

# 硅酸钙的缺陷改性及其在口腔抑菌和牙齿再矿化的应用研究

胡媛媛<sup>1</sup> 张书颜<sup>1</sup> 张键华<sup>1</sup> 罗红蓉<sup>2</sup> 李运峰<sup>3</sup> 张静<sup>4</sup> 陈显春<sup>1</sup>

1. 四川大学高分子科学与工程学院, 成都 610065;

2. 四川大学国家生物医学材料工程研究中心, 成都 610065;

3. 口腔疾病防治全国重点实验室 国家口腔医学中心 国家口腔疾病临床医学研究中心  
四川大学华西口腔医院正颌及关节外科, 成都 610041; 4. 四川大学建筑与环境学院, 成都 610065

**[摘要]** **目的** 对硅酸钙(CSO)改性赋予光热抑菌性能, 评估其在口腔抑菌和牙齿再矿化方面的应用潜力。**方法** 采用缺陷工程改性策略, 通过硼氢化钠(NaBH<sub>4</sub>)热还原工艺将氧空位引入CSO, 制备4组缺陷改性CSO-T样品(CSO-300、CSO-400、CSO-500、CSO-600)。通过扫描电子显微镜(SEM)、X射线衍射仪、X射线光电子能谱仪、紫外近红外吸收光谱、红外热像仪对样品进行检测, 选取光热性能最好的粉末样品和最合适的材料浓度(CSO-500, 500 μg/mL)进行后续实验。采用高分辨率透射电子显微镜分析样品的微观晶体结构和形貌, MTT法及Calcein-AM/PI活/死细胞染色检测评估对人口腔角质形成细胞的毒性及相容性。选择大肠杆菌、金黄色葡萄球菌进行光热抑菌实验, 评价体外抑菌性能。利用SEM、能谱仪、显微维氏硬度计评价材料体外诱导离体牙再矿化能力。**结果** 氧空位缺陷改变了CSO的晶型和晶格间距, 拓宽了光吸收范围, 赋予了良好的近红外响应光热转换能力。缺陷改性后的CSO能够促进羟磷灰石在牙齿表面的生成, 实现牙齿再矿化, 提升牙齿的硬度, 并且具有光热抑菌特性且无细胞毒性。**结论** 氧空位缺陷改性黑色硅酸钙兼具促牙齿再矿化、光热抑菌等功能, 将其与红外发光牙刷结合使用, 可简单有效治疗过量饮用碳酸饮料等日常不良生活习惯导致的牙釉质侵蚀和口腔细菌相关疾病, 有望通过日常清洁达到牙齿再矿化和口腔抑菌协同治疗的效果。

**[关键词]** 牙齿再矿化; 硅酸钙; 光热效应; 抑菌; 氧空位

**[中图分类号]** R783.1 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2025.2025004



本文链接 开放科学标识码

## Defect modification of calcium silicate and its application in oral bacteriostasis and tooth remineralization

Hu Yuanyuan<sup>1</sup>, Zhang Shuyan<sup>1</sup>, Zhang Jianhua<sup>1</sup>, Luo Hongrong<sup>2</sup>, Li Yunfeng<sup>3</sup>, Zhang Jing<sup>4</sup>, Chen Xianchun<sup>1</sup>

1. College of Polymer Science and Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China; 2. National Biomedical Materials Engineering Research Center, Sichuan University, Chengdu 610065, China; 3. State Key Laboratory of Oral Diseases & National Center for Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Dept. of Orthognathic and Temporomandibular Joint Surgery, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 4. College of Architecture and Environment, Sichuan University, Chengdu 610065, China

Supported by: National Key Research and Development Program (2022YFB3804500); National Natural Science Foundation of China (52473312)

Correspondence: Zhang Jing, E-mail: zjing428@163.com; Chen Xianchun, E-mail: chenxianchun@scu.edu.cn

**[收稿日期]** 2025-01-03; **[修回日期]** 2025-02-27

**[基金项目]** 国家重点研发计划(2022YFB3804500); 国家自然科学基金(52473312)

**[第一作者]** 胡媛媛, 硕士, E-mail: 2022223090012@stu.scu.edu.cn

**[通信作者]** 张静, 副教授, 博士, E-mail: zjing428@163.com; 陈显春, 教授, 博士, E-mail: chenxianchun@scu.edu.cn

**[Abstract]** **Objective** Calcium silicate (CSO) is modified to give it photothermal antibacterial properties. Its application potential in tooth mineralization and oral antibacterial is evaluated. **Methods** Based on defect-engineering modification strategy, a series of CSO-T samples

(CSO-300, CSO-400, CSO-500, CSO-600) was obtained by introducing oxygen vacancy into CSO through thermal reduction using sodium borohydride. The samples were tested using scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction, X-ray photoelectron spectroscopy, ultraviolet near-infrared absorption spectroscopy, and infrared thermography. The powder samples with the best photothermal performance and the most suitable material concentration (CSO-500, 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) were selected for subsequent experiments. High resolution transmission electron microscopy was used to analyze the microstructure and morphology of the sample, and MTT assay and Calcein AM/PI live/dead cell staining were used to evaluate the toxicity and compatibility of the sample to human oral keratinocytes. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were selected for photothermal antibacterial experiments to evaluate their *in vitro* antibacterial performance. SEM, energy dispersive spectrometer, and micro Vickers hardness tester were used to evaluate the ability of materials to induce *in vitro* remineralization of detached teeth. **Results** Oxygen vacancies changed the crystal type and lattice spacing of  $\text{CaSiO}_3$ , broadened the light-absorption range, and gave it a good photothermal conversion ability in response to near infrared. *In vitro* experiments showed that the modified  $\text{CaSiO}_3$  could promote the formation of hydroxyapatite on the tooth surface, thereby promoting the remineralization of teeth and improving the teeth hardness. Moreover, it had photothermal antibacterial properties and no cytotoxicity. **Conclusion** Defect-modified black calcium silicate has multiple functions, such as promoting tooth remineralization and photothermal bacteriostatic. When combined with the infrared luminescent toothbrush, it can simply and effectively treat tooth enamel erosion and oral bacteriostatic diseases caused by the excessive consumption of carbonated beverages and other daily bad living habits. This combination is expected to achieve the synergic treatment effect of tooth remineralization and oral bacteriostatic through daily cleaning is expected.

**[Key words]** tooth remineralization; calcium silicate; photothermal effect; bacteriostasis; oxygen vacancy

牙齿是人体关键器官,承担着咀嚼、辅助发音与维持面部美观等重要功能,对保障人体正常生活起着不可或缺的作用<sup>[1]</sup>。然而,现今一些不良生活习惯,如长期过度摄入高糖食物和碳酸饮料,极大地增加了口腔患病风险。与此同时,日常刷牙难以完全清除牙齿表面及牙缝中的食物残渣和细菌菌斑<sup>[2-3]</sup>,这些因素相互叠加已成为牙周炎、龋齿等口腔疾病频发的重要诱因。其根源是上述因素导致致病菌在牙齿表面的积聚<sup>[4]</sup>,细菌滋生不仅使牙釉质矿物质暴露在菌群产生的酸中,造成表面缺损、硬度损失、牙齿脱落<sup>[5-6]</sup>,还会激活头颈癌相关基因的表达<sup>[7]</sup>。目前,临床上常用龈下刮治根面平整术或联用抗生素等清除致病性微生物群落<sup>[8-9]</sup>,对已酸蚀磨损牙齿则多采用机械填充等手段<sup>[10-11]</sup>,但这些方法都无法让牙齿再矿化或易催生耐药菌。因此,探讨兼具抑菌与牙齿再矿化功效的治疗策略非常重要。

正常中性口腔环境下,可从唾液摄取大量  $\text{Ca}^{2+}$  实现轻度酸蚀脱矿牙釉质的再矿化<sup>[12]</sup>,而严重酸蚀脱矿牙釉质无法自行修复。钙镁硅系生物活性材料因机械、生物等性能优异,常用于人体硬组织修复<sup>[13-15]</sup>,其中硅酸钙( $\text{CaSiO}_3$ ,简称CSO)在酸性环境下极易释放  $\text{Ca}^{2+}$ ,与唾液中的  $\text{PO}_4^{3-}$  在牙齿表面形成自然牙釉质的主要成分羟磷灰石(釉

