鼠磨牙牙本质龋粘接修复的组织学评价

Histologic evaluation of adhesive restorations on dentin caries in rat molar teeth.
Yasushi Shimada, Masatugu Kawashima, Takashi Higashi, Richard M. Foxton, Junji Tagami
原载 Quintessence Int 2004;35:200~205(英文).

王冬梅 译　姬爱平 校

摘要　**目的**　体外评价复合树脂和玻璃离子水门汀充填体下方鼠磨牙牙本质龋的进展状况。

材料和方法　16只实验鼠口腔内接种变形链球菌，使其磨牙发生实验性龋齿。鼠磨牙发生的龋损在不去除腐质的情况下，直接用复合树脂或玻璃离子水门汀进行封闭。在组织病理染色切片上测量病损中细菌侵入的深度和宽度。同时检测牙髓炎性细胞的浸润程度。

结果　复合树脂或玻璃离子水门汀封闭龋损后，细菌入侵牙本质及龋进展的速度均明显减慢，2种封闭材料之间无显著性差异。在牙髓反应方面，龋损虽被封闭，但在牙髓中仍可观察到中到重度的炎性细胞浸润。

结论　通过封闭龋损可以减慢龋病的进展速度，使其由活动期转为慢性状态，但并不能完全使其静止。

临床相关性　用复合树脂或玻璃离子水门汀封闭龋损可使牙本质龋的进展速度明显减慢，但并不能使其完全静止。

临床上，窝洞预备时常常残留部分细菌，它们被封闭在充填体的下方。有关充填体下方细菌归宿的研究已经表明，如果充填体的边缘用粘接性材料封闭，使残留细菌与口腔环境隔离，龋损可以静止。Mertz-Fairhust 等人首次提出了封闭性修复的概念，认为树脂封闭可以使殆面的龋损静止大约10年。

新一代的自酸蚀粘接剂可为树脂修复体提供有效粘接。此类粘接剂可以抵抗复合树脂聚合时产生的收缩应力，减少充填体边缘的微渗漏。混合层的形成是其主要粘接机制。

玻璃离子水门汀应用广泛，它既是充填材料，也是粘接材料，其优点是：可以释放氟，与牙釉质和牙本质均有粘接性，低-固化收缩，同牙体组织的热膨胀系数相近等。近来，有学者提出了一种减创修复技术(atraumatic restorative treatment, ART)，用作一些不宜采用传统的治疗方法或经济上不能承受传统治疗方法时龋齿的应急治疗。ART的技术方法是，用手用器械去除龋损表层感染的牙本质，然后用自凝玻璃离子水门汀充填窝洞。

本研究的目的是在实验动物活体状态下，评价封闭性修复体下方牙本质龋的进展速度。由于变形链球菌被认为是人类龋齿最主要的病原菌，因此本研究通过在鼠口腔内接种变形链球菌，使其磨牙发生实验性龋齿。产生龋损后，用玻璃离子水门汀或复合树脂进行封闭，

译者　北京大学口腔医学院
北京海淀区中关村南大街22号　100081

在染色切片上测量细菌入侵的深度和宽度。

材料和方法

实验性龋的产生

实验方案和设备得到了东京医科齿科大学动物保护道德委员会的允许。

本实验采用3周龄的无特殊病原菌(specific pathogen-free,SPF)的雄性Wistar鼠(Clea Japan)16只,实验鼠口腔内接种变形链球菌(ATCC 25175)。接种方法是:用一次性微吸液管将大约0.2ml含有变形链球菌的液体注射到动物的口腔和颊囊中,每天接种1次,连续7天。用Hamada等人提出的方法给动物进食致龋性食物。为确定接种细菌的定植状况,用选择性培养基:轻唾琼脂(Difuco)验证变形链球菌的存在。

龋坏磨牙的封闭性修复

细菌接种38~52天后,将16只鼠分为2组,每组8只。每只实验鼠的右侧上下颌龋损磨牙为对照组,不作任何处理;左侧上下颌龋损磨牙为实验组。实验组用以下方法进行修复:

