生物合成的银纳米粒子(Ag nanoparticles, Ag NPs)对粪肠球菌具有抗菌性,研究证实100 ppm的Ag NPs溶液作为冲洗剂的抗菌效果优于2.5%次氯酸钠^[46-47]。通过建立体外模型,Bukhari等^[48]证实具有POD活性的氧化铁纳米粒子可增强根管表面和牙本质小管的抗菌活性。

5.2 牙周病

Lahiri等^[49]以蝶豆花为原料制备ZnO纳米粒子,观察到该粒子在相当长的一段时间内表现出强稳定性,并且比传统抗生素更具有优越性,对粪芽孢杆菌和牙龈芽孢杆菌生物膜具有高效的清除作用。近年来,金属纳米酶修饰光敏剂,协同光动力疗法高效抗菌已得到科学家们的持续关注。牙周炎患者的病损部位往往较深,如何使药物到达深部组织且保持有效浓度是一项巨大挑战。Sun等^[50]及其团队在前期研究的基础上,将光敏剂和金属纳米酶相结合,利用可见光与近红外光的穿透力,制备了含二氢卟吩e6(chlorine6, Ce6)、香豆素6(coumarin6, C6)与 Fe_3O_4 的多功能纳米粒子 Fe_3O_4 -silane@Ce6/C6,可高效杀伤牙周组织深层病原菌,实现光动力-化学动力协同治疗牙周炎。Wang等^[51]制备富含钙离子的纳米材料,研究其对含有牙龈卟啉单胞菌、中间普氏菌、戈氏链球菌、内氏放线菌等9种牙周优势菌生物膜的杀菌效果。结果表明,该新型纳米复合材料含有双重抗生物膜功能,有望抑制牙周病原体,保护牙周组织。

5.3 种植体周围炎

种植体周围生物膜是导致牙种植周围炎、牙种植失败的重要原因之一,应用高效抗菌剂有助

于防治种植体周围炎、并提高种植成功率。钛(titanium, Ti)种植体因其良好的生物相容性、高强度而广泛应用于牙列缺损、缺失的种植修复中,对Ti种植体表面改性、提高其抗菌性是防治种植体周围炎的新思路。有学者将0.05 ppm的AgNPs负载于Ti表面,并证实其对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌均有显著抗菌活性^[52]。Zhong等^[53]采用层层自组装的方式在Ti表面制备了纳米银负载壳聚糖/透明质酸抗菌涂层,该涂层在实验前4 d对游离细菌和生物膜上附着的细菌杀伤率可达100%,14 d后抑菌效果仍保持在65%~90%。以上研究为利用金属纳米酶预防早期种植体相关感染提供了有力的证据。

5.4 正畸相关口腔疾病

正畸治疗时,正畸矫治器易导致口腔内菌斑堆积、生物膜形成,如不仔细清洁,易造成多种口腔疾病的发生。虽然口腔卫生状况与患者依从性息息相关,但患者的口腔清洁能力受多种因素的影响,即使是依从性高的患者也常出现菌斑堆积、罹患生物膜相关口腔疾病。为增强菌斑控制效果,Toodehzaeim等^[54]在正畸托槽粘接剂中加入CuO纳米酶,提高了抗菌性能,且未对粘接强度产生不利影响。此外,由于生物膜易于积聚在正畸配件的不规则结构表面,纳米酶也用于正畸配件表面。用ZnO纳米酶修饰的镍钛弓丝,表面涂层可稳定不脱落,在增强弓丝的摩擦性与耐腐蚀性能同时,具有优异的抗菌活性与生物相容性,可实现更有效、安全的正畸治疗^[55]。

金属纳米酶因其比表面积高、形貌多样、表面活性位点多等优点,可能作为一种潜在的抗菌剂,应用于多种菌斑生物膜相关口腔疾病的防治;此外,尽管某些金属纳米酶由于其潜在毒性受到密切关注,但其本身所具有的特殊性质却能解决诸多难题,为临床研究口腔抗菌材料提供了一个新视角。

