译文

哪些生物材料能促进牙周骨内缺损的再生？一篇临床前研究的系统评价

Which Biomaterials May Promote Periodontal Regeneration in Intrabony Periodontal Defects? A Systematic Review of Preclinical Studies

Aleksandar Ivanovic, George Nikou, Richard J.Miron, Dimitris Nikolidakis, Anton Sculean

原载 Quintessence Int, 2014, 45(5): 385-395.（英文）

何梦娇[1] 倪 璨[2] 译 骆 凯[1] 闫福华[2] 审

摘 要

目的：通过对临床前研究的组织学研究结果进行评估，系统分析生物材料单独应用或联合应用对牙周骨内缺损的再生效果。**数据来源**：研究方案涵盖了系统评价的所有方面。从Medline上搜索相关文献，包括手工检索。结合检索词和一些标准来鉴别、筛选和纳入文献。初期效果变量为采用不同再生材料的重建手术所获得的牙周再生效果，它可通过组织学／组织形态学分析来进行评估。新生牙周膜、新生牙骨质和新生牙槽骨以长度mm或根长比例来表示。根据研究基本情况、研究特点、方法学特点和结论对数据进行提取。仅选择采用组织学分析评估再生材料（如屏障膜、移植材料或生长因子／蛋白）治疗牙周骨内缺损的临床前期研究作为研究对象。所有生物材料单独应用或多种材料联合应用的研究均被纳入。报道了愈合期6周以上的组织学效果测量的研究也被纳入。由于数据的异质性，未采用Meta分析。**结论**：与对照组（单纯翻瓣术）相比，翻瓣术与单一生物材料或多种生物材料联合应用都能更大程度地促进牙周组织再生。在所使用的生物材料中，自体移植物效果最好。而与翻瓣术相比，应用大多数生物因子的疗效较差。

关键词 动物实验；组织学；牙周骨内缺损；临床前研究；系统评价

译者单位 [1] 福建医科大学附属口腔医院
福建省福州市鼓楼区杨桥中路246号 350002
[2] 南京大学医学院附属口腔医院
南京市鼓楼区中央路30号 210008

1 引言

牙周炎常引起牙周骨内缺损，若不及时治疗可显著影响患牙的远期预后。近几十年来，包括传统治疗方法或再生治疗方法在内的多种治疗方法已被用于牙周骨内缺损的治疗。在生物学上，传统的牙周治疗方法其愈合以形成长结合上皮为主，缺乏或仅有非常有限的牙骨质、牙周膜（PL）和牙槽骨的再生（图 1）。尽管传统牙周手术确实能减小探诊深度，并减少或消除骨缺损，但其愈合常常与剩余牙周袋的存在（如仅使用翻瓣术治疗的病例）或牙齿支持组织的大量丧失（如通过切除手术治疗的病例）相关联。另外，长期临床研究的数据表明，剩余牙周袋≥ 6mm 是牙周进一步破坏的危险因素，并可能导致牙齿的最终缺失。

为了克服传统牙周手术的缺点，各种再生治疗技术已被提出。这些技术旨在减小探诊深度并重建牙齿支持组织（即牙周膜、牙骨质和牙槽骨）（图 2），同时防止软组织的退缩。牙周再生手术包括将各种不同类型移植材料、牙根面的处理、引导组织再生术（GTR）、生长因子与分化因子以及上述方法的各种组合分别与能最大限度地保存软硬组织的手术方法联合应用。临床研究数据表明，与开放式翻瓣清创相比，一些再生治疗技术确实可以在减小探诊深度和增加临床附着方面产生更好的临床效果，并可显著提高患牙的远期预后。

从生物学角度而言，任何类型的再生治疗技术或材料的使用都需要从临床前实验（即动物实验）获得组织学证据支持。然而，目前尚缺乏利用组织学方法对临床前研究中再生材料促进牙周再生的生物潜能进行系统评价的研究。因此，本文的目的是对为几种生物材料促进牙周骨内缺损再生提供了组织学支持的所有临床前研究（即动物实验）进行系统评价。

