

[文章编号] 1671-587X(2025)01-0133-10

DOI:10.13481/j.1671-587X.20250116

漆酚底涂剂对脱矿牙本质的再矿化及粘接性能的影响

柏婷婷, 魏 飞, 孙广迪, 陈 雪, 朱 松
(吉林大学口腔医院修复科, 吉林 长春 130021)

[摘要] **目的:** 探讨漆酚底涂剂应用于酸蚀-冲洗类粘接剂对脱矿牙本质再矿化作用的促进作用, 阐明漆酚底涂剂对牙本质粘接耐久性的影响。**方法:** 选用96颗新鲜无龋第三磨牙制备成牙本质样本, 采用37%磷酸凝胶酸蚀后进行预处理, 随机分为空白对照组, 0.3%、0.7%、1.0%和1.5%漆酚组及阳性对照(丙酮溶液)组, 处理后的样本置于改良模拟体液中再矿化14和28 d。采用衰减全反射傅里叶变换红外光谱(ATR-FTIR)检测各组牙本质小管内矿物的相对质量, X射线衍射仪(XRD)和X射线能谱仪(EDS)分析各组牙本质表面物质成分, 扫描电子显微镜(SEM)观察各组样本表面形态, 维氏硬度仪测量各组样本表面的显微硬度, 微拉伸强度(μ TBS)测试检测各组样本粘接强度。**结果:** 粘接剂双键转化率(DC), 与空白对照组比较, 阳性对照组底涂剂对粘接剂DC降低, 但差异无统计学意义($P>0.05$), 0.3%、0.7%、1.0%和1.5%漆酚组底涂剂对粘接剂DC均明显升高($P<0.05$)。XRD和EDS检测, 0.3%、0.7%、1.0%和1.5%漆酚组牙本质小管内新形成的矿物质为羟基磷灰石(HA)晶体。SEM检测, 再矿化14和28 d后, 与空白对照组比较, 阳性对照组牙本质小管内见少量膜状物; 0.3%漆酚组牙本质小管矿化物较少; 0.7%漆酚组牙本质小管内可见大量松散矿物颗粒沉积堵塞管口; 1.0%漆酚组牙本质小管内可见小块矿物沉淀; 1.5%漆酚组中牙本质小管较空。显微硬度测试, 再矿化14 d后, 与空白对照组比较, 阳性对照组牙本质显微硬度未见明显提升($P>0.05$), 而与0.3%、0.7%、1.0%和1.5%漆酚组比较差异有统计学意义($P<0.05$); 再矿化14 d后, 与阳性对照组比较, 0.7%和1.0%漆酚组牙本质显微硬度提升明显($P<0.05$); 再矿化28 d后, 与空白对照组和阳性对照组比较, 各漆酚组牙本质显微硬度明显升高($P<0.05$), 其中0.7%和1.5%漆酚组牙本质显微硬度明显增强($P<0.05$)。 μ TBS测试, 再矿化14 d后, 与阳性对照组比较, 0.3%、0.7%、1.0%和1.5%漆酚组的 μ TBS明显增强($P<0.05$); 再矿化28 d后, 空白对照组 μ TBS最低, 且与空白对照组比较, 阳性对照组 μ TBS差异无统计学意义($P>0.05$); 与阳性对照组比较, 0.3%、0.7%、1.0%和1.5%漆酚组 μ TBS升高($P<0.05$), 0.7%、1.0%和1.5%漆酚组 μ TBS升高更为明显($P<0.05$)。**结论:** 天然来源的漆酚作为一种新型底涂剂对脱矿的牙本质基质进行预处理, 可以促进牙本质胶原的交联, 裸露的胶原可通过漆酚吸引钙离子和磷离子, 包裹牙本质胶原纤维促进再矿化, 因而提高树脂-牙本质粘接界面的强度。

[关键词] 漆酚; 牙本质; 粘接; 再矿化; 羟基磷灰石

[中图分类号] R783.1 **[文献标志码]** A

[收稿日期] 2024-02-26 **[录用日期]** 2024-05-14

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82071163)