质中含量96%~97%),以实现牙齿的再矿化<sup>[16-17]</sup>,因而成为目前市面上已有牙釉质修复牙膏的重要成分之一<sup>[18]</sup>。然而,因CSO本身不具有抑菌的效能,现有商品化修复牙膏无法从根本上解决因细菌滋生而导致的口腔酸性环境和口腔疾病问题。因此,对CSO改性赋予其抑菌功能有望通过日常干预而同步实现口腔抑菌和牙齿再矿化。

光热疗法(photothermal therapy, PTT)是一种新兴的治疗技术,主要基于光热转换材料即光热剂的特性,在抗菌抗肿瘤方面具有巨大的潜力。其作用原理是光热剂吸收特定波长的光能后,将光能转化为热能而杀伤目标物(如肿瘤组织、细菌)从而达到治疗目的。PTT具有精准、高效、副作用小等突出优点<sup>[19]</sup>,其所用外部光源一般是近红外光(near infrared, NIR),这是因为NIR相较紫外光(ultraviolet, UV)和可见光(visible, VIS)穿透性更强、更温和无害<sup>[20]</sup>。这也启发思考如何发展恰当的改性策略将牙膏中重要成分CSO改造成红外光响应的光热剂,如此结合市面上已有的红外发光牙刷在日常生活中即可实现口腔的清洁、抑菌和牙齿保健护理。

缺陷工程是一种通过在材料的晶体结构中有意地引入缺陷,来改变材料的物理和化学性质的改性方法,具有性能调控精准性高、丰富材料功

能多样性、环境友好且可持续性强等优点<sup>[21-23]</sup>。其中,引入空位点缺陷可在不改变材料化学成分的前提下优化其物化性能,对生物学性能要求高的医用材料来说是一种友好高效的改性策略。

基于以上背景,本研究利用硼氢化钠( $\text{NaBH}_4$ ),通过简便热还原工艺在CSO表面引入氧空位(oxygen vacancy)点缺陷,赋予其近红外响应光热转换能力,并经物性分析筛选得到光热性能良好的CSO材料,通过对其再矿化性能和抑菌性能研究,探寻出一种兼具抑菌和牙釉质修复功能的CSO生物材料,以便通过日常清洁即可达到牙齿再矿化和口腔抑菌协同治疗的效果。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料的制备

采用缺陷工程改性策略,通过 $\text{NaBH}_4$ 热还原工艺将氧空位引入CSO,制备缺陷改性CSO样品。

将质量比为8:3的CSO粉末(上海阿拉丁生化科技股份有限公司)和 $\text{NaBH}_4$ (成都科隆化学有限公司)混合物置于研钵中研磨40 min。随后,向混合物中加入双蒸水( $\text{ddH}_2\text{O}$ )进一步研磨。将所得混合物转移至管式炉,分别在氩气气氛下于300、400、500和600 °C煅烧60 min。自然冷却后得到4组热还原处理后的缺陷改性CSO样品,用 $\text{ddH}_2\text{O}$ 对其进行洗涤以去除多余的 $\text{NaBH}_4$ ,最后在60 °C下干燥12 h。将样品命名为CSO-T,其中T为煅烧温度(300、400、500、600 °C)。样品颜色如图1所示。未煅烧的CSO为灰白色,

300 °C煅烧后是浅灰色,400 °C煅烧后为深灰色,500 °C及600 °C煅烧后为黑色,颜色变化与高温下复杂反应带来的晶体结构变化相关。

### 1.2 材料的物性表征

采用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)(Apreo S, Thermo Scientific公司,美国)观察5组样品的表面形貌。采用X射线衍射仪(X-ray diffractometer, XRD)(XRD-6100, 岛津公司,日本)分析5组样品的晶体结构,利用Jade软件对XRD进行数据分析。通过配备单色K-Alpha X射线光电子能谱仪(X-ray photoelectron spectrometer, XPS)(Escalab 250Xi, Thermo Scientific公司,美国)分析5组样品的元素组成和化学状态,选择高分辨率扫描模式获取 $\text{O}_{1s}$ 光谱的精细结构( $\text{O}_{1s}$ 的扫描范围为528~538 eV),检测CSO-T表面是否存在氧空位缺陷。采用紫外近红外吸收光谱(UV/VIS/NIR)漫反射光谱法分析光学吸收特性,以硫酸钡( $\text{BaSiO}_4$ )的扫描做基底,扫描范围200~2 000 nm。使用红外热像仪(FLIR E6)实时监测5组样品在808 nm NIR(功率 $1.5 \text{ W/cm}^2$ )辐照下的温度,并导出热成像图像和实时温度数据进行处理,获得温度变化曲线。实验重复3次。选取光热性能最好的粉末样品和最适合的材料浓度进行后续实验(以CSO为空白对照)。采用高分辨率透射电子显微镜(high resolution transmission electron microscope, HRTEM)(Tecnai G2 F-20, FEI公司,美国)分析样品的微观晶体结构和形貌。



图1 氧空位缺陷CSO合成后的样品

Fig 1 Sample of CSO with oxygen vacancy defects after synthesis

### 1.3 口腔上皮细胞体外培养

使用含有10%胎牛血清(Gibco公司,美国)和1%青霉素-链霉素(Thermal scientific公司,美国)的DMEM(Gibco公司,美国)培养基培养人口腔角质形成细胞(human oral keratinocytes, HOK),培养条件为37 °C、5% $\text{CO}_2$ 湿度环境。隔天换液并于光学显微镜下观察细胞生长状态,定期传代,使用第3代细胞进行后续实验。当细胞密度

达培养皿面积的80%~90%时,用0.25%胰蛋白酶消化,离心后重悬,计数并分离细胞,用于后续实验。

### 1.4 细胞毒性和相容性评价

采用MTT法及Calcein-AM/PI活/死细胞染色检测评估CSO-500对HOK的毒性及相容性。取对数生长期的HOK细胞用0.25%胰蛋白酶消化,以每孔 $1 \times 10^4$ 个细胞的密度接种在6孔板中培养24 h

等待细胞贴壁。随后将含有不同浓度梯度的CSO-500的小室与HOK细胞共孵育24 h。孵育结束后,吸出培养基并取出小室,接着用PBS冲洗3遍,并加入无胎牛培养基稀释的MTT试剂盒(10%)继续培养4 h,用酶标仪检测孔板细胞在490 nm处吸光度,与空白对照(Control)组对比以确定细胞的存活率。孵育结束后,吸出培养基并用PBS冲洗3遍,加入Calcein-AM/PI活死染料,静置10 min后在荧光显微镜下观察细胞状态。

### 1.5 体外抑菌性能评价

选择大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)作为革兰阴性菌代表、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)作为革兰阳性菌代表进行光热抑菌实验。

实验分为3组:CSO组、CSO-500组、空白对照组。其中,CSO组、CSO-500组分别将400  $\mu$ L的CSO、CSO-500悬浮液(浓度1 000 mg/mL)与500  $\mu$ L的细菌悬浮液(*E. coli*、*S. aureus*,细菌浓度为 $2 \times 10^6$ 菌落形成单位/mL)相混合置于2 mL的离心管内,空白对照组细菌悬浮液中不添加其他成分。

各组在不同功率NIR(0.5、0.75、1 W)下照射0、5、10、15 min。采用生理盐水对细菌溶液进行1:1 $\times 10^3$ 比例的稀释,取50  $\mu$ L稀释后的溶液涂布于琼脂平板上,并置于37  $^{\circ}$ C环境中培养16 h。对不同琼脂平板上的细菌菌落数量进行计数,并依据以下公式计算抑菌率:抑菌率(%)=(1-实验组菌落数/对照组菌落数) $\times 100\%$ 。

收集处理后的细菌,按照SYTO 9/PI活/死细菌活性检测试剂盒的使用说明进行染色。运用倒置荧光显微镜对染色后的细菌进行观察,其中活菌呈现绿色荧光,死菌呈现红色荧光。