2 数据来源

在开始评价前先拟定方案，该方案涵盖了系统评价方法的所有方面。包括提出关键问题，检索策

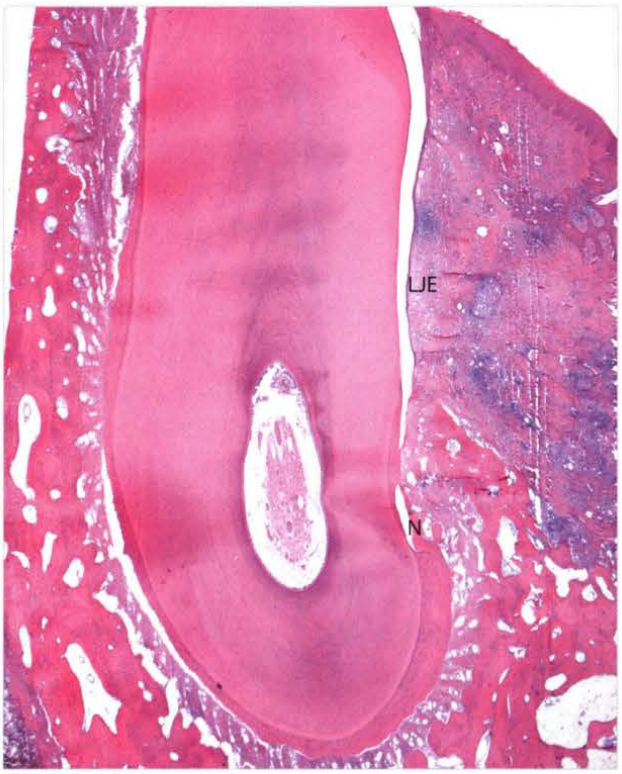

图 1 组织切片显示单纯翻瓣术术后骨内缺损的修复愈合方式。(HE 染色；×50) LJE. 长结合上皮；N. 根面参照点

图 2 组织切片显示牙周再生。通过在根面参照点 (N) 的冠方形成牙骨质 (C)，牙周膜 (PL) 和骨 (B) 来获得组织愈合，参照点标记的是缺损的根方 (oxone–aldehyde–fuschin–Halmi 染色；×50)

略，研究纳入标准，确定评价方法，筛选方法，数据提取和分析以及合并数据得出结论。

关键问题的提出：实验动物的组织学研究结果中，应用多种生物材料治疗牙周角形缺损的再生效果如何？在MEDLINE数据库中检索2012年12月前的文献。组合检索词以查找合适的文献。对综述文章的参考文献进行检索。并对纳入本文的参考文献进行筛选。最后，进行期刊手工检索，这些期刊包括Journal of Dental Research, Journal of Clinical Periodontology, Journal of Periodontology, Journal of Periodontal Research, The International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry。

3 文献选择

所选择的文献要求包含评估再生材料（即屏障膜，移植材料或生长因子／蛋白）治疗牙周骨内缺损能力的动物组织学研究。各种类型的生物材料及其不同的组合均被纳入研究。术后疗效评估的时间至少为6周。所有以组织学结果参数评估牙周愈合的研究均被包括在内。但只有以英文形式发表的文献被收集。

早期结果变量是再生材料使用后新生牙周组织的形成，它通过组织学／组织形态学分析来评估。新生牙周膜，新生牙骨质和新生牙槽骨的形成以长度测量（mm）或根长的百分比（%）表示。基于组织形态学测量的术后牙周缺损大小的变化也被纳入研究。其他数据还包括缺损修复率和缺损填充率。研究报道的缺损修复的愈合类型包括完全再生，长结合上皮形成，结缔组织附着，结缔组织黏附或骨修复。

所收集的文献标题和摘要由两位评价员（GN和DN）独立筛选。标题和摘要的筛选基于以下问题："该研究是否通过牙周骨内病变动物模型来评价生物材料的再生能力，治疗结果是否用组织学评估以及术后评估周期是否至少为6周？"

