



抗微生物光动力疗法治疗牙周炎的研究进展

石燕¹ 王冬青²

摘要

牙周炎是菌斑生物膜感染引发的牙齿周围支持组织的慢性感染性疾病。清除菌斑生物膜和消除炎症是牙周治疗的首要目的。龈下刮治和根面平整是目前牙周非手术治疗最常规的方法，但单纯的机械作用并不能完全清除病原体，局部或者全身使用抗菌药物如抗生素，虽然可以增加机械治疗的效果，但长期使用可能会导致细菌耐药性的产生。本文的目的在于探讨一种新的辅助手段——抗微生物光动力疗法治疗牙周炎的研究进展。

关键词 光动力疗法；抗感染；牙周炎

1 引言

牙周炎是累及牙周支持组织的炎症性、破坏性疾病，是成人牙齿丧失的首要原因，对全身的健康和生活质量等都有深远影响。牙周治疗主要分为基础治疗、手术治疗和维持治疗。超声、手工龈下刮治和根面平整 (scaling and root planing, SRP) 的机械清除是目前最常用的牙周治疗手段^[1]。但是，对于已经进入到组织细胞中的致病菌、深的牙周袋底、根分歧区、骨内缺陷等器械难以探及的地方，单纯的 SRP 难以达到理想的治疗效果；而且，不完善的机械清除可能会导致病原菌生长的加快，牙

周病的复发。为了克服这些局限性，许多辅助方法被引入，如全身或局部给予抗生素、抗菌剂、激光和光动力疗法等。Teughels 等认为阿莫西林和甲硝唑的全身联合使用是改善牙周炎临床指标最有效的组合^[2]。Pal 等^[3]与 Souza 等^[4]指出光动力疗法辅助常规 SRP 可以获得与阿莫西林和甲硝唑全身联合用药相似的临床效果。而相比于全身抗生素的使用，光动力疗法无细胞毒性、可作为局部分子靶点短时间破坏细菌、真菌、病毒等复杂微生物结构^[5]，不会产生细菌耐药性，可减少患者负担。因此，本文旨在分析抗微生物光动力疗法在牙周治疗中的应用进展。

作者单位 ¹ 首都医科大学口腔医学院

² 首都医科大学附属北京口腔医院特诊特需科

通讯作者 王冬青

联系方式 010-57099272

电子邮箱 wdqoral@163.com

通讯地址 北京市东城区天坛西里4号, 100050

基金项目 北京市属医院科研培育项目 (PX2019056)

2 抗微生物光动力疗法

抗微生物光动力疗法 (antimicrobial photodynamic therapy, aPDT) 是一种新型无创控制感染的方法, 其基本原理是光敏剂被特定细胞或组织吸收后, 在特定波长的光照射下产生以单线态氧为主的一系列活性氧物质 (reactive oxygen species, ROS)。ROS 可以与微生物的磷脂、核酸和蛋白质等生物大分子反应, 对细菌细胞形成损伤, 这种损伤可能是细胞膜或蛋白质的氧化损伤。此种单线态氧作用距离为 $0.02\ \mu\text{m}$, 半衰期短, 形成耐光菌种的可能性较低; 同时, 因为其作用距离短, 不会损伤远处细胞、分子及器官, 成为局部治疗的理想手段^[6,7]。