### 1.6 离体人牙再矿化性能评价

基于方法1.2的实验结果,从晶体结构和光热

转换能力两方面筛选出综合性能优异的样品CSO-500(浓度500  $\mu$ g/mL)。以CSO粉末作为空白对照,对二者促进牙齿再矿化的能力进行研究。经四川大学华西口腔医院医学伦理委员会批准(批准文号:WCHSIRB-D-2024-021),收集健康人体磨牙用于科学研究。模拟口腔日常刷牙条件,选择市售普通电动牙刷,设定每次刷牙时间5 min,每日早晚2次刷牙,刷牙水温为室温,实验全程在标准照明环境下进行。将CSO、CSO-500粉末分别与单氟磷酸钠(质量比为30:1)配置成悬浮液,其中CSO、CSO-500粉末与水的浓度为500  $\mu$ g/mL。采用悬浮液处理经37%醋酸溶液室温下浸泡72 h酸蚀处理后的牙齿7 d。用乙醇、水交替清洗3次,37  $^{\circ}$ C烘干。利用SEM和能谱仪(energy-dispersive spectrometer, EDS)分析酸蚀处理前后牙齿表面形貌及化学成分,观测牙釉质表面变化,评价材料在体外诱导牙再矿化形成羟磷灰石的能力<sup>[24]</sup>。同时,使用显微维氏硬度计测量牙釉质硬度,载荷0.5 kg,保载时间12 s,评估再矿化程度<sup>[25]</sup>。

### 1.7 统计学方法

采用GraphPad Prism 10.1.2软件对数据进行统计分析。数据经方差齐性检验后,采用ANOVA单因素方差进行分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 材料表面SEM观察

所有样品的表面形貌见图2。与CSO样品相比,CSO-300、CSO-400样品的表面形貌、粒径和形状无明显改变;CSO-500、CSO-600样品的表面形貌、粒径和形状均发生明显改变,呈现出带有明显孔隙的球形团聚体,表面粗糙度增加。

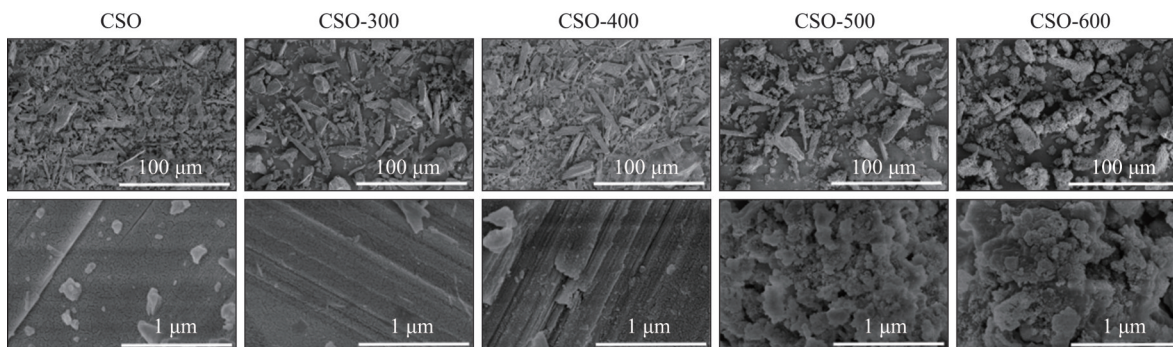


图2 CSO和CSO-T的扫描电镜图像

Fig 2 CSO and CSO-T scanning electron microscope images

### 2.2 材料的晶体结构

样品的XRD光谱见图3，仅观察到CSO的特征衍射峰，表明热还原处理后CSO中无新相形成。Jade软件数据分析显示，CSO、CSO-300、CSO-400、CSO-500和CSO-600的结晶度分别为93.69%、90.60%、90.45%、82.51%和83.75%。500 °C以下处理时，样品的结晶度随热还原温度的升高而降低，CSO-500具有最低的结晶度。CSO属于单斜晶系，而CSO-500属于对称性最低的三斜晶系。这表明经过热还原处理后，CSO-500的晶体结构中发生了晶格畸变。

### 2.3 材料的元素组成与缺陷类型

样品的XPS能谱分析见图4。图4A展示了样品的XPS全谱，结果表明样品含有钙(Ca)、氧(O)和硅(Si)元素，不存在由NaBH<sub>4</sub>产生的硼(B)、钠(Na)等副产物。图4B~F中位于532 eV和531 eV附近的高斯峰分别对应晶格氧和氧空位<sup>[26]</sup>，CSO无氧空位对应峰，NaBH<sub>4</sub>处理的CSO-T呈现出明显的氧空位峰，表明CSO-T中的缺陷态为氧空位。高分辨率XPS-Si<sub>2p</sub>能谱见图4G，除样

品CSO-600外，随着热还原处理温度的升高，图谱中Si<sub>2p</sub>的结合能位置出现了轻微的红移。

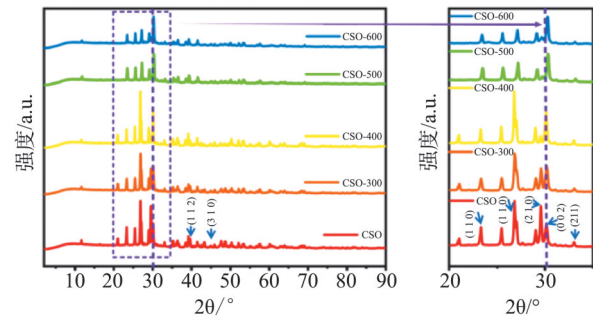
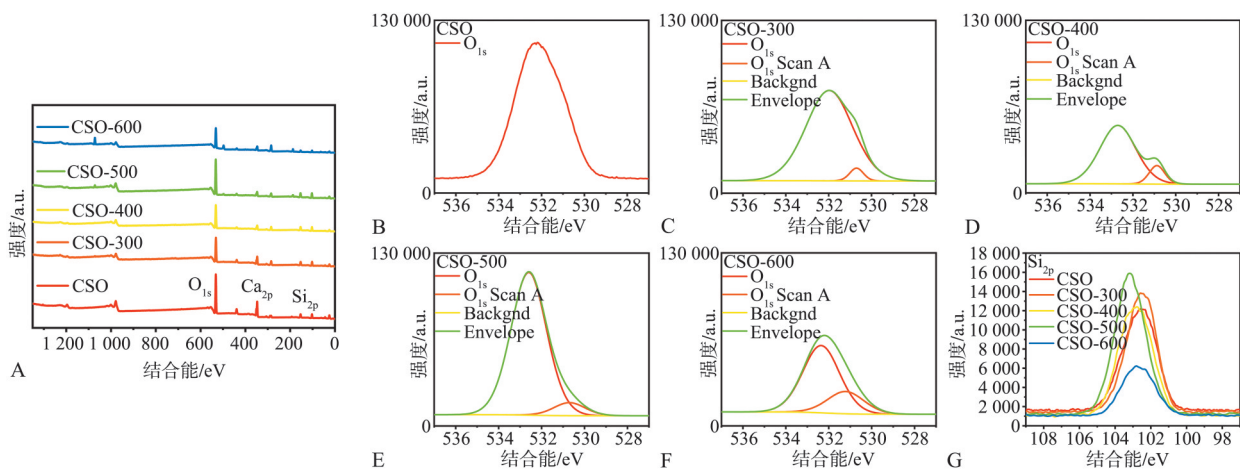


图3 CSO和CSO-T样品的XRD光谱

Fig 3 XRD spectra of CSO and CSO-T samples

### 2.4 材料的光吸收范围

样品UV/VIS/NIR吸收光谱见图5A。CSO、CSO-300和CSO-400仅在紫外光范围内有极小的紫外吸收能力，而在近红外区域几乎无光吸收能力。相比之下，CSO-500和CSO-600展现出更高的红外吸收能力，即使在近红外区域也保持着强且稳定的光吸收能力。



A: CSO、CSO-300、CSO-400、CSO-500、CSO-600的XPS光谱全谱；B: CSO的O<sub>1s</sub> XPS光谱；C~F: CSO-300、CSO-400、CSO-500、CSO-600的XPS分峰光谱，其中O<sub>1s</sub> Scan A为O<sub>1s</sub>轨道扫描结果，Backgnd为背景线，Envelope为包络线；G: CSO和CSO-T的Si<sub>2p</sub> XPS光谱。