不论筛选问题的回答是"是"还是"不确定"，评价员都会获取该文章的全文。纳入意见不一致时通过讨论解决。评价员之间的一致性通过卡帕（κ）值衡量。必要时联系研究作者以尽可能提供缺失数据。

根据基本情况（作者和出版年份）、研究特点（实验动物和牙周骨缺损数量；牙位；缺损特征；干预策略；评估周期；结果测量）、方法学特点（研究设计和方法学质量）和结论对数据进行提取。由于研究设计、动物类型、缺损类型、使用的材料、评估方法、结果测量和观察周期的不同，获得的数据存在异质性。此外，大多数研究是左右半口对照设计或混合设计，未提供个体内部差异的相关数据。加权平均数的差异无法计算，因此无法进行Meta分析的定量数据合并。因此，均数和标准差（SD）、95%置信区间（CI）及统计学差异是从期刊论文中找出并提取的。对治疗牙周缺损的不同类型生物材料的数据分别进行总结。此外，对应用类似结果测量方法的研究结果进行整合，相关数据见表1。

4 评价

4.1 文献检索后的数据提取

通过电子检索和手工检索，从MEDLINE中检索出178篇相关文献。根据所收集文献的标题和摘要进行第一轮筛选，71篇被选入作进一步分析（评价员间一致性 $\kappa=0.97$）。最后，经阅读全文后排除了26篇未报道组织学结果的文献，完全符合纳入标准的有45篇（评价员间一致性 $\kappa=0.98$）。在排除的研究中筛选出重要的组织学数据。所有研究被分入特定生物材料组。筛选相关文献的流程图见图3。

4.2 各生物材料组再生效果的数据分析

生物材料共分成7组，分别是自体移植物、同种异体移植物、异种移植物、异质材料、屏障膜、生化因子以及上述不同移植材料的组合。不同材料联合疗法有4个亚组，包括生化因子和移植物、GTR和生化因子、GTR和移植物以及不同移植物的结合。以无生物材料处理的角形骨缺损作为对照组。再生治疗后，骨缺损的愈合类型分为LJE（长结合上皮：上皮向下生长覆盖处理的牙面），CTA（结缔组织附着：处理牙面上新生牙骨质中有胶原纤维埋入，但与对侧新生骨无接触），CTAd（结缔组织黏附：结缔组织与牙根直接接触，无明显牙骨质形成），REG（再生：新生牙骨质、新生的埋入纤维和新生牙槽骨组成新的牙周膜结构）以及OR（骨修复：牙根对侧新生骨形成以填充骨缺损）。组织学数据列入表格，表格中包含文献作者姓名、发表时间、动物数量和类型、骨缺损数目、骨壁数目、缺损深度、愈合周期、生物材料类型和愈合类型分析以及组织学结果。通过文献报道的新生牙骨质（NC）和新生骨（NB）的形成来分析获得的形态组织学数据，

表 1 通过文献报道的新生牙骨质和新生骨的形成来分析获得的组织形态学数据及牙面胶原纤维和长结合上皮的长度测量值（以 mm 表示）均被用来表示缺损深度修复的百分比

生物材料		牙数 (N)	DD(mm)	OW(n)	CF(%)	NC(%)	NB(%)	JE(%)	REG(%)
单独应用	自体移植物	93	3.5	3	75±0	75±0	75±0	25±0	75
	同种异体移植物	88	4.3±0.3	2–3	36±26	62±16	58±12	26±15	58
	异种移植物	62	4.8±0.3	1–3	5±0	47±16	27±6	32±16	27
	异质移植	182	4.8±0.9	1–3	32±29	61±17	56±17	31±14	56
	GTR	201	4.9±0.9	1–3	43±29	66±25	58±25	25±17	58
	生物因子	112	5.1±1.2	1–3	23±5	33±30	12±57	12±7	12
联合应用	生物因子 + 移植材料	234	5.0±0.6	1–3	13±10	64±23	53±16	24±20	53
	生物因子	20	6.3±1.3	1	25±7	68±35	61±34	4±0	61
	GTR+ 移植材料	95	5.2±1.1	1–3	28±20	64±21	58±6	15±13	58
	联合应用	52	5.2±1.6	2–3	64±31	64±31	64±31	27±9	64
对照组	材料植入	339	4.9±1.0	1–3	37±23	41±22	38±20	32±15	38