第一实验组 采用自酸蚀粘接剂(Clearfil SE Bond, Kuraray公司)和低-粘度复合树脂(Protect Liner F, Kuraray公司)。龋损不去腐,直接用自酸蚀处理剂处理20秒,吹干后涂布树脂粘接剂,光固化10秒。然后,将低粘度光固化复合树脂填入窝洞中,光固化40秒。

第二实验组 龋损磨牙不去腐,直接用新鲜调制的玻璃离子水门汀(Fuji IX, GC公司)充填。

组织学评价

充填完成后39~53天,将鼠处死,拔除牙齿,在10%的福尔马林中性缓冲液中固定7天。固定后的牙齿用Plank-Rychlo's脱矿液(Wako Pure Chemical)在4℃的条件下脱矿4天,用5%的硫酸钠中和6小时,流水冲洗6小时。去除树脂或玻璃离子充填体,牙齿脱水后包埋在石蜡中。制作5μm(原文5mm,编者)厚的系列组织切片,用苏木精-伊红或格兰氏染色观察细菌。

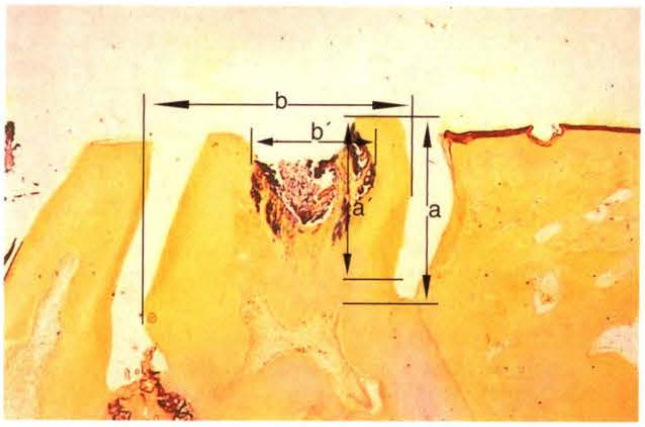

图1 细菌侵入牙本质的速率和龋病扩展的速率。a'/a = 细菌进入牙本质的速率;b'/b = 龋病扩展的速率

所有切片在光学显微镜下,对龋齿的3个组织学特征进行评价:

1、细菌入侵牙本质的速率:细菌入侵深度的测量是从病损的最顶端到入侵最前沿的距离,除以冠部牙本质的厚度(图1)。公式如下:

$$细菌入侵速率 = \frac{细菌入侵的深度}{冠部牙本质的总厚度}$$

2、龋病进展的速率:测量龋损的宽度除以冠部牙本质的宽度(图1)。公式如下:

$$龋病进展速率 = \frac{龋病损的宽度}{冠部牙本质的总宽度}$$

3、牙髓组织的炎症:炎性细胞的浸润分为4个等级:无=0(无炎性细胞浸润);轻度=1(散在少量的炎性细胞);中度=2(炎性细胞显著增多);重度=3(脓肿形成或牙髓坏死)。

对同一动物的实验组(左侧上下颌牙齿)和对照组(右侧上下颌牙齿)的组织病理学特征进行比较。

使用Kruskal-Wallis检验法,分别对细菌入侵牙本质速率、龋病扩展速率及炎性细胞浸润速率进行显著性检验,$P<0.05$时为显著差异。

表 1 细菌侵入与龋病进展组织学评价

组别	细菌侵入 实验组	细菌侵入 对照组	细菌侵入 比值*	龋病进展 实验组	龋病进展 对照组	龋病进展 比值*
Fuji Ⅸ						
1	0.90	1.00	0.90	0.50	0.70	0.71
2	0.60	0.90	0.67	0.05	0.80	0.06
3	0.70	0.90	0.78	0.60	0.80	0.75
4	0.70	1.00	0.70	0.60	0.60	1.00
5	0.60	1.00	0.60	0.20	0.60	0.33
6	0.50	1.00	0.50	0.10	0.80	0.13
7	1.00	1.00	1.00	0.30	0.10	3.00
8	0.50	0.80	0.63	0.10	0.50	0.20
均值	0.69	0.95	0.72	0.31	0.61	0.77
标准差	0.18	0.760	0.16	0.23	0.24	0.66
Clearfil SE Bond + Protect liner F						
9	0.20	0.90	0.22	0.05	0.50	0.10
10	1.00	0.90	1.10	0.70	0.50	1.40
11	1.00	1.00	1.00	0.05	1.00	0.05
12	0.90	0.90	1.00	0.90	1.00	0.90
13	0.80	0.80	1.00	0.30	0.50	0.60
14	0.40	0.80	0.50	0.10	0.90	0.11
15	0.50	1.00	0.50	0.50	0.80	0.63
16	0.30	1.00	0.30	0.40	0.70	0.57
均值	0.64	0.91	0.70	0.38	0.74	0.54
标准差	0.32	0.08	0.36	0.31	0.22	0.46