3 牙周治疗中的抗微生物光动力疗法

3.1 光敏剂和光源

已有大量文献表明多种光敏剂介导的 aPDT 对牙周主要致病菌, 如牙龈卟啉单胞菌、具核梭杆菌、伴放线聚集杆菌等有明显的抗菌能力^[5,8,9]。PDT 的光敏剂主要分为两大类: 一类是卟啉类及其卟啉衍生物光敏剂, 另一类是非卟啉类光敏剂。卟啉类光敏剂依据结构上的差异大致分为卟啉、卟吩、菌绿素、酞菁等, 主要用于抗肿瘤治疗。近年来其抗微生物效果也受到关注, 如新型卟啉钠复合物华卟啉钠 (sinoporphyrin sodium, DVDMS)、雷氯磷 (radachlorin)、二氢卟吩 e6 (Chlorine-e6, Ce6) 等。非卟啉类光敏剂则有很好的光敏杀菌、杀伤病毒的作用, 包括阳离子型光敏剂, 酞类光敏剂、姜黄素和氟硼二吡咯 (boron dipyrromethene, BODIPY) 类光敏剂等。目前常用于牙周治疗的光敏剂甲苯胺蓝 O (toluidine blue O, TBO) 和亚甲基蓝 (methyleneblue, MB) 就属于非卟啉类中的阳离子型光敏剂。其吸收波长为 $600\sim 660\text{nm}$, 能有效产生 ROS。MB 和 TBO 具有相似的杀菌效果, 能够灭活革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌^[9]。姜黄素是从姜黄的根茎中提取出的一种植物多酚, 不仅具有抗炎、抗氧化、抗微生物和促进伤口愈合的作用^[10-12], 还有较为明显的光敏作用^[13], 它具有宽吸收峰 ($300\sim 500\text{nm}$), 最大吸收波长为 430nm , 与牙科光固化灯发出的蓝光兼容。

目前, aPDT 治疗牙周病大多采用的光源是低能量半导体激光, LED 作为非激光光源也得到了广泛应用。平常用到的光源有紫外、红外和可见光三种。在牙周治疗领域中, 红光和蓝色光敏剂如 TBO

或 MB 组合的光动力疗法的研究最多^[5,14]。而蓝光可激活细菌细胞内卟啉或细菌内的色素如核黄素, 细胞色素等产生光毒性^[15], 破坏细菌细胞膜及细胞器膜, 进而杀灭细菌。 455nm 波长的蓝光 LED 单独照射可影响牙菌斑组成^[16]。Goulart 等^[17]2010 年首次发现牙科用光固化灯可以激发玫瑰红 (rose bengal, RB), 赤藓红 (erythrosine) 和 MB 释放活性氧, 因为这些光敏剂的吸收光谱是与牙科光固化灯的光谱一致 ($300\sim 800\text{nm}$)。蓝光作为光动力疗法的光源或可取得更好的杀菌效果。

3.2 体外实验

目前, 大量离体实验证实了 aPDT 可以有效杀灭牙周致病菌。1992 年 Wilson 和 Dobson 就发现 TBO、MB 结合低能量的氩氦激光可以有效杀死牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*, *P.g*)、具核梭杆菌 (*Fusobacterium nucleatum*, *F.n*)、伴放线聚集杆菌 (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *A.a*)^[9]。之后大量研究证明 TBO/MB 联合红光可以有效杀灭浮游和生物膜中的牙周致病菌^[5,14,18]。

玫瑰红是一种高效安全的光敏剂, 也是一种菌斑染色剂。Chui 等^[19]对比了高功率 LED 蓝光 ($425\sim 500\text{nm}$) 联合 RB 与红光 LED ($625\sim 635\text{nm}$) 联合 TBO 两种光动力疗法对 *P.g* 的杀菌作用, 结果显示前者的杀菌效果明显优于后者。我们的研究^[20,21]也发现中等功率密度的蓝光 LED ($450\sim 470\text{nm}$) 联合 RB 染料的 aPDT 可以有效抑制 *P.g*、*F.n*, 特别是 *A.a* 的生长。Kitanaka 等^[22]发现 RB 介导的 aPDT 对 *P.g* 的杀菌效果比 0.2% 氯己定溶液高出 3 个对数值, 同时人牙龈成纤维细胞的活力比氯己定组高 20%。