6 展望与总结

金属纳米酶用于生物膜相关口腔疾病防治虽具有广阔前景,但要实现临床转化需要诸多研究,主要在以下4个方面:(1)金属纳米酶在临床应用的机制比较复杂,即使同一种纳米酶对不同的细菌,作用效果也不尽相同。例如,Ag NPs与乳酸杆菌作用时,其代谢产物为酸性,可提升Ag NPs的杀菌效果,然而,Ag NPs对大肠杆菌与金黄色葡萄球菌的敏感性较乳酸杆菌低^[56];(2)金属纳米酶在实验研究中的应用环境与临床实际情况仍有差异。

单一模拟菌的实验模型并不能完全替代真实的由多种微生物共同构成的口腔环境,也不能把单一的抑菌作用视为对相应口腔疾病的有效防治。对于口腔生物膜中致病因素之一的病毒,由于对病毒衣壳模型的研究仍处于起步阶段,在研究纳米粒子与病毒蛋白衣壳模型相互作用方面,还有相当大的发展空间^[25]; (3)现有的关于金属纳米酶抑制微生物、抗生物膜作用的研究较局限,只考量其对菌斑及生物膜的清除能力而未考虑其对口腔微生态的潜在影响; (4)纳米粒子在抑菌方面的能力受到肯定的同时,其潜在毒性及对人类健康的潜在威胁,应引起关注;目前将纳米酶用于抑菌方面的研究主要局限在实验室,对患者体内感染治疗的临床研究较少,且安全性研究多以急性毒性研究为主,不能全面了解纳米材料在生物系统中可能产生的长期影响。

针对以上问题,深入研究金属纳米酶临床应用机制,寻找纳米酶与口腔微生态的平衡、克服纳米酶诱导的生物毒性并如何对毒性风险采取预防措施是未来研究的重点。需要全面研究金属纳米酶对不同细菌所处的不同环境所产生的影响;将实验室与临床研究结合起来,进一步探讨对疾病的防治效果;纳米酶的优势在于其物理特性及类酶活性,然而,其物理特性作为一把双刃剑,对生物安全性造成极大影响,因此需要不断挖掘二者之间的平衡点,趋利避害、化弊为利。可基于纳米粒子良好的可设计性,以其独特的结构与功能为导向,构建针对生物膜优势菌群的高效靶向药物,调节微生物之间的相互作用与口腔微生态平衡;对纳米粒子进行包裹修饰,降低其固有毒性,改变粒径大小,提升代谢水平;开发磁性复合材料,可以在磁芯上加载金属纳米粒子,增加残余粒子的回收率^[57];建立长期、标准统一的毒性研究方法,更好地达到提高生物安全性、防治口腔感染的目的。

不同元素组成的金属纳米酶物理特性与功能不同,相同元素组成的金属纳米酶经表面修饰后,得到的产物也不尽相同,并且不同的环境,如pH值改变导致的酸性或碱性微环境、光能或者热能诱导、磁场的环境都会对金属纳米酶造成极大的影响。因此,寻找合适的金属纳米酶,既发挥其抑菌优势,又避免其产生生物毒性,是成功应用于临床治疗的关键。不可否认的是,与传统抗菌药物相比,金属纳米酶具备的多种优势使其有望成为牙膏、漱口水和各种底物涂层等物品的抗菌佐剂,

在防治生物膜相关口腔疾病方面具有更广阔的前景。

【Author contributions】 Li H conceptualized, wrote and revised the article. Liao YH revised the article. All authors read and approved the final manuscript as submitted.