CF, 胶原纤维; DD, 缺损深度; GTR, 引导组织再生; JE, 结合上皮; NB, 新骨; NC, 新生牙骨质; OW, 骨壁; REG, 再生

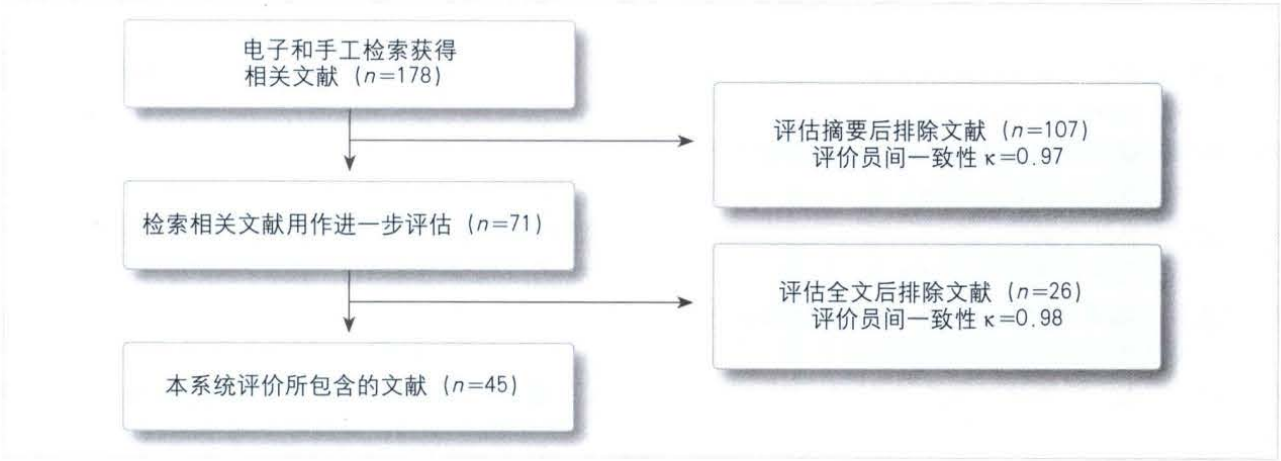

图 3 相关文献的筛选流程图

以及根面胶原纤维（CF）和结合上皮（JE）的长度测量值（mm）均被用来表示缺损深度修复的百分比。

4.3 自体移植物对牙周骨内缺损的再生效果

有 4 篇文献的研究数据涉及自体移植材料对骨内缺损的再生效果。其中 2 篇研究显示存在牙周再生，另外 2 篇研究显示存在骨修复。上述研究未发现炎症反应。研究采用了 3 种自体骨：松质骨、新鲜骨髓、冷冻骨髓。结果显示松质骨实现完全再生的比例更高，而新鲜骨髓移植位点出现骨固连和吸收区。自体骨颗粒埋植于新生骨中。位于缺损顶

端和中央的自体骨颗粒通常融入到新生骨中。4篇研究中仅有1篇提供了组织形态学数据。93颗三壁骨缺损牙被纳入评估。根据自体移植物的类型，66.7%～88.2%实现完全再生，再生的平均比例是75%。