图4 CSO和CSO-T样品的XPS能谱分析

Fig 4 XPS spectra of CSO and CSO-T samples

### 2.5 材料的光热转换效率

样品的光热转换曲线见图5B。CSO粉末在近红外光辐照5 min后，温度仅升高了约5 °C，CSO在近红外范围内的光热效应微乎其微。与之相反，CSO-300、CSO-400、CSO-500、CSO-600在5 min内温度分别达到了51.85、53.85、132.55和128.33 °C，表现出优异的光热转换能力，其中CSO-500具有最优异的光热转换能力。后续研究

采用CSO-500进行实验。

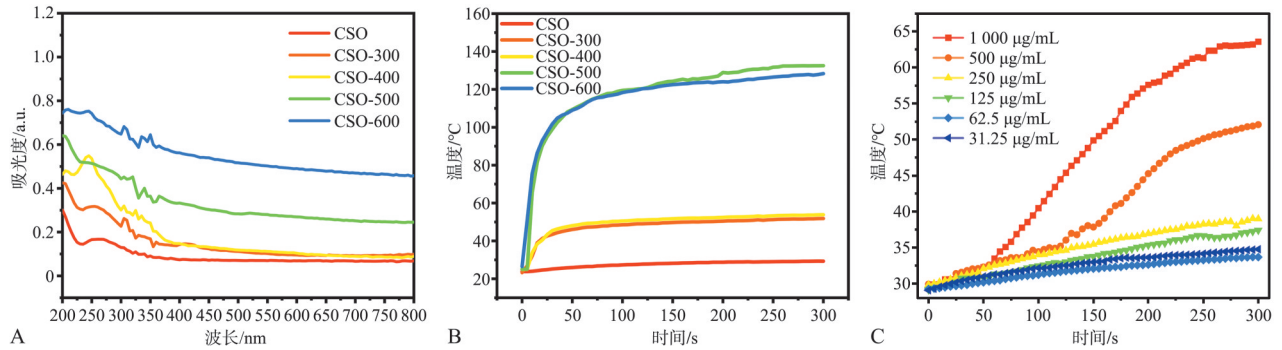
CSO-500悬浮液在梯度浓度下的光热转换曲线见图5C，光热转换能力随浓度增大而增强。不同浓度的CSO-500悬浮液在近红外光照射下温度变化不同，其中500 μg/mL的CSO-500悬浮液在近红外光照射5 min时最高温度达52.5 °C。基于接触温度高于60 °C时会危害口腔细胞和组织，而温度处于55~60 °C区间时无显著不良影响<sup>[27]</sup>，后续

实验选用 500 μg/mL 的 CSO-500 开展抑菌和再矿化实验。

2.6 材料的微观结构

CSO 和 CSO-500 样品的微观结构见图 6。HR-TEM 显示, CSO 为片状结构 (图 6A), CSO-500 为分散的粉末状 (图 6B), 这与 SEM 结果一致。对所选定的 HRTEM 图像的晶格条纹区域进行快速傅里叶变换 (fast Fourier transform, FFT) 和逆快

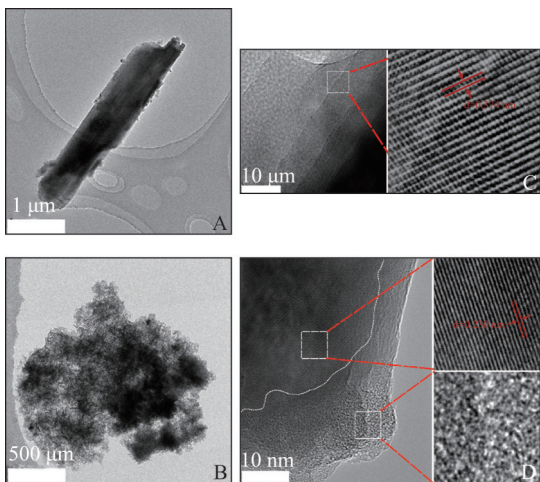
速傅里叶变换 (inverse fast Fourier transform, IFFT) 得到初始晶格间距的测量值, 在此基础上, 运用几何相位分析 (geometric phase analysis, GPA) 技术对初始测量值进行修正, 最终获得经应变校正后的结果, CSO 可见清晰可辨的、间距为 0.374 nm 的晶格条纹 (图 6C), CSO-500 可见间距为 0.23 nm 的有序晶格条纹 (图 6D), 且颗粒边缘可见无定形表面及无序晶格条纹。



A: CSO 和 CSO-T 的 UV/VIS/NIR 吸收光谱; B: CSO 和 CSO-T 的光热转换曲线; C: CSO-500 悬浮液的梯度浓度光热转换曲线。

图 5 CSO 和 CSO-T 样品的吸收光谱和光热转换曲线

Fig 5 Absorption spectra and photothermal conversion curves of CSO and CSO-T samples



A: CSO 的 HRTEM 图像; B: CSO-500 的 HRTEM 图像; C: CSO 中所选区域的 IFFT 图像, 晶格条纹结构相对规整; D: CSO-500 中所选区域的 IFFT 图像, 可见间距为 0.23 nm 的有序晶格条纹和无序结构。

图 6 CSO 和 CSO-500 样品的微观结构

Fig 6 Microstructure of CSO and CSO-500 samples

2.7 材料的细胞毒性和相容性评价

HOK 与不同浓度 CSO-500 粉末共培养 24 h, 活/死细胞染色结果见图 7A, 各组中均为活细胞比例更大。与 CSO-500 共培养的 HOK 的 MTT 结果见图 7B, 即便在高达 500 mg/mL 的浓度下, CSO-500 也无明显的细胞毒性。

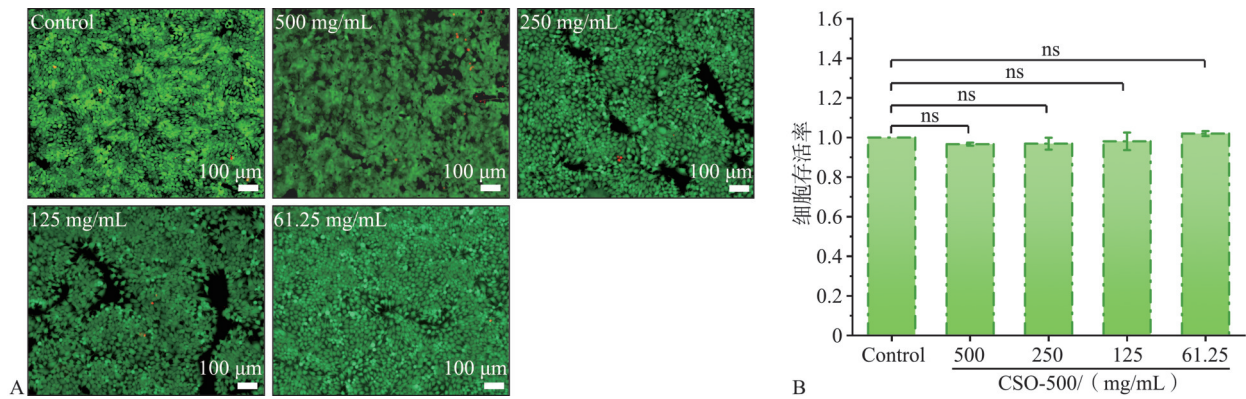
2.8 材料的光热抑菌性能

各组的平板涂布及菌落计数结果见图 8、9。不同功率的 NIR 照射后, CSO-500 组的菌落数量均最少, 表明 CSO-500 具有最优的光热抑菌特性。同一功率下, 随着时间推移, 细菌的存活率逐渐降低。相同时间内, NIR 功率越高, CSO-500 组 *E. coli* 和 *S. aureus* 的细菌存活率越低。

各组细菌活/死细胞染色结果见图 8G、9G。Control 组、CSO-500 组、Control+NIR-1 W-15 min 组的结果相同, 皆呈绿色荧光, 表明细菌基本存活。CSO-500+NIR-1 W-15 min 组见红色荧光, 细菌近乎全部死亡, 表明 CSO-500 在光热治疗中具有出色的抑菌能力。