参考文献

- [1] Lee J, Alam J, Choi E, et al. Association of a dysbiotic oral microbiota with the development of focal lymphocytic sialadenitis in IκB-ζ-deficient mice[J]. NPJ Biofilms Microbiomes, 2020, 6(1): 49. doi: 10.1038/s41522-020-00158-4.
- [2] Hindson J. Colonization of the inflamed intestine by an oral bacterium[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2022, 19(12): 751. doi: 10.1038/s41575-022-00705-8.
- [3] Wang J, Wang Y, Zhang D, et al. Intrinsic oxidase-like nanoenzyme Co₃S₂/Co(OH)₂ hybrid nanotubes with broad-spectrum antibacterial activity[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2020, 12(26): 29614-29624. doi: 10.1021/acsami.0c05141.
- [4] Ferrer MD, Mira A. Oral biofilm architecture at the microbial scale[J]. Trends Microbiol, 2016, 24(4): 246 - 248. doi: 10.1016/j.tim.2016.02.013.
- [5] Sterzenbach T, Helbig R, Hannig C, et al. Bioadhesion in the oral cavity and approaches for biofilm management by surface modifications[J]. Clin Oral Investig, 2020, 24(12): 4237 - 4260. doi: 10.1007/s00784-020-03646-1.
- [6] Vyas T, Rapalli VK, Chellappan DK, et al. Bacterial biofilms associated skin disorders: pathogenesis, advanced pharmacotherapy and nanotechnology-based drug delivery systems as a treatment approach[J]. Life Sci, 2021, 287: 120148. doi: 10.1016/j.lfs.2021.120148.
- [7] Jakubovics NS, Goodman SD, Mashburn-Warren L, et al. The dental plaque biofilm matrix[J]. Periodontol 2000, 2021, 86(1): 32-56. doi: 10.1111/prd.12361.
- [8] Nourbakhsh F, Nasrollahzadeh MS, Tajani AS, et al. Bacterial biofilms and their resistance mechanisms: a brief look at treatment with natural agents[J]. Folia Microbiol (Praha), 2022, 67(4): 535-554. doi: 10.1007/s12223-022-00955-8.
- [9] Hajishengallis G. Interconnection of periodontal disease and comorbidities: evidence, mechanisms, and implications[J]. Periodontol 2000, 2022, 89(1): 9-18. doi: 10.1111/prd.12430.
- [10] Hu C, Wang LL, Lin YQ, et al. Nanoparticles for the treatment of oral biofilms: current state, mechanisms, influencing factors, and prospects[J]. Adv Health Mater, 2019, 8(24): e1901301. doi: 10.1002/adhm.201901301.
- [11] Cosgarea R, Eick S, Batori-Andronesco I, et al. Clinical and microbiological evaluation of local doxycycline and antimicrobial photodynamic therapy during supportive periodontal therapy: a randomized clinical trial[J]. Antibiotics (Basel), 2021, 10(3): 277. doi: 10.3390/antibiotics10030277.
- [12] Gao L, Zhuang J, Nie L, et al. Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles[J]. Nat Nanotechnol, 2007, 2(9): 577-583. doi: 10.1038/nnano.2007.260.
- [13] Wu J, Wang X, Wang Q, et al. Nanomaterials with enzyme-like

- characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes (II) [J]. *Chem Soc Rev*, 2019, 48(4): 1004-1076. doi: 10.1039/c8cs00457a.
- [14] Salem SS, Fouda A. Green synthesis of metallic nanoparticles and their prospective biotechnological applications: an overview[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2021, 199(1): 344-370. doi: 10.1007/s12011-020-02138-3.
- [15] Feng JN, Guo XP, Chen YR, et al. Time-dependent effects of ZnO nanoparticles on bacteria in an estuarine aquatic environment[J]. *Sci Total Environ*, 2020, 698: 134298. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134298.
- [16] Zhao T, Wu W, Sui L, et al. Reactive oxygen species-based nanomaterials for the treatment of myocardial ischemia reperfusion injuries[J]. *Bioact Mater*, 2022, 7: 47-72. doi: 10.1016/j.bioactmat.2021.06.006.
- [17] Li Y, Gu X, Yu F. Hypoxia alleviating PdTe nanoenzymes for thermoradiotherapy[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9: 815185. doi: 10.3389/fbioe.2021.815185.
- [18] Yu Z, Lou R, Pan W, et al. Nanoenzymes in disease diagnosis and therapy[J]. *Chem Commun (Camb)*, 2020, 56(99): 15513-15524. doi: 10.1039/d0cc05427e.
- [19] He L, Ji Q, Chi B, et al. Construction nanoenzymes with elaborately regulated multi-enzymatic activities for photothermal-enhanced catalytic therapy of tumor[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2023, 222: 113058. doi: 10.1016/j.colsurfb.2022.113058.
- [20] Li C, Liu C, Liu R, et al. A novel CRISPR/Cas14a-based electrochemical biosensor for ultrasensitive detection of *Burkholderia pseudomallei* with PtPd@PCN-224 nanoenzymes for signal amplification[J]. *Biosens Bioelectron*, 2023, 225: 115098. doi: 10.1016/j.bios.2023.115098.
- [21] Makabenta JMV, Nabawy A, Li CH, et al. Nanomaterial-based therapeutics for antibiotic-resistant bacterial infections[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2021, 19(1): 23-36. doi: 10.1038/s41579-020-0420-1.
- [22] Naha PC, Liu Y, Hwang G, et al. Dextran-coated iron oxide nanoparticles as biomimetic catalysts for localized and pH-activated biofilm disruption[J]. *ACS Nano*, 2019, 13(5): 4960-4971. doi: 10.1021/acsnano.8b08702.
- [23] Khan AU, Khan M, Cho MH, et al. Selected nanotechnologies and nanostructures for drug delivery, nanomedicine and cure[J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2020, 43(8): 1339-1357. doi: 10.1007/s00449-020-02330-8.
- [24] Mohamed NA, Marei I, Crovella S, et al. Recent developments in nanomaterials-based drug delivery and upgrading treatment of cardiovascular diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1404. doi: 10.3390/ijms23031404.
- [25] Parra-Ortiz E, Malmsten M. Photocatalytic nanoparticles - From membrane interactions to antimicrobial and antiviral effects[J]. *Adv Colloid Interface Sci*, 2022, 299: 102526. doi: 10.1016/j.cis.2021.102526.
- [26] Gao L, Liu Y, Kim D, et al. Nanocatalysts promote *Streptococcus mutans* biofilm matrix degradation and enhance bacterial killing to suppress dental caries *in vivo*[J]. *Biomaterials*, 2016, 101: 272-284. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.05.051.
- [27] Guryev EL, Shilyagina NY, Kostyuk AB, et al. Preclinical study of biofunctional polymer-coated upconversion nanoparticles[J]. *Toxicol Sci*, 2019, 170(1): 123-132. doi: 10.1093/toxsci/kfz086.
- [28] Zhang J, Wang F, Yalamarty SSK, et al. Nano silver-induced toxicity and associated mechanisms[J]. *Int J Nanomedicine*, 2022, 17: 1851-1864. doi: 10.2147/ijn.s355131.
- [29] Lyu Z, Ghoshdastidar S, Rekha KR, et al. Developmental exposure to silver nanoparticles leads to long term gut dysbiosis and neurobehavioral alterations[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 6558. doi: 10.1038/s41598-021-85919-7.
- [30] Tiwari R, Singh RD, Binwal M, et al. Perinatal exposure to silver nanoparticles reprograms immunometabolism and promotes pancreatic beta-cell death and kidney damage in mice[J]. *Nanotoxicology*, 2021, 15(5): 636-660. doi: 10.1080/17435390.2021.1909767.
- [31] Lee DH, Choi SY, Jung KK, et al. The research of toxicity and sensitization potential of PEGylated silver and gold nanomaterials[J]. *Toxics*, 2021, 9(12): 355. doi: 10.3390/toxics9120355.
- [32] Xiao J, Yan M, Zhou K, et al. A nanoselenium-coating biomimetic cytomembrane nanoplatfor for mitochondrial targeted chemotherapy- and chemodynamic therapy through manganese and doxorubicin codelivery[J]. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19(1): 227. doi: 10.1186/s12951-021-00971-9.
- [33] Filippova AD, Sozarukova MM, Baranchikov AE, et al. Peroxidase-like activity of CeO₂ nanozymes: particle size and chemical environment matter[J]. *Molecules*, 2023, 28(9): 3811. doi: 10.3390/molecules28093811.
- [34] Luo W, Zhu C, Su S, et al. Self-catalyzed, self-limiting growth of glucose oxidase - mimicking gold nanoparticles[J]. *ACS Nano*, 2010, 4(12): 7451-7458. doi: 10.1021/nn102592h.
- [35] Ge C, Fang G, Shen X, et al. Facet energy versus enzyme-like activities: the unexpected protection of palladium nanocrystals against oxidative damage[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(11): 10436-10445. doi: 10.1021/acsnano.6b06297.
- [36] Chen F, Song T. AuPt bimetallic nanozymes for enhanced glucose catalytic oxidase[J]. *Front Chem*, 2022, 10: 854516. doi: 10.3389/fchem.2022.854516.
- [37] Fan H, Li Y, Liu J, et al. Plasmon-enhanced oxidase-like activity and cellular effect of Pd-coated gold nanorods[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(49): 45416-45426. doi: 10.1021/acsaami.9b16286.
- [38] Hu L, Liao H, Feng L, et al. Accelerating the peroxidase-like activity of gold nanoclusters at neutral pH for colorimetric detection of heparin and heparinase activity[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(10): 6247-6252. doi: 10.1021/acs.analchem.8b00885.
- [39] Ran F, Xu Y, Ma M, et al. Flower-like ZIF-8 enhance the peroxidase-like activity of nanoenzymes at neutral pH for detection of heparin and protamine[J]. *Talanta*, 2022, 250: 123702. doi: 10.1016/j.talanta.2022.123702.
- [40] Cong C, He Y, Zhao S, et al. Diagnostic and therapeutic nanoenzymes for enhanced chemotherapy and photodynamic therapy[J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(18): 3925-3934. doi: 10.1039/d0tb02791j.
- [41] Skrzyniarz K, Sanchez-Nieves J, de la Mata FJ, et al. Mechanistic insight of lysozyme transport through the outer bacteria membrane