Zakeri 等^[23]发现与 $60\ \mu\text{mol/L}$ 姜黄素溶液孵育 5min, 用蓝光 LED 照射 2min, *P.g* 的存活率降低到 0。但我们发现 $20\ \mu\text{mol/L}$ 姜黄素孵育 2min, 蓝光辐照 1min, *F.n* 和 *P.g* 的存活率只降低了 0.43 对数值^[24]。结果的差异可能与使用的蓝光能量密度及姜黄素浓度或孵育时间不同有关。除此之外, 近年的研究发现卟啉类光敏剂介导的 PDT 也可以获得和亚甲基蓝介导的 aPDT 类似的杀菌效果^[5,25,26]。Zago 等^[27]最近报道, 对甲硝唑耐药的龈下菌斑对 MB、Ce6 和姜黄素介导的 aPDT 敏感。因此, aPDT 在对抗口腔感染方面越来越显示出潜力。

3.3 在体实验

大多数动物实验也肯定了PDT对牙周组织的安全性、抗炎性及杀菌性^[28-30]。TBO和半导体激光联合的光动力疗法不仅可以降低大鼠实验性牙周炎的微生物负荷,明显改善菌斑指数和龈沟出血指数等临床指标^[31,32],还可以显著减少大鼠牙槽骨的吸收^[33,34]。de Moraes M等^[35]发现使用氯化铝酞菁结合低能量激光的aPDT具有免疫抑制作用,可以通过抑制TNF- α 达到减少组织破坏的目的。Theodoro等^[36]的研究显示,联合使用40 μ mol/L姜黄素溶液和蓝光LED(465~485nm, 200mW/cm²)照射1min的光动力疗法,可导致RANKL表达下调,减少牙槽骨吸收。也有研究指出在狗实验性牙周炎模型(结扎法)中,Ce6结合半导体激光(波长662nm,功率100mW,照射20秒)的aPDT辅助SRP并未带来额外的临床参数和细胞因子水平的改善^[37]。

3.4 临床研究

国内外很多研究评估了PDT作为辅助手段对牙周炎的治疗效果,主要是应用红光和蓝色染料(MB或TBO)^[38-40]。尽管大量的数据显示aPDT的优势,但临床研究的结果仍存在争议。葛琳华和束蓉^[38]于2008年首次在国内报道了aPDT对慢性牙周炎的疗效。将60例慢性牙周炎患者随机分为SRP+1次aPDT(0.01%MB和670nm半导体激光,100mW)、SRP+2次aPDT和单纯SRP组,发现aPDT对*P.g*和福赛氏拟杆菌的抑菌效果较单纯SRP更显著,但1次与2次aPDT的结果没有差异。Grzech-Lesniak等^[39]观察到3次aPDT(0.1%TBO+635nm半导体激光,200mW;SPR后即刻、1周和2周)与单独SRP相比,6个月随访时全口菌斑评分、牙周探诊深度以及临床附着水平方面的改善更明显,同时对红色和橙色复合体的抗菌效果更明显。边龙霞等^[40]近期也报道SRP联合3次aPDT(0.005%亚甲蓝+670nm半导体激光,150mW;SRP后1周、4周和12周),6个月随访时*A.a*和*F.n*的数量较单纯SRP组显著下降,CAL

改善也更明显。Sukumar等^[7]最近使用吡啶菁绿介导的aPDT(810nm,0.8W,30s)辅助治疗慢性牙周炎的研究也得到相似结果,SRP+aPDT可以改善患者的临床预后,并能更有效杀灭*P.g*和*A.a*等牙周致病菌。Ivanaga等^[41]发现对于2型糖尿病牙周炎患者在SRP后即刻进行单次aPDT(100mg/L姜黄素+二极管灯InGaN,465~485nm,60s)比单纯SRP短期(3个月)CAL的改善更明显。

但也有研究认为,辅助PDT对于深牙周袋并不能获得更好临床指标的改善^[42]。Borekci等^[43]指出aPDT(0.1mg/ml TBO,625~635nm,1W,60s)辅助SRP与单独SRP相比,对于侵袭性牙周炎除出血指数以外的临床和微生物指标没有任何差异。Ramanauskaite等^[44]2021年发表的关于维护期残余深袋的单次或多次应用aPDT辅助SRP的临床有效性的荟萃分析,对符合要求的8篇论文(定期随访的牙周炎患者,随机平行或分口设计,对照组为单纯SRP或加安慰剂)分析后指出,对于牙周维护期患者的残余深袋,龈下刮治后单次与多次aPDT均可以更好的降低探诊出血,但并没有发现多次使用的优越性。