4.4 同种异体移植物对牙周骨内缺损的再生效果

有6篇文献的研究数据涉及同种异体移植物对骨内缺损的再生效果。6篇文献均报道了牙周组织再生，5篇文献发现长结合上皮和牙周再生共存。1篇文献研究发现移植物颗粒游离在结缔组织中，另一篇文献研究发现移植物颗粒包裹在结缔组织中。上述研究均未发现或报道骨缺损的完全修复，并且均未发现炎症反应。此外，在1篇研究中没有设置根面参照点，由于所关注的区域未做标记导致其组织学结果受到质疑。1篇研究称出现少量的骨固连，1篇研究报道了牙根吸收。仅4篇研究提供了组织形态学数据。缺损平均深度是4.3mm，分别有62%的新生牙骨质和58%的新生骨形成。58%的缺损显示出再生的迹象。

4.5 异种移植物对牙周骨内缺损的再生效果

有8篇文献的研究数据涉及异种移植材料对骨内缺损的再生效果。其中5篇研究报道了牙周组织再生，伴或不伴有长结合上皮形成。3篇研究报道了骨再生。2篇研究未设置根面参照点。2篇研究发现移植物颗粒埋植于结缔组织中，2篇研究发现移植物颗粒埋植于新骨中，所有研究均在移植材料周围观察到新生骨形成。上述研究均未发现炎症反应且无牙根吸收或骨固连的报道。4篇研究提供了组织形态学数据。缺损平均深度是4.8mm；分别有47%的新生牙骨质和27%的新生骨形成。最后，整体的再生比例是27%。

4.6 异质移植物对牙周骨内缺损的再生效果

有21篇文献的研究数据涉及人工骨移植对骨内缺损的再生效果。4篇研究没有设置根面参照点，3篇研究是去除牙骨质后放置移植物。其中13篇研究报道了不同程度的再生，6篇研究发现根尖部牙周组织再生程度有限，然而并没有研究观察到仅通过上皮向下生长达到愈合的情况。10篇研究发现了移植物颗粒的存在，在7篇研究中移植物被纤维组织包绕，5篇研究发现移植物被骨包绕，2篇研究发现移植物颗粒最初被结缔组织包绕，然后是类骨质，最后是新生骨。上述研究均未发现炎症反应。11篇研究共提供了172个骨缺损的组织形态学数据。缺损平均深度是4.8mm，长度测量显示分别有61%的新生牙骨质和56%的新生骨形成。56%的缺损显示出再生的迹象。

4.7 屏障膜对牙周骨内缺损的再生效果

有18篇文献的研究数据涉及屏障膜对骨内缺损的再生效果。其中9篇研究报道了牙周组织再生，8篇研究发现长结合上皮和牙周再生共存，2篇研究提到骨修复。16篇研究应用可吸收生物膜，3篇研究应用非可吸收生物膜，1篇研究在3个月愈合期后发现了PLGA（聚乳酸－羧基乙酸共聚物）屏障膜的痕迹，另一篇研究发现8周后伴有极小范围的炎性细胞浸润和有限的牙根吸收，1篇研究中缺损得到了完全修复，相反，另一篇研究由于缺损暴露导致仅有极小程度的再生。此外，2篇研究没有设置根面参照点。13篇研究共提供了205个缺损区的组织形态学数据。缺损平均深度是4.9mm，长度测量显示分别有66%的新生牙骨质和58%的新生骨形成。58%缺损表现为部分或完全再生。

4.8 生物活性因子对牙周骨内缺损的再生效果

有13篇文献的研究数据涉及生物活性因子或化学因子对骨内缺损的再生效果。其中7篇研究报道了牙周组织再生，3篇研究发现长结合上皮及根尖牙周组织再生共存，1篇研究发现结缔组织附着和根尖牙周组织再生共存，1篇研究发现长结合上皮，1篇研究发现长结合上皮和结缔组织附着共存。上述研究中未发现炎症反应。2篇研究中没有设置根面参照点。7篇研究共提供了29个骨缺损的组织形态学数据。缺损平均深度是5.4mm，分别有43%的新生牙骨质和22%的新生骨形成。22%的缺损表现为部分再生。