2.9 离体人牙再矿化性能评价

酸蚀前牙齿、酸蚀后牙齿及 CSO-500、CSO 处理后酸蚀牙齿的 SEM 形貌见图 10。与酸蚀前牙齿 (图 10A) 相比, 酸蚀后牙齿的表面呈多孔状 (图 10B)。经 CSO-500、CSO 再矿化处理后, 酸蚀牙齿的表面不再有明显孔洞, 且覆盖有大量颗粒 (图 10C、D), 与酸蚀前牙齿的表面形貌较为相似。与酸蚀前牙齿相比, 酸蚀后牙齿的牙釉质硬度显著降低 ( $P < 0.05$ ), CSO-500、CSO 处理后酸蚀牙齿的牙釉质硬度差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (图 10E), CSO-500 处理后酸蚀牙齿具有最大硬度值。



A: HOK 与不同浓度的 CSO-500 共培养的活死细胞染色, 绿色代表活细胞, 红色代表死细胞; B: 与不同浓度的 CSO-500 共培养的 HOK 存活率, ns 表示与 Control 组比较, 差异无统计学意义。

图 7 CSO-500 材料的细胞毒性和相容性评价

Fig 7 Cell toxicity and compatibility evaluation of CSO-500 sample

酸蚀前牙齿、酸蚀后牙齿及 CSO-500、CSO 处理后酸蚀牙齿的 EDS 分析显示, CSO-500 处理后酸蚀牙齿表面不但 Ca、P 元素含量增加, 其 Ca/P 比值也与自然牙釉质主要成分羟磷灰石的 Ca/P 比值理论值 (1.67) [28-29] 最接近 (表 1)。

### 3 讨论

NaBH<sub>4</sub> 是一种具有强还原性的无机化合物, 在特定温度下分解产生氢气, 活性氢能够直接捕获材料晶体结构中的晶格氧从而有效地诱导氧空位的产生, 且不会对材料的原有晶体结构造成显著影响[30]。基于 NaBH<sub>4</sub> 的缺陷工程策略可以通过调节热还原温度对材料中氧空位浓度进行很好地控制。Pang 等[31]以 NaBH<sub>4</sub> 为还原剂, 通过改变热还原温度, 获得了具有可控缺陷类型、浓度及光吸收能力的二氧化钛。相比之下, 传统方法难以控制氧空位的位置和数量, 而利用 NaBH<sub>4</sub> 引入氧空位缺陷则更简便、高效且可控[32]。因此, 本研究采用 NaBH<sub>4</sub> 还原法对 CSO 进行缺氧改性。

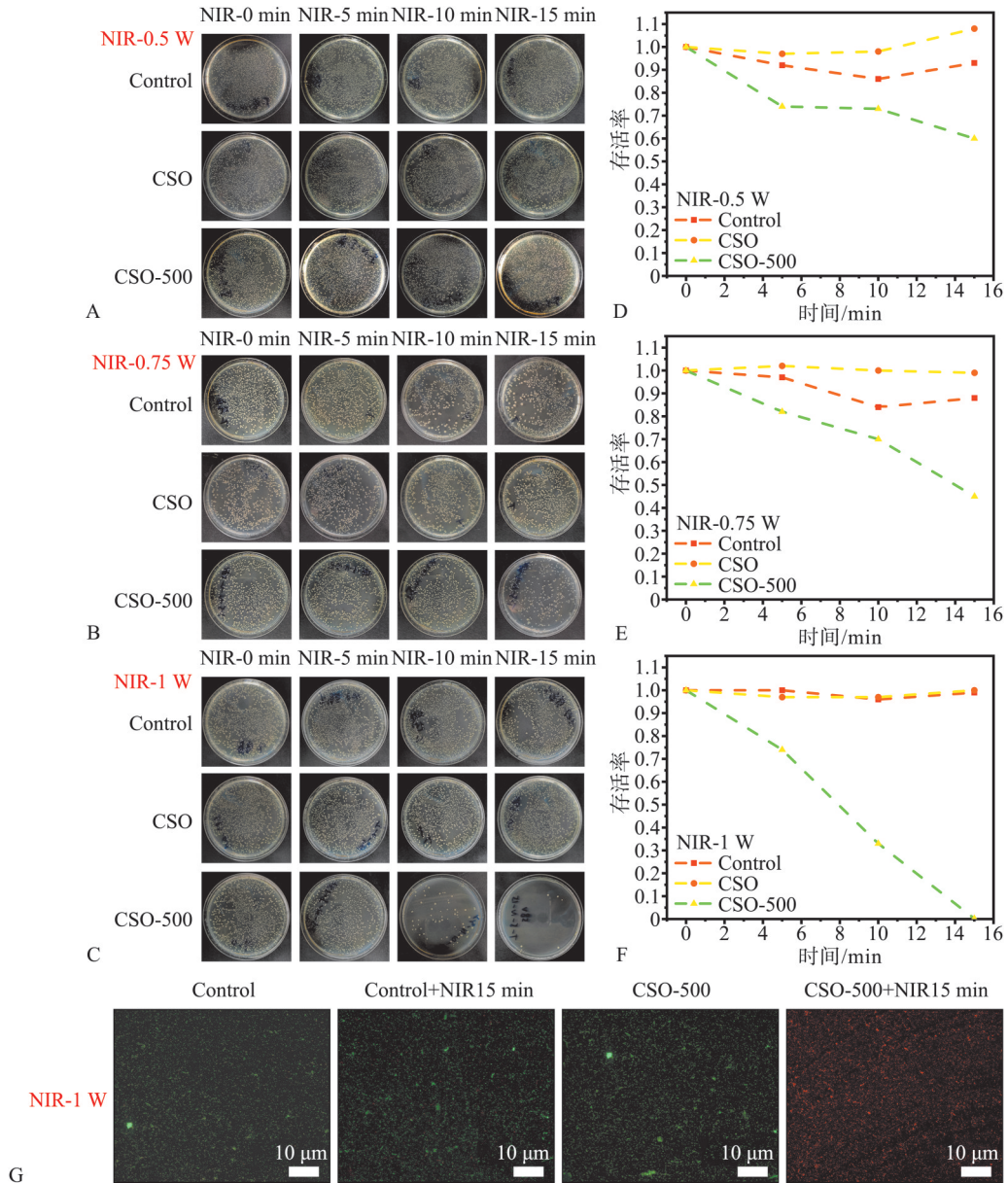
本研究 SEM 观察结果表明, 当还原温度达到 500 °C 时, CSO 的表面形貌发生显著变化。XRD 结果显示, CSO-500 具有最低的结晶度, 并且较 CSO 发生了显著的晶格畸变, 这可能是由于氧空位点缺陷的引入破坏了原子的周期性排列, 从而降低了样品的结晶度和对称性[33-34], 因此 CSO-500 可能具有相对理想的降解性和生物活性[35]。采用 XPS 对样品相关元素化学状态进行分析, 结果证实了该缺陷态即为氧空位。CSO-T 的 XPS 图谱中存在明显氧空位峰, 这说明 NaBH<sub>4</sub> 产生的活性氢与 CSO 的晶格氧发生了反应, 最终在热还原过程

中促使表面及表面附近晶格中形成了氧空位[36]。XPS-Si<sub>2p</sub> 能谱中 Si 的结合能位置红移, 这则是由表面态和体缺陷引起的费米能级移动[37-38]。而费米能级的上移与平衡电子密度的增加有关[39]。众所周知, 氧空位作为一种电子供体型掺杂剂, 能够显著增加电子浓度[40], 而元素氧化态和结合能的改变会导致峰位变化或新的 XPS 峰出现[41]。对于 CSO 这种 ABO<sub>3</sub> 型硅灰石结构而言, 氧空位的引入会导致在 B 位的阳离子 (尤其是硅离子) 上形成氧化还原对。等价离子的取代可能会使 A 位离子被非等价离子替换, 从而产生负电荷。为了维持晶体电荷平衡, 就会形成氧空位, 促使 B 位原子释放电子并产生电子空穴。由于电子缺失, B 位元素的氧化态不可避免地发生变化, 并可导致 Si 的氧化还原对形成[42-43]。这一现象进一步证实了 NaBH<sub>4</sub> 热还原缺陷工程策略可在 CSO 中引入氧空位。氧空位的引入将会显著减小材料的带隙, 并使原材料具备近红外响应能力[44-45]。本研究 UV/VIS/NIR 测试结果证实了 CSO-500 具有优异的近红外吸收能力, 为氧空位缺陷修饰的 CSO-500 在近红外范围内具有良好的光热转换能力提供了有力的支撑[46-47]。红外热成像实验进一步证实 CSO-500 具有最为优异的光热转换能力。故本研究中后续研究工作主要围绕 CSO-500 展开。利用 HRTEM、FFT、IFFT 及 GPA 从微观角度观察到, 与 CSO 相比, CSO-500 的晶格间距减小, 颗粒边缘出现无定形表面以及无序晶格条纹。上述转变再一次证实了还原剂 NaBH<sub>4</sub> 和高还原温度引起了晶体相变和结构缺陷, 而正是这种无序结构和缺陷提升了材料的光吸收能力[48-49]。