[作者简介] 柏婷婷(1996—), 女, 辽宁省本溪市人, 在读硕士研究生, 主要从事口腔修复学相关方面的研究。

[通信作者] 朱 松, 主任医师, 博士研究生导师(E-mail: zhusong1965@163.com)

©《吉林大学学报(医学版)》编辑部, 开放获取遵循CC BY-NC-ND协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

Effect of urushiol primer on remineralization and adhesion properties of demineralized dentin

BAI Tingting, WEI Fei, SUN Guangdi, CHEN Xue, ZHU Song

(Department of Prosthodontics, Stomatology Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China)

ABSTRACT Objective: To explore the promotion effect on remineralization of demineralized dentin of urushiol primer applied in acid-etch-rinse adhesives, and to clarify its impact on the longevity of dentin adhesion. **Methods:** Ninety-six freshly extracted, caries-free third molars were selected to prepare the dentin specimens. Following acid etching with 37% phosphoric acid gel, the specimens were randomly divided into blank control group, 0.3%, 0.7%, 1.0%, and 1.5% urushiol groups, and positive control group (acetone solvent). The treated samples were placed in modified simulated body fluids for remineralization for 14 and 28 d. Attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) was used to detect the relative mineralization mass of minerals in the dentinal tubules in various groups, and X-ray Diffractometry and Energy Dispersive spectrometer were used to analyze the dentin surface material compositions in various groups. Scanning electron microscope (SEM) was used to observe the surface morphology of the specimens in various groups, Vickers hardness tester was used to measure the microhardness of the dentin surface in various groups, and microtensile strength (μ TBS) was used to examine the effect of the bond strengths in various groups. **Results:** Compared with blank control group, the conversion rate of adhesive double bonds by primer in positive control group was decreased, but the difference was not significant ($P>0.05$); but the conversion rates of adhesive double bonds by primer in 0.3%, 0.7%, 1.0%, and 1.5% urushiol groups were increased ($P<0.05$). The SEM results revealed that at 14 and 28 d, compared with blank control group, a minimal membranous deposit in dentinal tubules was seen in positive control group, minimal mineralization displayed in 0.3% urushiol group, significant deposition of loose mineral particles with blocking the tubule orifices was found in 0.7% urushiol group, noticeable mineral precipitates exhibited in 1.0% urushiol group, and relatively empty dentinal tubules were seen in 1.5% urushiol group. The microhardness results showed that at 14 d after remineralization, compared with blank control group, the microhardness in positive control group showed no significant improvement ($P>0.05$), while the differences in 0.3%, 0.7%, 1.0% and 1.5% urushiol groups were statistically significant ($P<0.05$); at 14 d after remineralization compared with positive control group, the microhardness of dentin in 0.7% and 1.0% urushiol groups were increased ($P<0.05$); at 28 d after remineralization, compared with blank control and positive control groups, the microhardness in urushiol groups were significantly increased ($P<0.05$), especially in 0.7% to 1.5% urushiol groups ($P<0.05$). In the μ TBS test, at 14 d after remineralization, compared with positive control group, the μ TBS in 0.3%, 0.7%, 1.0% and 1.5% urushiol groups were increased ($P<0.05$); at 28 d after remineralization, the μ TBS in blank control group was the lowest; compared with blank control group, there was no significant difference in the μ TBS in positive control group ($P>0.05$); compared with positive control group, the μ TBS in 0.3%, 0.7%, 1.0%, and 1.5% urushiol groups were increased ($P<0.05$), especially in 0.7%, 1.0, and 1.5% urushiol groups ($P<0.05$). **Conclusion:** Natural-derived urushiol, as a novel primer, can pretreat the demineralized dentin substrates, and facilitate collagen cross-linking within the dentin matrix; moreover, it leverages the phenolic hydroxyl groups within its structure to attract calcium and phosphate ions, envelope dentin collagen fibers to promote remineralization, in order to enhance the strength of the resin-dentin bonding interface.