4.9 生长因子或生化因子与移植材料联合应用对牙周骨内缺损的再生效果

有18篇文献的研究数据涉及生长因子或生物化学因子与移植材料联合应用对实验动物骨内缺损的再生效果。其中，7篇研究报道了牙周组织再生。10篇研究发现长结合上皮和结缔组织附着及牙周组织再生共存。2篇研究发现长结合上皮，1篇研究

发现骨修复。8 篇研究发现在不同的愈合期（8 周～ 5 个月）均可观察到被骨或纤维组织包绕的移植物颗粒。仅有 3 篇研究发现了明显的牙根吸收，1 篇研究中缺损区出现了骨固连。3 篇研究发现新生骨为编织骨，2 篇研究则发现新生骨为板层骨。上述研究中均未发现炎症反应。此外，除 3 篇研究外，其余研究均没有设置根面参照点。16 篇研究共提供了 234 个缺损的组织形态学数据。缺损平均深度是 5mm；分别有 64% 的新生牙骨质和 53% 的新生骨形成。53% 的缺损显示出再生的迹象。

4.10 生长因子或生化因子与屏障膜联合应用对牙周骨内缺损的再生效果

有 6 篇文献的研究数据涉及生长因子或生化因子与屏障膜联合应用对实验动物骨内缺损的再生效果。其中，5 篇研究报道了牙周组织再生，1 篇研究发现牙周组织再生和长结合上皮共存，但与 GTR 和手术组相比，上皮迁移程度较小。1 篇研究提到 8 周后可发现屏障膜残留。仅有 1 篇研究提到牙根吸收。3 篇研究提供了组织形态学数据。20 个缺损深度为 6.3mm 的牙周骨缺损区有 68% 的新生牙骨质和 61% 的新生骨形成。61% 的缺损显示出再生的迹象。

4.11 屏障膜与移植材料联合应用对牙周骨内缺损的再生效果

有 14 篇文献的研究数据涉及屏障膜与移植材料联合应用对实验动物牙周骨内缺损的再生效果。其中，6 篇研究报道了牙周组织再生，3 篇研究发现牙周组织再生及长结合上皮共存，其余研究发现骨修复。愈合时间从 1 周～ 24 个月不等。根据愈合时间和移植材料的类型，组织学上可观察到移植物颗粒。有 2 篇研究发现牙根吸收，1 篇研究观察到了骨固连。3 篇研究中没有设置根面参照点。8 篇研究提供了 74 个缺损区的组织形态学数据，这些一壁至三壁骨缺损的平均深度是 5.2mm。此外，有 28% 的新结缔组织附着，64% 的新牙骨质形成，58% 的新骨再生以及 15% 的长结合上皮形成。总体上，58% 的缺损显示出再生的迹象。

4.12 骨移植材料联合应用对牙周骨内缺损的再生效果

有 6 篇文献的研究数据涉及骨移植材料联合应用对实验动物牙周骨内缺损的再生效果。其中，4 篇研究报道了牙周组织再生，2 篇研究发现牙周组织再生中伴有长结合上皮形成。联合应用同种异体、异种、异质材料，组织愈合时间从 4 周～ 6 个月不等。2 篇研究的愈合时间从 6 周～ 6 个月，移植物颗粒仍然可见。3 篇研究提供了 52 个缺损区的组织形态学数据，这些二壁或三壁骨缺损的平均深度是 5.55mm，有 64% 的新附着，27% 的长结合上皮形成。总体上，约 64% 的缺损显示出再生的迹象。

4.13 对照组

有 43 篇文献为不使用移植材料对动物骨内缺损或对照组中骨内缺损的影响提供了数据。21 篇研究显示了不同程度的再生，但大多数再生程度有限。其中仅 3 篇表现出足够的再生，余 18 篇研究多伴有长结合上皮。35 篇研究中，骨内缺损的愈合多伴有不同程度的长结合上皮形成。6 篇研究的牙根出现了明显的不同程度吸收，1 篇研究中出现了明显的骨固连。1 篇研究通过正畸牙齿移动来治疗骨缺损。30 篇研究提供了组织形态学数据。在平均深度为 4.9mm 的 339 个一壁、二壁或三壁骨缺损中，分别有 41% 的新牙骨质以及 38% 的新骨形成。未使用移植材料治疗的牙周骨内缺损中，38% 显示出再生。