- with dendronized silver nanoparticles for peptidoglycan degradation[J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 237: 124239. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124239.
- [42] Motshekga SC, Ray SS, Onyango MS, et al. Microwave-assisted synthesis, characterization and antibacterial activity of Ag/ZnO nanoparticles supported bentonite clay[J]. *J Hazard Mater*, 2013, 262: 439-446. doi: 10.1016/j.jhazmat.2013.08.074.
- [43] Javed R, Rais F, Kaleem M, et al. Chitosan capping of CuO nanoparticles: facile chemical preparation, biological analysis, and applications in dentistry[J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 167: 1452-1467. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.11.099.
- [44] Huang Y, Liu Y, Pandey NK, et al. Iron oxide nanozymes stabilize stannous fluoride for targeted biofilm killing and synergistic oral disease prevention[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6087. doi: 10.1038/s41467-023-41687-8.
- [45] Gutiérrez MF, Bermudez J, Dávila-Sánchez A, et al. Zinc oxide and copper nanoparticles addition in universal adhesive systems improve interface stability on caries-affected dentin[J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2019, 100: 103366. doi: 10.1016/j.jmbbm.2019.07.024.
- [46] Afkhami F, Akbari S, Chiniforush N. *Enterococcus faecalis* elimination in root canals using silver nanoparticles, photodynamic therapy, diode laser, or laser-activated nanoparticles: an *in vitro* study[J]. *J Endod*, 2017, 43(2): 279 - 282. doi: 10.1016/j.joen.2016.08.029.
- [47] Halkai KR, Mudda JA, Shivanna V, et al. Antibacterial efficacy of biosynthesized silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm: an *in vitro* study[J]. *Contemp Clin Dent*, 2018, 9(2): 237-241. doi: 10.4103/ccd.ccd_828_17.
- [48] Bukhari S, Kim D, Liu Y, et al. Novel endodontic disinfection approach using catalytic nanoparticles[J]. *J Endod*, 2018, 44(5): 806-812. doi: 10.1016/j.joen.2017.12.003.
- [49] Lahiri D, Ray RR, Sarkar T, et al. Anti-biofilm efficacy of green-synthesized ZnO nanoparticles on oral biofilm: *in vitro* and *in silico* study[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 939390. doi: 10.3389/fmicb.2022.939390.
- [50] Sun X, Wang L, Lynch CD, et al. Nanoparticles having amphiphilic silane containing Chlorin e6 with strong anti-biofilm activity against periodontitis-related pathogens[J]. *J Dent*, 2019, 81: 70-84. doi: 10.1016/j.jdent.2018.12.011.
- [51] Wang L, Xie X, Qi M, et al. Effects of single species versus multi-species periodontal biofilms on the antibacterial efficacy of a novel bioactive Class-V nanocomposite[J]. *Dent Mater*, 2019, 35(6): 847-861. doi: 10.1016/j.dental.2019.02.030.
- [52] Pokrowiecki R, Zaręba T, Szaraniec B, et al. *In vitro* studies of nanosilver-doped titanium implants for oral and maxillofacial surgery[J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 4285-4297. doi: 10.2147/ijn.s131163.
- [53] Zhong X, Song Y, Yang P, et al. Titanium surface priming with phase-transited lysozyme to establish a silver nanoparticle-loaded chitosan/hyaluronic acid antibacterial multilayer via layer-by-layer self-assembly[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146957. doi: 10.1371/journal.pone.0146957.
- [54] Toodehzaeim MH, Zandi H, Meshkani H, et al. The effect of CuO nanoparticles on antimicrobial effects and shear bond strength of orthodontic adhesives[J]. *J Dent (Shiraz)*, 2018, 19(1): 1-5.
- [55] Kachoei M, Nourian A, Divband B, et al. Zinc-oxide nanocoating for improvement of the antibacterial and frictional behavior of nickel-titanium alloy[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2016, 11(19): 2511-2527. doi: 10.2217/nmm-2016-0171.
- [56] Ivask A, Elbadawy A, Kaweeteerawat C, et al. Toxicity mechanisms in *Escherichia coli* vary for silver nanoparticles and differ from ionic silver[J]. *ACS Nano*, 2014, 8(1): 374-386. doi: 10.1021/nm4044047.
- [57] Kanwal Z, Raza MA, Riaz S, et al. Synthesis and characterization of silver nanoparticle-decorated cobalt nanocomposites (Co@Ag-NPs) and their density-dependent antibacterial activity[J]. *R Soc Open Sci*, 2019, 6(5): 182135. doi: 10.1098/rsos.182135.