细胞毒性低、相容性好是材料应用于人体的

基本要求。HOK细胞是口腔黏膜上皮的主要细胞类型，其状态直接反映口腔健康情况，是评估口腔材料生物安全性的关键模型。HOK细胞在体外能高度模拟口腔环境，通过观察其对细胞活力、增殖和凋亡的影响，可准确评估材料的安全性和可行性。此外，HOK细胞在口腔医学研究中广泛

应用，积累了丰富的数据和成熟方法，可用于精准评估材料的细胞毒性及潜在风险<sup>[50-51]</sup>。因此本研究选择HOK作为材料细胞毒性和生物相容性评价实验的细胞模型。MTT检测和活死细胞染色结果表明，CSO-500对HOK无毒性并具有良好的细胞相容性，有望在人类口腔环境中使用。



A~C: 不同功率 (0.5、0.75、1 W) NIR 处理后 *E. coli* 的菌落形成; D~F: 不同功率 (0.5、0.75、1 W) NIR 处理后 *E. coli* 的存活率; G: NIR-1W 处理后各组 *E. coli* 的 SYTO 9/PI 荧光染色图像。

图 8 不同功率 NIR 处理后 CSO 和 CSO-500 对 *E. coli* 的抑菌性能

Fig 8 Antibacterial performance of CSO and CSO-500 against *E. coli* after NIR processing at different powers

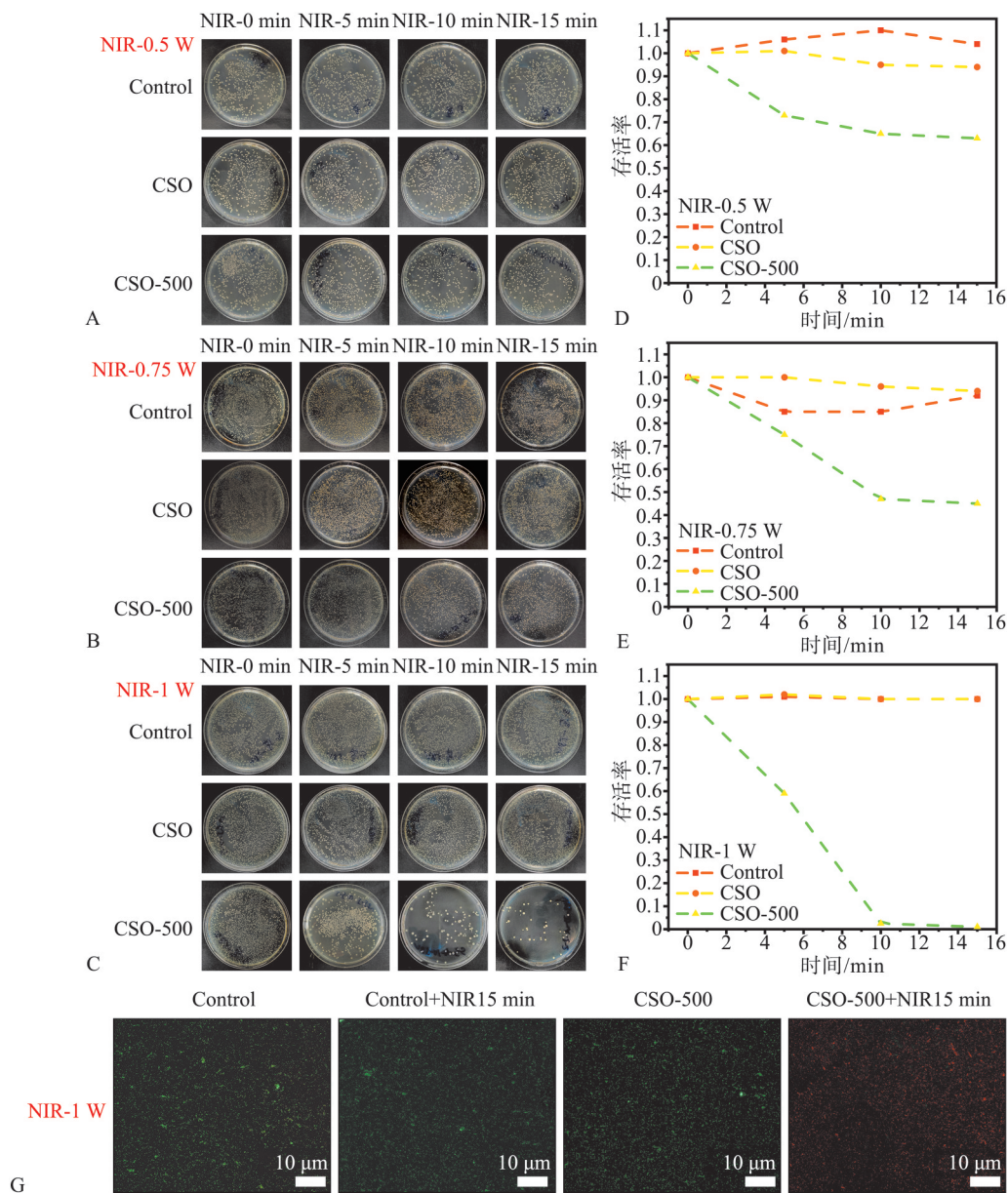
基于上述 CSO-500 材料所具备的优异性能和良好的生物相容性，本研究进一步探讨其实际应用场景。CSO-500 作为牙膏摩擦剂，可与红外发光牙刷配合使用。日常刷牙时，CSO-500 与水混合并直接接触牙齿和口腔环境，通过便捷的护理

方式实现高效的口腔清洁与抑菌。需要注意的是，在使用过程中，需严格控制红外发光牙刷的功率、光照时长 (3~5 min) 及牙膏中 CSO-500 的比例，以确保安全性和有效性。

此外，结合已有红外牙刷，对 CSO-500 在日

常生活中对光热抑菌和牙齿再矿化协同治疗的潜力进行了评估。研究结果显示，CSO-500在NIR照射下展现出优异的抑菌性能，并表现出时间和光强功率依赖。深入探究其内在机制可知，这一优异的抑菌性能得益于氧空位引入带来的独特抑菌机制。氧空位不仅改变材料电子结构提升光热转换效率，直接杀灭细菌；而且还能通过促进活性氧的生成来增强材料的抑菌性能。研究<sup>[52-53]</sup>表明，氧空位可以作为电子捕获中心，促进光生电

子-空穴对的分离，进而与周围的氧气或水分子反应生成ROS（如-OH、-O<sub>2</sub><sup>-</sup>等）。这些ROS能够破坏细菌的细胞膜和DNA，从而进一步增强材料的抑菌效果<sup>[54]</sup>。因此，CSO-500的抑菌性能不仅源于其光热效应，还可能得益于氧空位缺陷引发的ROS生成。这种双重抑菌机制使得CSO-500在不同的近红外光照射时间和功率条件下，都能有效抑制细菌生长，展现出良好的抑菌稳定性和高效性。



A~C: 不同功率 (0.5、0.75、1 W) NIR 处理后 *S. aureus* 的菌落形成; D~F: 不同功率 (0.5、0.75、1 W) NIR 处理后 *S. aureus* 的存活率; G: NIR-1W 处理后 *S. aureus* 的 SYTO 9/PI 荧光染色图像。