SD= 标准差
* 细菌侵入的比率=细菌侵入的深度（实验组）÷冠部牙本质的总厚度（对照组）；龋病扩展的比率=龋损的宽度（实验组）÷冠部牙本质的 总宽度（对照组）

扫描电镜观察

用扫描电子显微镜(SEM)观察牙本质龋损与充填体交界处的组织结构。每个实验组取 2 颗牙齿，每颗牙齿再分割成两半，这样每个实验组得到 4 个实验样本(n=4)。将样本用碳化硅砂纸和颗粒直径小于 0.25mm 的金刚砂研磨膏进行湿研磨和抛光后，放置在真空中过夜，对充填体-牙本质界面喷金处理后作 SEM 检查。

结果

组织学评价

组织学评价结果见表 1 和表 2。

与对照组相比，用玻璃离子水门汀或复合树脂封闭的样本中，细菌侵入牙本质及龋损的进展速率均显著减慢(图 2，$P<0.05$)。细菌入侵和龋损的扩展速率在不同封闭材料之间无显著性差异($P>0.05$)。在牙髓炎性细胞浸润方面，用玻璃离子水门汀和复合树脂封闭的样本没有显著差别($P>0.05$)。用两类修复材料封闭龋损的牙齿，其牙髓反应均明显低于未封闭龋损的牙齿($P<0.05$)。

表 2 牙髓反应

治疗	实验组 分数 0	1	2	3	均值	对照组 分数 0	1	2	3	均值
Fuji Ⅸ	3	2	2	1	1.1	3	0	3	2	1.5
Clearfil SE Bond + Protect liner F	5	0	1	2	1.0	2	0	2	4	2.0

扫描电镜观察

图 3 显示粘接界面的 SEM 图像。

牙本质龋由于矿物含量低，表现为暗带。在粘接界面处，可观察到一个 2~5mm 厚的“变异的混合层”。

讨论

在活体状态下，用树脂封闭牙本质龋损后，树脂单体似乎可以渗入龋损中，在粘接界面形成一个变异的混合层。通过在正常的牙本质中形成传统的混合层，在龋损的牙本质中形成变异的混合层，实验组可以形成有效的粘接(图 2)。众所周知，与完全由牙本质构成的洞缘相比，由牙釉质构成的窝洞边缘的密封性更好。因此，鼠磨牙 Ⅰ 类洞的树脂或玻璃离子充填体可以有效阻止口腔内营养物向龋损内部病原菌的供给。

被封闭病损的龋病进展速度比对照组那些没有封闭的病损进展显著减慢。以往的研究已经表明，粘接和封闭性的充填体有减慢窝洞内部龋病进展速度的潜能。此结论与本研究结果一致。然而，在牙髓反应方面，尽管实验组和对照组的牙髓组织学表现有显著不同，但在已封闭龋损牙齿的牙髓中仍可以看到中到重度的炎性细胞浸润。这一结果表明，仅通过封闭虽可减缓龋病的进程，使其从活跃状态变为慢性状态，但并不能使之完全静止。