关于aPDT辅助治疗牙周炎的临床研究大都是短期的,其长期疗效还有待探讨。aPDT在降低探诊深度和获得临床附着方面具有与常规刮治相似的疗效,但现有临床证据受到对照研究数量较少和研究设计的异质性等限制,相较于常规刮治是否有额外的获益仍有待证实^[45],也还需要大样本、长周期、多中心的随机对照研究。

4 总结与展望

aPDT辅助治疗可能会让重度牙周炎患者受益,但其疗效依赖于适宜的光敏剂浓度、照射光剂量等具体治疗参数的精确优化。因此还需进行大量深入的基础研究和临床试验,特别是中长期的随机对照临床研究。

综上所述,aPDT是一种极具潜力的治疗牙周炎的新方法,可以作为辅助治疗手段或通过联合使用的方法提高牙周炎的治疗效果。

参考文献

- [1] Javed F, Salehpoor D, Al-Dhafeeri T, et al. Is adjunctive photodynamic therapy more effective than scaling and root planing alone in the treatment of periodontal disease in hyperglycemic patients? A systematic review[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2018; 22:1-6.
- [2] Teughels W, Feres M, Oud V, et al. Adjunctive effect of systemic antimicrobials in periodontitis therapy: A systematic review and meta-analysis[J]. J Clin Periodontol. 2020; 47