图 9 不同功率 NIR 处理后 CSO 和 CSO-500 对 *S. aureus* 的抑菌性能

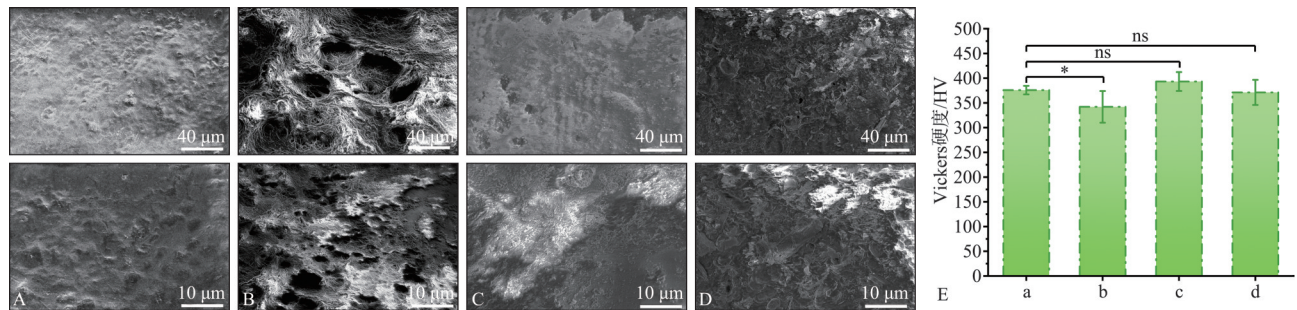
Fig 9 Antibacterial performance of CSO and CSO-500 against *S. aureus* after NIR processing at different powers

在模拟口腔环境中，CSO-500能够诱导羟磷灰石在牙齿表面生成而达到牙齿再矿化的效果，

进而提高牙齿硬度<sup>[55]</sup>。Ca、P元素含量与牙釉质硬度呈正相关。含量越高，牙齿硬度越大<sup>[56]</sup>。本研

究表明氧空位修饰的CSO是一种颇具应用前景的生物材料, 无需抗生素与手术干预, 仅借助日常的刷牙行为, 即可达到口腔抑菌和牙齿再矿化的

双重保健效果, 作为一种多功能生物材料在口腔领域具有应用潜力。



A~D: 分别为酸蚀前牙齿、酸蚀后牙齿、CSO-500处理后酸蚀牙、CSO处理后酸蚀牙的表面形貌, SEM; E: 各组牙齿的牙釉质硬度, a~d依次为酸蚀前牙齿、酸蚀后牙齿及CSO-500、CSO处理后酸蚀牙齿, \*表示与酸蚀前牙齿相比,  $P < 0.05$ ; ns表示与酸蚀前牙齿相比, 差异无统计学意义。

图 10 不同处理下牙齿表面形貌SEM和元素能谱分析

Fig 10 SEM of surface morphology and elemental energy spectrum analysis of teeth under different treatments

表 1 不同处理下牙齿表面元素分布

Tab 1 Distribution of tooth surface elements under different treatments

项目	酸蚀前牙齿	酸蚀后牙齿	CSO-500处理后酸蚀牙	CSO处理后酸蚀牙
O/%	78.47	90.43	66.24	80.52
P/%	9.64	4.95	13.34	8.99
Ca/%	11.89	4.62	20.42	10.49
Ca/P	1.23	0.93	1.53	1.17

注: %为原子百分比 (atomic percentage)。

利益冲突声明: 作者声明本文无利益冲突。

[参考文献]

[1] Zhai QM, Dong ZW, Wang W, et al. Dental stem cell and dental tissue regeneration[J]. Front Med, 2019, 13(2): 152-159.

[2] Sato T, Fukuzawa Y, Kawakami S, et al. The onset of dental erosion caused by food and drinks and the preventive effect of alkaline ionized water[J]. Nutrients, 2021, 13(10): 3440.

[3] Carvalho TS, Lussi A. Age-related morphological, histological and functional changes in teeth[J]. J Oral Rehabilitation, 2017, 44(4): 291-298.

[4] Zhang LY, Fang ZH, Li QL, et al. A tooth-binding antimicrobial peptide to prevent the formation of dental biofilm[J]. J Mater Sci Mater Med, 2019, 30(4): 45.

[5] de Paula Zago LH, de Annunzio SR, de Oliveira KT, et al. Antimicrobial photodynamic therapy against metroni-

dazole-resistant dental plaque bacteria[J]. J Photochem Photobiol B, 2020, 209: 111903.

[6] West NX, Joiner A. Enamel mineral loss[J]. J Dent, 2014, 42: S2-S11.

[7] Amaya Arbeláez MI, de Paula e Silva ACA, Navegante G, et al. Proto-oncogenes and cell cycle gene expression in normal and neoplastic oral epithelial cells stimulated with soluble factors from single and dual biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 627043.

[8] Altalhi AM, AlNajdi LN, Al-Harbi SG, et al. Laser therapy versus traditional scaling and root planing: a comparative review[J]. Cureus, 2024, 16(6): e61997.

[9] Vinel A, Al Halabi A, Roumi S, et al. Non-surgical periodontal treatment: SRP and innovative therapeutic approaches[M]//Advances in Experimental Medicine and Biology. Cham: Springer International Publishing, 2022: 303-327.

[10] Haridy MF, Ahmed HS, Kataia MM, et al. Fracture resistance of root canal-treated molars restored with ceramic overlays with/without different resin composite base materials: an *in vitro* study[J]. Odontology, 2022, 110(3): 497-507.

[11] Primus C, Gutmann JL, Tay FR, et al. Calcium silicate and calcium aluminate cements for dentistry reviewed [J]. J Am Ceram Soc, 2022, 105(3): 1841-1863.

[12] Janini ACP, Bombarda GF, Pelepenko LE, et al. Antimicrobial activity of calcium silicate-based dental materials: a literature review[J]. Antibiotics, 2021, 10(7): 865.