KEYWORDS Urushiol; Dentin; Adhesion; Remineralization; Hydroxyapatite

近年来研究^[1-2]发现:天然来源的交联剂可以增强胶原纤维之间的交联,改善混合层中深层脱矿胶原的耐酶解性和机械性能,促进脱矿牙本质基质的再矿化^[3-4]。根据交联剂的化学结构可将天然来源的牙本质交联剂分为天然多酚类、环烯醚萜类和大分子多糖类。多酚中的酚羟基(-OH)不仅能够与蛋白质形成氢键、离子键和共价键,还能与金属阳离子螯合^[5],上述作用为促进牙本质胶原再矿化提供了先决条件。天然多酚类物质因其具有抗菌、抗炎和低毒性等特性已被应用于口腔防治龋病^[6]。研究者使用多酚类物质[原花青素、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)和儿茶素等]进行相关实验,研究^[7]表明:经原花青素处理后,不仅促进了胶原交联,还可作为再矿化的模板骨架加速矿物质沉积。EGCG作为底涂剂在再矿化中表现出积极作用^[8]。EGCG改性后的胶原膜能够促进新骨的形成^[9]。漆酚是一种来自植物(漆树)的多酚类物质,常用于生产清漆、油漆和其他涂料,其结构中的儿茶酚官能团和长的饱和或不饱和烷基链赋予其良好的疏水性^[10]。漆酚作为牙本质交联剂可增加脱矿牙本质胶原蛋白的交联数量,延缓基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)的降解^[11]。本研究旨在探讨漆酚作为酸蚀-冲洗模式的底涂剂是否可以促进脱矿牙本质再矿化,改善牙本质基质的机械性能,从而实现提高树脂-牙本质粘接界面的粘接强度,并降低粘接过程中的技术敏感性,提升临床应用中树脂粘接的耐久性。

1 资料与方法

1.1 试剂和主要仪器

漆酚购自武汉清漆公司,第8代通用粘接剂Single Bond Universal(SBU)和光固化树脂Filtek Z350购自美国3M公司,丙酮购自国药集团;衰减全反射傅里叶变换红外光谱仪(attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy, ATR-FTIR)(型号:Nicolet750)购自美国赛默飞公司,低速金刚石钻头(型号:SYJ-160)购自沈阳科晶自动化设备有限公司,维氏硬度计(型号:HMV-G21ST)和万能试验机(型号:AG-X plus)均购自日本岛津公司,扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)(型号:HITACHI4800)购自日本日立公司,数显千分尺(型号:TA025A)购自中国上工公司。

1.2 牙本质样本的制备

本研究经吉林大学口腔医院伦理委员会批准(伦理委员会编号:2023-004),收集吉林大学口腔医院18~40岁年龄段患者的无龋第三磨牙96颗,并将其保存于0.5%氯胺T溶液中。去除软组织后,在流水冷却下用低速金刚石钻头切除离体牙咬合面釉质,以获得2 mm的牙本质,使用600目碳化硅砂纸湿抛光试样1 min用以模拟标准玷污层。超声清洗后,使用37%磷酸凝胶酸蚀15 s,冲洗,备用。

1.3 底涂剂及再矿化溶液的制备

参照ZHAO等^[11]的研究将0.3%、0.7%、1.0%和1.5%质量分数的漆酚溶于丙酮溶剂中,制备不同浓度的底涂剂,作为0.3%、0.7%、1.0%和1.5%漆酚组。未进行处理的作为空白对照组,使用丙酮溶剂作为阳性对照。根据CHEN等^[12]先前的研究,将含有钙离子和磷离子的溶液混合制备模拟体液(simulated body fluids, SBF),后加入700 mg·L⁻¹聚丙烯酸(polyacrylic acid, PAA),制备成改良SBF,将其置于4℃保存备用。

1.4 ATR-FTIR检测各组粘接剂的转化率(degree of conversion, DC)

用压片机压制溴化钾片,涂底涂剂并轻轻吹气5 s,按照制造商的说明书方法涂粘接剂SBU,记录光谱及各官能团的吸光度(A)值。光固化20 s后立即记录固化后的光谱,重复上述过程($n=3$)。以苯环的信号峰A(1608 cm⁻¹)作为内标计算转化率。根据以下公式计算DC, $DC = [1 - (A_{1636}/A_{1608})_{\text{固化}} / (A_{1636}/A_{1608})_{\text{未固化}}] \times 100\%$ 。将各组样本进行再矿化处理,即将牙本质试样在SBF中分别矿化14和28 d,放置于37℃烘箱中,每隔2 d更换SBF,再矿化处理结束后取出样品,干燥后进行下列测试。