- Suppl 22:257-281.
- [3] Pal A, Paul S, Perry R, et al. Is the Use of Antimicrobial Photodynamic Therapy or Systemic Antibiotics More Effective in Improving Periodontal Health When Used in Conjunction with Localised Non-Surgical Periodontal Therapy? A Systematic Review[J]. Dent J (Basel). 2019; 7(4):108.
- [4] Souza EQM, da Rocha TE, Toro LF, et al. Antimicrobial photodynamic therapy compared to systemic antibiotic therapy in non-surgical treatment of periodontitis: Systematic review and meta-analysis[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020; 31:101808.
- [5] Moslemi N, Rouzmeh N, Shakerinia F, et al. Photodynamic Inactivation of Porphyromonas gingivalis utilizing Radachlorin and Toluidine Blue O as Photosensitizers: An In Vitro Study[J]. J Lasers Med Sci. 2018; 9(2):107-112.
- [6] Bourbour S, Beheshti M, Kazemian H, et al. Effects of Micro RNAs and their Targets in Periodontal Diseases[J]. Infect Disord Drug Targets. 2018; 18(3):183-191.
- [7] Sukumar K, Tadepalli A, Parthasarathy H, et al. Evaluation of combined efficacy of photodynamic therapy using indocyanine green photosensitizer and non-surgical periodontal therapy on clinical and microbial parameters in the management of chronic periodontitis subjects: A randomized split-mouth design[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020; 31:101949.
- [8] Dobson J, Wilson M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser[J]. Arch Oral Biol. 1992; 37(11):883-887.
- [9] Wilson M, Dobson J, Harvey W. Sensitization of oral bacteria to killing by low-power laser radiation[J]. Curr Microbiol. 1992; 25(2):77-81.
- [10] Izui S, Sekine S, Maeda K, et al. Antibacterial Activity of Curcumin Against Periodontopathic Bacteria[J]. J Periodontol. 2016; 87(1):83-90.
- [11] Kong R, Kang OH, Seo YS, et al. MAPKs and NF- κ B pathway inhibitory effect of bisdemethoxycurcumin on phorbol-12-myristate-13-acetate and A23187-induced inflammation in human mast cells[J]. Mol Med Rep. 2018; 17(1):630-635.
- [12] Sukumaran SK, Vadakkekuttical RJ, Kanakath H. Comparative evaluation of the effect of curcumin and chlorhexidine on human fibroblast viability and migration: An in vitro study[J]. J Indian Soc Periodontol. 2020; 24(2):109-116.
- [13] Li Y, Jiao J, Qi Y, et al. Curcumin: A review of experimental studies and mechanisms related to periodontitis treatment[J]. J Periodontol Res. 2021; 56(5):837-847.
- [14] Moslemi N, Soleiman-Zadeh Azar P, Bahador A, et al. Inactivation of Aggregatibacter actinomycetemcomitans by two different modalities of photodynamic therapy using Toluidine blue O or Radachlorin as photosensitizers: an in vitro study[J]. Lasers Med Sci. 2015; 30(1):89-94.
- [15] Cieplik F, Tabenski L, Buchalla W, et al. Antimicrobial photodynamic therapy for inactivation of biofilms formed by oral key pathogens[J]. Front Microbiol. 2014; 5:405.
- [16] Soukos NS, Stultz J, Abernethy AD, et al. Phototargeting human periodontal pathogens in vivo[J]. Lasers Med Sci. 2015; 30(3):943-952.
- [17] Goulart Rde C, Thedei G Jr, Souza SL, et al. Comparative study of methylene blue and erythrosine dyes employed in photodynamic therapy for inactivation of planktonic and biofilm-cultivated Aggregatibacter actinomycetemcomitans[J]. Photomed Laser Surg. 2010; 28 Suppl 1:S85-90.
- [18] Klepac-Ceraj V, Patel N, Song X, et al. Photodynamic effects of methylene blue-loaded polymeric nanoparticles on dental plaque bacteria[J]. Lasers Surg Med. 2011; 43(7):600-606.
- [19] Chui C, Aoki A, Takeuchi Y, et al. Antimicrobial effect of photodynamic therapy using high-power blue light-emitting diode and red-dye agent on Porphyromonas gingivalis[J]. J Periodontol Res. 2013; 48(6):696-705.
- [20] 潘慧, 王冬青. LED 蓝光联合玫瑰红对具核梭杆菌的体外光动力灭菌研究[J]. 中国激光医学杂志, 2018, 27(4):259-264.
- [21] Wang D, Pan H, Yan Y, et al. Rose bengal-mediated photodynamic inactivation against periodontopathogens in vitro[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2021; 34:102250.
- [22] Kitanaka Y, Takeuchi Y, Hiratsuka K, et al. The effect of antimicrobial photodynamic therapy using yellow-green LED and rose bengal on Porphyromonas gingivalis[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020; 32:102033.
- [23] Mahdi Z, Habiboallh G, Mahbobeh NN, et al. Lethal effect of blue light-activated hydrogen peroxide, curcumin and erythrosine as potential oral photosensitizers on the viability of Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum[J]. Laser Ther. 2015; 24(2):103-111.
- [24] 王冬青, 潘慧, 张凤秋. 姜黄素介导光动力疗法对具核梭杆菌的体外抑菌效应研究[J]. 北京口腔医学, 2021, 29(4):203-206.
- [25] Garcia de Carvalho G, Sanchez-Puetate JC, Donatoni