(编辑 周春华, 曾曙光)



Open Access

This article is licensed under a Creative Commons

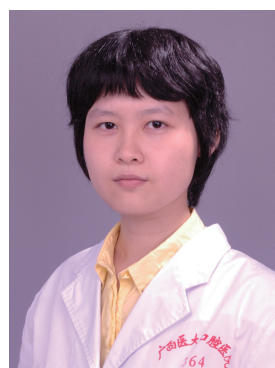
Attribution 4.0 International License.

Copyright © 2024 by Editorial Department of Journal of

Prevention and Treatment for Stomatological Diseases



官网



【作者简介】 李昊,医学博士,教授,博士生导师。于四川大学华西口腔医学院获博士学位,美国哈佛大学附属福赛斯研究院访问学者,现任广西口腔颌面修复与重建研究重点实验室副主任、广西医科大学口腔医学院/附属口腔医院口腔修复科副主任、广西口腔医学会口腔修复学专业委员会副主任委员、中华口腔医学会口腔修复学专业委员会委员、中华口腔医学会口腔材料学专业委员会委员等。主要研究方向为口腔颌面部骨缺损修复与骨免疫。主持研究课题10余项,包括国家自然科学基金项目2项、广西自然科学基金项目3项等。已在国内外专业期刊上发表学术论文70余篇,参编专著2本,获得国内发明专利1项、实用新型专利1项,获得广西科技进步三等奖1项、广西医药卫生适宜技术推广奖一等奖1项。担任 *J Cell Mol Med*、*Drug Des Devel Ther*、*J Periodontol*、*AAPS Pharm Sci Tech*、*Immun Inflamm Dis* 等国际SCI期刊审稿人。