1.5 ATR-FTIR检测各组牙本质小管内矿物的相对质量

每组随机选取1个脱牙本质试样,对每组样本进行红外光谱采集,采集范围为1000~400 cm⁻¹,分辨率为1 cm⁻¹,32次扫描,每个样品在3个不同的位置采集,PO₄³⁻峰对应矿物质,1650 cm⁻¹峰对应牙本质胶原纤维的酰胺I带。对光谱进行平滑处理和基线校正^[13]。计算矿物的相对质量:矿物的相对质量=PO₄³⁻峰面积/酰胺I带峰面积。

1.6 SEM和X射线能谱仪(energy dispersive spectroscopy, EDS)检测各组样本牙本质小管内物质及钙磷离子比值

每组随机选取3个试样,将其固定在2.5%戊二醛溶液中12 h,随后分别使用上

升浓度梯度(25%、50%、75%、90%和100%)的无水乙醇脱水20 min。在喷金后,使用SEM对样品进行观察,放大倍数为5 000和20 000倍。使用EDS对各组试样牙本质小管内的物质进行元素定性和半定量分析,计算钙磷离子比值(钙磷离子比值=钙离子含量/磷离子含量),放大倍数为3 000倍。

1.7 X-射线衍射仪(X-ray diffraction, XRD)检测各组样本牙本质小管内物质成分 每组随机选取1个牙本质样本,使用XRD对牙本质表面进行扫描。工作电压:40 000 V,电流:200 mA,扫描范围为 $2\theta=10^{\circ}\sim 60^{\circ}$ 。

1.8 显微维氏硬度检测各组样本牙本质表面显微硬度 从各组中随机选取1个样品进行硬度试验。使用维氏硬度仪检测各组样本牙本质表面硬度,金刚石压头以4.9 N为载荷,停留时间为10 s,在目镜中观察到清晰的对角线,记录2条对角线长度得到对应的维氏硬度值,每个样品在相对平坦的牙本质表面上测试5次,每个压痕间隔为100 μm ,测试单位为维氏硬度(HV)。

1.9 微拉伸强度测试(microtensile bond strength, μTBS)检测各组样本粘接强度 从各组中随机选取3颗新鲜无龋的离体牙并切除冠部牙釉质,使中部的牙本质得以显露,使用37%的磷酸酸蚀后,用流动水冲洗20 s;空白对照组不进行处理;阳性对照组样本涂布丙酮1 min,实验组:在牙本质表面涂底涂剂1 min;轻吹10 s,再根据说明书涂粘接剂SBU,空白对照组直接涂SBU,然后轻吹15 s以去除多余的溶剂,在溶剂蒸发后,使用光固化灯对每个粘接试样进行20 s的光固化。4 mm厚度的Filtek Z350堆积于牙本质上,并分别光照聚合20 s。各组样本分别浸入改良SBF中,每2 d换液一次。将试样随机分配为2组:在不同的时间点(14和28 d)选择牙本质样品,先平行牙体长轴的方向将其切成厚度约为1 mm的牙本质圆片,再以垂直于牙本质圆片的方向进行切割,使其横截面积约为1.0 mm^2 。每颗牙至少8个试件。使用万能试验机以1 $\text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度进行测试,直至断裂。测试结束后使用数字千分尺测量样品断裂处的横截面积,精确度为0.01 mm。 μTBS 的计算方法是将每个试件断裂时所承受的最大载荷除以横截面积,以得到断裂时的应力(MPa)。