本研究与以往研究结果的差异可能源于病损中剩余腐

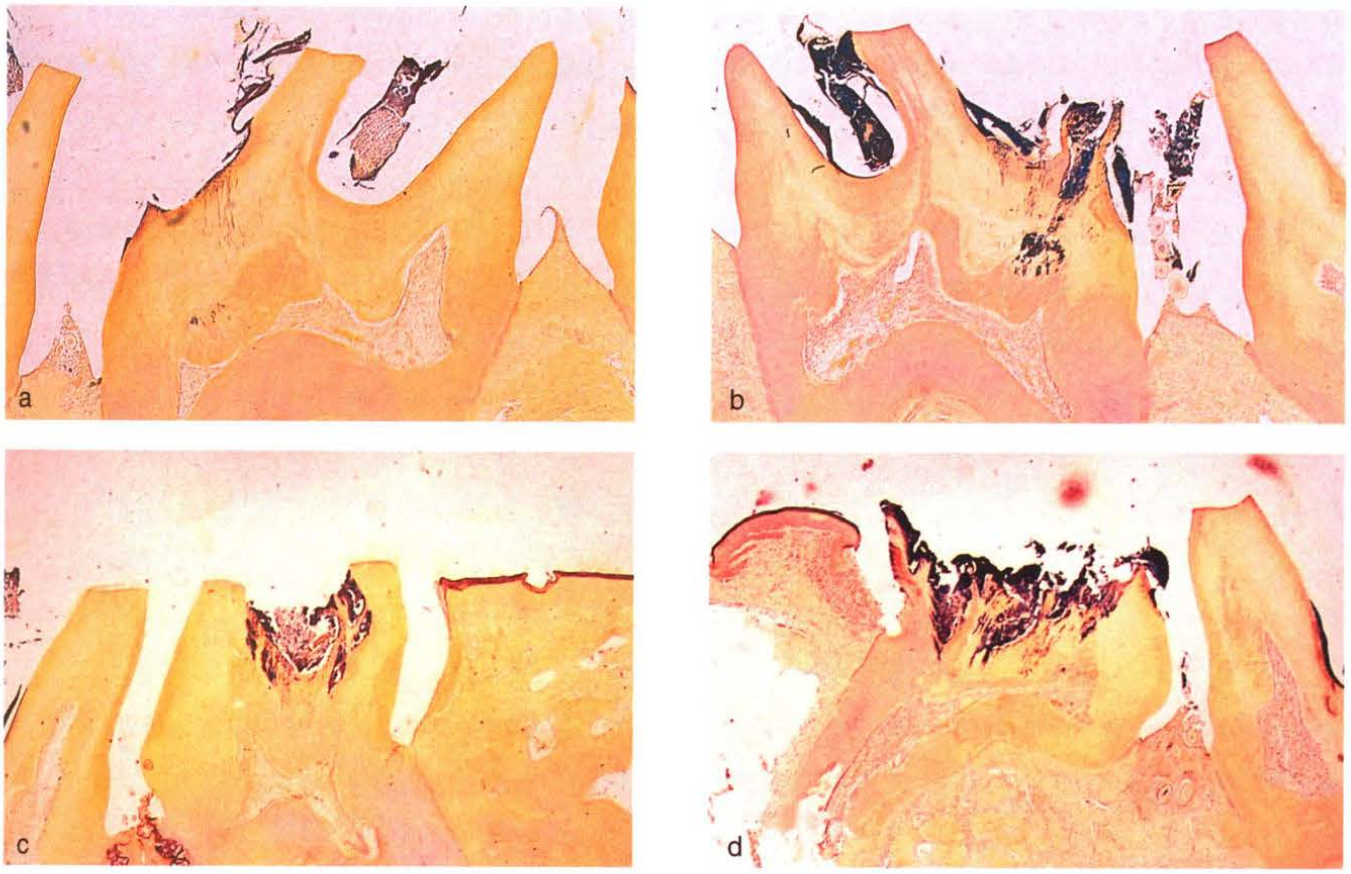

图 2 用 Clearfil SE Bond 和 Protect liner F 封闭的龋损牙齿(a)；a 的对照侧(b)。用 Fuji IX 封闭的龋损牙齿(c)；c 的对照侧(d)

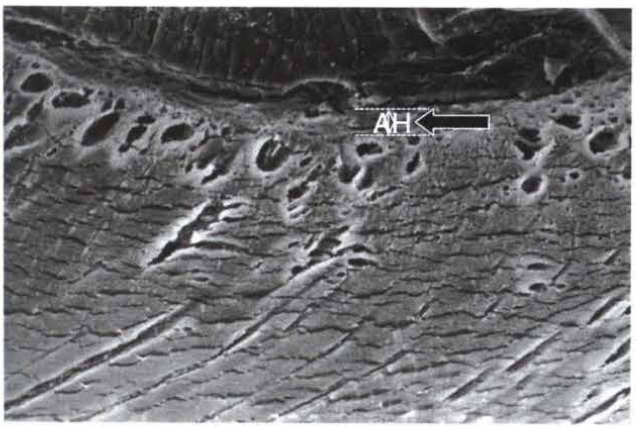

图 3 用 Clearfil SE Bond 和 Protect liner F 封闭的龋损牙齿的 SEM 图象。在龋损牙本质和粘接剂之间形成了变异的混合层(箭头所指，AH)