- MC, et al. Photodynamic inactivation using a chlorin-based photosensitizer with blue or red-light irradiation against single-species biofilms related to periodontitis[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020; 31:101916.
- [26] Song Y, Lin J, Zhang Z, et al. Antimicrobial effect of photodynamic therapy using sinoporphyrin sodium and 390-400nm light-emitting diode on Porphyromonas gingivalis in vitro[J]. Lasers Med Sci. 2021; 36(1):153-164.
- [27] Zago LHP, de Annunzio SR, de Oliveira KT, et al. Antimicrobial photodynamic therapy against metronidazole-resistant dental plaque bacteria[J]. J Photochem Photobiol B. 2020; 209:111903.
- [28] Luan XL, Qin YL, Bi LJ, et al. Histological evaluation of the safety of toluidine blue-mediated photosensitization to periodontal tissues in mice[J]. Lasers Med Sci. 2009; 24(2):162-166.
- [29] Qin YL, Luan XL, Bi LJ, et al. Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats[J]. J Periodontal Res. 2008; 43(2):162-167.
- [30] de Oliveira RR, Novaes AB Jr, Garlet GP, et al. The effect of a single episode of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of experimental periodontitis. Microbiological profile and cytokine pattern in the dog mandible[J]. Lasers Med Sci. 2011; 26(3):359-367.
- [31] 栾秀玲, 秦艳利, 胡艳秋. 甲苯胺蓝介导的光动力疗法对大鼠口腔牙周致病菌灭菌效果的研究 [J]. 口腔医学研究, 2012, 28(2):102-105.
- [32] 栾秀玲, 马卫东, 秦艳利, 等. 光动力疗法治疗牙周病模型大鼠效果观察 [J]. 中国实用口腔科杂志, 2009, 2(10):618-620.
- [33] Prates RA, Yamada AM, Suzuki LC, et al. Histomorphometric and microbiological assessment of photodynamic therapy as an adjuvant treatment for periodontitis:a short-term evaluation of inflammatory periodontal conditions and bacterial reduction in a rat model[J]. Photomed Laser Surg. 2011; 29(12):835-844.
- [34] de Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, et al. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats[J]. J Periodontol. 2007; 78(3):566-575.
- [35] de Moraes M, Vasconcelos RC, Longo JP, et al. Photodynamic therapy using chloro-aluminum phthalocyanine decreases inflammatory response in an experimental rat periodontal disease model[J]. J Photochem Photobiol B. 2017; 167:208-215.
- [36] Theodoro LH, Ferro-Alves ML, Longo M, et al. Curcumin photodynamic effect in the treatment of the induced periodontitis in rats[J]. Lasers Med Sci. 2017; 32(8):1783-1791.
- [37] Sorkhdini P, Moslemi N, Jamshidi S, et al. Effect of hydrosoluble chlorine-mediated antimicrobial photodynamic therapy on clinical parameters and cytokine profile in ligature-induced periodontitis in dogs[J]. J Periodontol. 2013; 84(6):793-800.
- [38] 葛琳华, 束蓉, 沈敏华. 光动力疗法对慢性牙周炎患者龈沟液 IL-1 β 和 MMP-8 含量的影响 [J]. 上海口腔医学, 2008(01):10-14.
- [39] Grzech-Leśniak K, Gaspirc B, Sculean A. Clinical and microbiological effects of multiple applications of antibacterial photodynamic therapy in periodontal maintenance patients. A randomized controlled clinical study[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2019; 27:44-50.
- [40] 边龙霞, 王金萍, 王艳梅, 等. 光动力疗法对慢性牙周炎辅助治疗的临床及微生物评价 [J]. 实用口腔医学杂志, 2020, 36(3):521-525.
- [41] Ivanaga CA, Miessi DMJ, Nuernberg MAA, et al. Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) with curcumin and LED, as an enhancement to scaling and root planing in the treatment of residual pockets in diabetic patients:A randomized and controlled split-mouth clinical trial[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2019 Sep; 27:388-395.
- [42] Tabenski L, Moder D, Cieplik F, et al. Antimicrobial photodynamic therapy vs. local minocycline in addition to non-surgical therapy of deep periodontal pockets:a controlled randomized clinical trial[J]. Clin Oral Investig. 2017 Sep; 21(7):2253-2264.
- [43] Borekci T, Meseli SE, Noyan U, et al. Efficacy of adjunctive photodynamic therapy in the treatment of generalized aggressive periodontitis:A randomized controlled clinical trial[J]. Lasers Surg Med. 2019 Feb; 51(2):167-175.
- [44] Ramanauskaite E, Moraschini V, Machiulskiene V, et al. Clinical efficacy of single and multiple applications of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal maintenance:A systematic review and network meta-analysis[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2021 Dec; 36:102435.
- [45] Salvi GE, Stähli A, Schmidt JC, et al. Adjunctive laser or antimicrobial photodynamic therapy to non-surgical mechanical instrumentation in patients with untreated periodontitis:A systematic review and meta-analysis[J]. J Clin Periodontol. 2020 Jul; 47 Suppl 22:176-198.