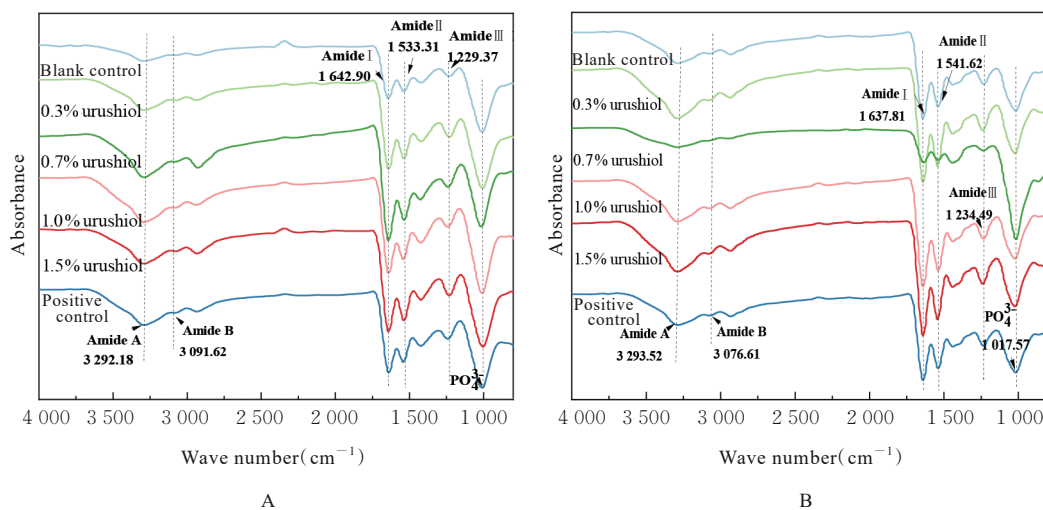
1.10 统计学分析 采用SPSS 25.0统计软件对数

据进行统计学分析。各组样本DC、矿化后牙本质中矿物的相对质量和显微硬度数据符合正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示。各组样本DC比较采用单因素方差分析,组间样本均数的两两比较采用Tukey检验。各组样本矿化后牙本质中矿物的相对质量、显微硬度和 μTBS 比较采用双因素方差分析,组间样本均数的两两比较采用Tukey检验。显著水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组样本底涂剂对粘接剂DC 与空白对照组($61.95\%\pm 1.69\%$)比较,阳性对照组底涂剂对粘接剂的DC($60.52\%\pm 1.73\%$)差异无统计学意义($P>0.05$);各浓度的漆酚底涂剂转化率比较差异有统计学意义($P<0.05$),0.3%、0.7%、1.0%和1.5%漆酚组底涂剂对粘接剂DC($64.79\%\pm 0.49\%$ 、 $70.95\%\pm 1.60\%$ 、 $68.96\%\pm 0.52\%$ 和 $66.29\%\pm 0.95\%$)比较差异无统计学意义($P>0.05$),0.7%漆酚组底涂剂对粘接剂的DC最高。

2.2 漆酚与脱矿牙本质胶原化学结合作用的ATR-FTIR光谱 脱矿牙本质胶原纤维的酰胺A、酰胺B、酰胺I带、酰胺II带和酰胺III带分别对应的峰位为3 292.18、3 091.62、1 642.90、1 553.31及1 229.37 cm^{-1} 。其中酰胺A代表C=O伸缩振动,酰胺B代表N-H的弯曲振动和C-N的伸缩振动,酰胺I带代表C=O伸缩振动,酰胺II带代表N-H的弯曲振动和C-N的伸缩振动,酰胺III带代表CH₂剪式振动。磷酸盐 PO_4^{3-} 对应的峰位为1 017.57 cm^{-1} 。经再矿化处理后的ATR-FTIR检测结果显示:经14 d再矿化处理后,在除空白对照组和阳性对照组外,0.3%、0.7%、1.0%和1.5%漆酚组样本中牙本质表面的 PO_4^{3-} 峰信号强度明显增强,经28 d的再矿化处理后酰胺I带的峰信号相对增加。见图1。矿物的相对质量($\text{PO}_4^{3-}/$ 酰胺I)如表1所示,再矿化14 d后,与空白对照组比较,阳性对照组样本的 $\text{PO}_4^{3-}/$ 酰胺I比值未见明显差异,而0.3%、0.7%、1.0%和1.5%漆酚组样本牙本质表面的 PO_4^{3-} 峰信号强度升高($P<0.05$),明显提高了矿物的相对质量,提示在牙本质小管近表面2 μm 区域内形成了矿物沉积。再矿化28 d后空白对照组和阳性对照组矿物的相对质量较14 d时略有降低,而在0.7%和1.0%漆酚组经28 d再矿化处理后的矿物的相对质量较14 d明显提升($P<0.05$)。



A: 14 d after remineralization; B: 28 d after remineralization.