质数量的不同。在本实验中，没有进行任何去腐就进行充填，而以往的大多数研究都在粘接前去除了部分龋损组织。本研究的结果说明，如果牙本质中遗留的龋原性细菌和有机食物过多，仅通过粘接修复不能完全阻止龋病的进展。Higashi 等报道，鼠牙龋齿的发展过程与人类龋齿的活动期类似。本研究实验性龋齿的形成过程可能就是急性进展过程。如果在鼠磨牙上能形成慢性病损，封闭就有可能使病损静止。

在本研究中，2 种类型的修复材料对龋病进展的影响没有显著性差异。可见玻璃离子水门汀中的氟并没有对龋病的进展产生积极影响，具体原因尚不清楚。但有可能自酸蚀处理剂也有抗菌效应，或者由于充填体下方的腐质过多，掩盖了氟的功效。

尽管粘接树脂在应用处理剂后立即涂布，但是它可能和处理剂并没有形成很好的共聚反应。由于龋坏处牙本质胶原的损伤和/或树脂的疲劳，树脂对龋坏牙本质的粘接效果可能不及完好牙本质的粘接效果。因此，从粘接的观点来说，在充填之前，龋坏牙本质应该被去除。

虽然在充填体下方观察到大量被染色的细菌，但封闭

还是显著减慢了病损的进程。这些研究结果表明,用修复性才材料充填龋损(尤其是活动性龋损),可作为减慢病损进展的有效临时措施。但如果病损自然发展过程缓慢,去除部分龋损组织后再行粘接修复,病损也由可能会静止。此结论对人类龋齿的意义尚需在人牙研究中进一步确认。

结论

根据本研究的结果,可得到如下结论:

1. 用玻璃离子水门汀或树脂封闭龋损后,细菌入侵牙本质和龋病的进展速度均显著减慢($P<0.05$)。

2. 两种封闭材料对于细菌入侵和龋病进展的影响没有显著差别($P>0.05$)。

3. 尽管被封闭龋损的牙齿比未被封闭龋损的牙齿的牙髓反应小,但在封闭龋损牙齿的牙髓中仍然可以观察到中到重度的炎性细胞浸润。

4. 仅通过封闭并不能使鼠牙的龋病病损完全静止

第十一届中国国际口腔器材展览会暨学术研讨会通知

由中国国际科技会议中心、上海交通大学医学院附属第九人民医院主办;中华口腔医学会协办;上海交通大学口腔医学院、上海展星展览服务有限公司承办的"第十一届中国国际口腔器材展览会暨学术研讨会"将于2007年11月7-10日在上海光大会展中心举行。

第十一届中国国际口腔器材展览会暨学术研讨会将吸引来自德国、法国、日本、澳大利亚、加拿大等国家及中国国内口腔医学领域的医生、专家和学者云集上海;国际知名厂商将为展会带来最新产品、技术和成果,欢迎广大口腔医学工作者踊跃参加。

学术报告会将安排口内、口外、正畸、口腔修复、口腔预防和儿童口腔医学等多场专题报告及现场演示。凡是出席本届会议并修完规定课程的学员,均可获得Ⅰ类继续教育学分,并获得由中华口腔医学会颁发的继续教育学分证书。

展会网址:www.dentech.com.cn 或 www.congress.com.cn

会务垂询:

中国国际科技会议中心 张黎辉
电话:010- 62103108
传真:010-62180723, 62180620
电子邮件:ciccst@congress.com.cn

上海展星展览服务有限公司 许晶晶
021-62946966/7/8
021-62800908
jingjing@showstar.net

学术垂询:

上海市口腔医学研究所 张濒
电话/传真:021-63135412 021-63138341

大会组委会