5 讨论

本文系统评价的数据表明，与单纯翻瓣术相比，翻瓣术联合各种再生材料治疗实验方法制备的急性或慢性骨缺损模型可获得更多的牙骨质、牙周膜和牙槽骨形成。总体上，所有评估的生物材料均表现出良好的生物相容性。尚无研究报道生物材料相关不良反应如过敏或其他免疫反应、脓肿形成或材料排斥反应的出现。

本文根据相关数据，通过埋有牙周膜纤维的新生牙骨质和新生骨的测量值计算得出牙周再生的平均值。为便于比较，新生牙骨质的长度以缺损深度的百分比表示，各组比例介于 33% 到 75% 之间。各组新生牙槽骨的长度介于 12% 到 75% 之间。此外，本文亦对治疗后缺损完全或部分再生的比例进行统计。各组牙周组织再生的百分比介于 12% 到 75% 之间。比较几组生物材料组，自体骨移植的效果似乎最佳，然而翻瓣术的效果优于大多数生物因子的使用。研究报道使用自体骨移植后可产生积极效果，这一发现具有临床相关性，因为它为自体骨移植的临床应用提供了生物学支持。通常，骨移植材料的

再生能力可分成 3 个基本机制，即骨诱导、骨引导、骨形成。骨诱导指生长因子引发未成熟间充质祖细胞募集并分化为成骨细胞。骨引导指三维支架结构引导骨组织在移植物表面沉积。骨形成指骨移植材料中存在的成骨细胞或成骨祖细胞可促进骨形成。自体骨移植材料具有明显的优势，因为自体骨是惟一包含有活性骨祖细胞的骨移植物，能够进一步促进骨再生，而其他骨移植材料仅具有有限的骨形成和骨诱导能力。由于自体骨包含活性祖细胞，可释放骨诱导生长因子并为细胞黏附和后期生长提供天然骨引导表面，因此其成骨潜能优于同种异体骨移植材料、异种骨移植材料和异质移植材料。

生物活性因子组使用的大多数生物材料[即中性 EDTA（乙二胺四乙酸），辛伐他汀，成纤维细胞生长因子（FGF）]出现了令人失望的结果，该现象一种可能的解释是这些材料促进牙周组织再生的能力有限。另一方面，当对应用生物活性因子的研究进行分析时要特别注意其所使用的载体，载体可影响其释放动力学和生物学效应。载体种类的多样性和其结果的可变性表明这一关键问题仍未被阐明，还需进一步研究。然而当前，根据现有的临床前研究数据，大多数被检测的生物活性因子的潜在临床相关性仍不确定。

由于动物类型（即狗或猴子模型），研究设计（即平行，左右半口或混合），骨移植材料单独应用或多种移植材料联合应用，骨缺损和患牙类型，结果测量以及观察周期的不同（6 周至 6 个月），所收集到的数据存在异质性。此外，不管是半口或混合设计，大多研究缺乏有关个体差异的数据。因此，对数据进行 meta 分析是不可行的。

尽管动物模型可高度模拟人类机械性和生理性的临床情况，但必须指出的是，由于每个动物模型有其独特的优缺点，所以所获得的结果应当慎重考虑。然而，在进行临床应用之前，临床前研究结果能提供合适的生物学趋势模型。人和动物的牙周疾病的特点变化很大程度上取决于疾病的存在形式和发展阶段。尽管大多数哺乳动物可通过实验或手术构建牙周缺损模型，但是选择与人类解剖和牙周疾病具有相似特征的实验动物模型至关重要。在牙周缺损治疗方面，猴子和狗的模型似乎与人类的反应相似。综上所述，本系统评价表明，临床前研究可为新的牙周再生疗法的生物潜能及安全性提供重要信息。