- [13] 刘学申. 人牙釉质酸蚀损伤的相关影响因素研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2012.  
Liu XS. Study on the erosion behavior and factors of human tooth enamel[D]. Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2012.
- [14] Diba MN, Goudouri OM, Tapia F, et al. Magnesium-containing bioactive polycrystalline silicate-based ceramics and glass-ceramics for biomedical applications[J]. *Curr Opin Solid State Mater Sci*, 2014, 18(3): 147-167.
- [15] Zadehnajar P, Mirmusavi MH, Eil Bakhtiari SS, et al. Recent advances on akermanite calcium-silicate ceramic for biomedical applications[J]. *Int J Appl Ceram Technol*, 2021, 18(6): 1901-1920.
- [16] Li XK, Wang JF, Joiner A, et al. The remineralisation of enamel: a review of the literature[J]. *J Dent*, 2014, 42: S12-S20.
- [17] Hornby K, Ricketts SR, Philpotts CJ, et al. Enhanced enamel benefits from a novel toothpaste and dual phase gel containing calcium silicate and sodium phosphate salts[J]. *J Dent*, 2014, 42: S39-S45.
- [18] 孙岳魁, 冯希平, 王进防, 等. 一种新型牙膏的形成牙釉矿物质机理研究[J]. *口腔护理用品工业*, 2017, 27(3): 17-23.  
Sun YK, Feng XP, Wang JF, et al. Research on the formation mechanism of mineral glaze of a new type of toothpaste[J]. *Toothpaste Indust*, 2017, 27(3): 17-23.
- [19] Liu H, Xing F, Zhou YX, et al. Nanomaterials-based photothermal therapies for antibacterial applications[J]. *Mater Des*, 2023, 233: 112231.
- [20] Li CW, Cheng Y, Li DW, et al. Antitumor applications of photothermal agents and photothermal synergistic therapies[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(14): 7909.
- [21] Dash SR, Kundu CN. Photothermal therapy: a new approach to eradicate cancer[J]. *Curr Nanosci*, 2022, 18(1): 31-47.
- [22] Ren X, Hao RX, Yang YQ, et al. A facile and green strategy to achieve metallized woven carbon fiber through the triple roles of dopamine in in situ thermal reduction of Ag[J]. *Compos Commun*, 2023, 40: 101585.
- [23] Shi X, Zheng H, Kannan AM, et al. Effect of thermally induced oxygen vacancy of  $\alpha$ - $\text{MnO}_2$  nanorods toward oxygen reduction reaction[J]. *Inorg Chem*, 2019, 58(8): 5335-5344.
- [24] 唐洁吟, 王刚, 刘聪, 等. 微纳米生物活性玻璃诱导牙本质再矿化研究[J]. *无机材料学报*, 2022, 37(4): 436-444.  
Tang JY, Wang G, Liu C, et al. Dentin remineralization induced by micro-nano bioactive glass spheres[J]. *J Inorgan Mater*, 2022, 37(4): 436-444.
- [25] Memarpour M, Shafiei F, Rafiee A, et al. Effect of hydroxyapatite nanoparticles on enamel remineralization and estimation of fissure sealant bond strength to remineralized tooth surfaces: an *in vitro* study[J]. *BMC Oral Heal*, 2019, 19: 92.
- [26] Wu J, Qin N, Bao DH. Effective enhancement of piezocatalytic activity of  $\text{BaTiO}_3$  nanowires under ultrasonic vibration[J]. *Nano Energy*, 2018, 45: 44-51.
- [27] Ernst B, Setayesh T, Nersesyan A, et al. Investigations concerning the impact of consumption of hot beverages on acute cytotoxic and genotoxic effects in oral mucosa cells[J]. *Sci Rep*, 2021, 11: 23014.
- [28] Liang KN, Gao Y, Li JS, et al. Effective dentinal tubule occlusion induced by polyhydroxy-terminated PAMAM dendrimer *in vitro*[J]. *RSC Adv*, 2014, 4(82): 43496-43503.
- [29] Xu Z, Neoh KG, Kishen A. A biomimetic strategy to form calcium phosphate crystals on type I collagen substrate[J]. *Mater Sci Eng C*, 2010, 30(6): 822-826.
- [30] Kim C, Lim YJ, Kim YE, et al. An efficient method for the selective syntheses of sodium telluride and symmetrical diorganyl tellurides and the investigation of reaction pathways[J]. *Molecules*, 2024, 29(22): 5398.
- [31] Pang XL, Feng QG, Qiu TY, et al. Defective  $\text{TiO}_2$  prepared via synchronous crystallization and constraint reduction strategy with enhanced photocatalytic activity [J]. *Mater Electron*, 2021, 32: 20327-20341.
- [32] Li YX, Zhou GL, Yin JZ, et al. Abundant oxygen defects in  $\text{CoFe-LDH}$  derivatives for enhanced photo-thermal synergistic catalytic hydrogen production from  $\text{NaBH}_4$ [J]. *Int J Hydrog Energ*, 2023, 22: 16745-16755.
- [33] Zhang YQ, Han WJ, Ding LL, et al. Insight into the regulation between crystallinity and oxygen vacancies of  $\text{BiVO}_4$  affecting the photocatalytic oxygen evolution activity[J]. *Catal Sci Technol*, 2022, 12: 4040-4049.
- [34] Kang ZH, Lin EZ, Qin N, et al. Effect of oxygen vacancies and crystal symmetry on piezocatalytic properties of  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  ferroelectric nanosheets for wastewater decontamination[J]. *Environ Sci Nano*, 2021, 8(5): 1376-1388.
- [35] Kumari rajendran R, Aggarwal D, Bonvalet Rolland M, et al. Design and development of large-diameter Mg-Zn-

- Ca bulk metallic glass for biomedical applications: a mechanical and corrosion perspective[J]. *Intermetallics*, 2024, 175: 108520.
- [36] Gupta SK, Modak B, Das D, et al. Light harvesting from oxygen vacancies and A- and B-site dopants in  $\text{CaSnO}_3$  perovskite through efficient photon utilization and local site engineering[J]. *ACS Appl Electron Mater*, 2021, 3(7): 3256-3270.
- [37] Bi X, Du GH, Kalam A, et al. Tuning oxygen vacancy content in  $\text{TiO}_2$  nanoparticles to enhance the photocatalytic performance[J]. *Chem Eng Sci*, 2021, 234: 116440.
- [38] Zhang GQ, Jiang WS, Hua SX, et al. Constructing bulk defective perovskite  $\text{SrTiO}_3$  nanocubes for high performance photocatalysts[J]. *Nanoscale*, 2016, 8(38): 16963-16968.
- [39] Lin YK, Chen RS, Chou TC, et al. Thickness-dependent binding energy shift in few-layer  $\text{MoS}_2$  grown by chemical vapor deposition[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(34): 22637-22646.
- [40] Kumar A, Kumar M, Navakoteswara Rao V, et al. Unraveling the structural and morphological stability of oxygen vacancy engineered leaf-templated  $\text{CaTiO}_3$  towards photocatalytic  $\text{H}_2$  evolution and  $\text{N}_2$  fixation reactions[J]. *J Mater Chem A*, 2021, 9(31): 17006-17018.
- [41] Xu H, Yan CL, Li RZ, et al. Synergetic modulation of surface alkali and oxygen vacancy over  $\text{SrTiO}_3$  for the  $\text{CO}_2$  photodissociation[J]. *Nanotechnology*, 2022, 33(8): 085401.
- [42] Feng S, Wang T, Liu B, et al. Enriched surface oxygen vacancies of photoanodes by photoetching with enhanced charge separation[J]. *Angew Chem*, 2020, 132(5): 2060-2064.
- [43] Yang JS, Li BX. First-principles study of  $\text{Ga}_7\text{As}_7$  ionic cluster and influence of multi-charge on its structure[J]. *Chin Phys B*, 2010, 19(9): 097103.
- [44] Cai JM, Cao A, Huang JJ, et al. Understanding oxygen vacancies in disorder-engineered surface and subsurface of  $\text{CaTiO}_3$  nanosheets on photocatalytic hydrogen evolution[J]. *Appl Catal B Environ*, 2020, 267: 118378.
- [45] Mesoudy AE, MacHon D, Ruediger A, et al. Band gap narrowing induced by oxygen vacancies in reactively sputtered  $\text{TiO}_2$  thin films[J]. *Thin Solid Films*, 2023, 769: 139737.
- [46] Li JJ, Cai SC, Yu EQ, et al. Efficient infrared light promoted degradation of volatile organic compounds over photo-thermal responsive Pt-rGO- $\text{TiO}_2$  composites[J]. *Appl Catal B Environ*, 2018, 233: 260-271.
- [47] Wang YF, Barhoumi A, Tong R, et al.  $\text{BaTiO}_3$ -core Au-shell nanoparticles for photothermal therapy and bimodal imaging[J]. *Acta Biomater*, 2018, 72: 287-294.
- [48] Dai L, Fu P, Chen JM, et al. Nitrogen doping mediated oxygen vacancy and Ti valence regulation to enhance photocatalytic  $\text{H}_2$  generation[J]. *Int J Hydrog Energy*, 2023, 48(67): 26187-26199.
- [49] Tan HQ, Zhao Z, Zhu WB, et al. Oxygen vacancy enhanced photocatalytic activity of perovskite  $\text{SrTiO}_3$ [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2014, 6(21): 19184-19190.
- [50] Yang J, Wu PF, Weng YL, et al. Rational design and antimicrobial potency assessment of abaeicin analogues[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2023, 9(12): 6698-6714.
- [51] Wang XQ, Wang YF, Wang K, et al. Bifunctional anticaries peptides with antibacterial and remineralizing effects [J]. *Oral Dis*, 2019, 25(2): 488-496.
- [52] Li JF, Ma LL, Li ZY, et al. Oxygen vacancies-rich heterojunction of  $\text{Ti}_3\text{C}_2/\text{BiOBr}$  for photo-excited antibacterial textiles[J]. *Small*, 2022, 18(5): 202104448.
- [53] Hu T, Lan D, Wang J, et al. Construction of  $\text{NiCo}_2\text{O}_4/\text{NiCoO}_2$  co-embedded porous bio-carbon with rich heterogeneous interfaces for excellent bacteriostatic microwave radiation protection[J]. *Carbon*, 2025, 232: 119798.
- [54] Jiang Y, Li J, Zeng Z, et al. Organic photodynamic nano-inhibitor for synergistic cancer therapy[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, 58(24): 8161-8165.
- [55] Sarna-Boś K, Skic K, Boguta P, et al. Elemental mapping of human teeth enamel, dentine and cementum in view of their microstructure[J]. *Micron*, 2023, 172: 103485.
- [56] Davidson CL, Hoekstra IS, Arends J. Microhardness of sound, decalcified and etched tooth enamel related to the calcium content[J]. *Caries Res*, 1974, 8(2): 135-144.

(本文编辑 李彩)