图1 各组样本 ATR-FTIR 光谱的酰胺 A、酰胺 B、酰胺 I 带、酰胺 II 带、酰胺 III 带和磷酸盐图谱

Fig. 1 Amide A, amide B, amide I, amide II, amide III, and phosphate spectra of ATR-FTIR of samples in various groups

表1 再矿化 14 和 28 d 后各组样本 PO_4^{3-} /酰胺 I 的比值
Tab. 1 Ratios of PO_4^{3-} /amide I of samples in various groups at 14 and 28 d after remineralization ($n=3$)

Group	PO_4^{3-} /amide I	
	(t/d)	
Blank control	14	28
Blank control	1.12±0.12	0.98±0.06
0.3% urushiol	1.59±0.12*	1.90±0.08 ^{Ba}
0.7% urushiol	1.94±0.22*	2.39±0.04 ^{ABb}
1.0% urushiol	1.99±0.21*	2.32±0.18 ^{ABb}
1.5% urushiol	1.98±0.13*	2.29±0.05 ^{ABa}
Positive control	1.25±0.18*	1.20±0.07 ^{Aa}

For different capital letters, statistically significant differences are shown only for different primer concentrations in the same remineralization time ($P<0.05$). Different lowercase letters represent statistically significant differences in different remineralization times for the same primer concentrations ($P<0.05$).

2.3 各组样本牙本质小管内物质和钙磷离子比值

再矿化 14 和 28 d 后的空白对照组样本牙本质小管可明显观察到管内呈现出完全开放的状态, 并观察到胶原纤维间的缝隙; 阳性对照组样本牙本质小管内纤维被少量的膜状有机物包裹, 但管腔内仍开放明显; 经不同浓度漆酚底涂剂处理后, 再矿化 14 d 后 0.3% 漆酚组样本的牙本质小管堵塞率较低; 0.7% 漆酚组样本中牙本质小管内有较多带有孔隙的松散矿物颗粒沉积在小管口; 1.0% 漆酚组的样本可见小块不连续的矿物沉淀在小管口; 而在 1.5% 漆酚组样本牙本质小管的矿物沉淀较少, 小

管较空。再矿化 28 d 后可在牙本质小管的管腔内及管侧壁观察到晶体矿物质沉积, 经 28 d 矿化后可见经漆酚处理后的牙本质再矿化效果优于 14 d, 0.7% 漆酚组样本脱矿纤维空间几乎完全封闭, 矿物形态连续, 并充满牙本质小管, 其他浓度的底涂剂形成的矿物晶体不连续, 但仍可对牙本质小管进行有效的封堵。而在再矿化 28 d 后空白对照组和阳性对照组样本的管内侧壁的胶原纤维暴露清晰可见, 小管开放较为明显。见图 2。

在对脱矿牙本质进行再矿化处理 14 和 28 d 后, 除空白对照组和阳性对照组样本钙磷离子比值明显降低, 其余各实验组样本牙本质小管内矿物质沉积物钙磷离子比值均呈现不同程度的上升, 尤其在经 28 d 的再矿化处理后, 0.7% 和 1.0% 漆酚组样本牙本质的小管内矿物质沉积物钙磷离子比值与羟基磷灰石 (hydroxyapatite, HA) 的钙磷离子比值相接近, 提示矿物质为 HA 晶体。见表 2。

2.4 XRD 对 各 组 样 本 牙 本 质 小 管 内 沉 积 物 晶 体 的 定 性 检 测 结 果

各组样本的 XRD 检测结果如图 3 所示, 参照 HA 标准谱 (PDF 09-0432), 再矿化处理 28 d 后在所有组中均可见 2θ (degree) = 25.82° (002)、 2θ (degree) = 31.84° (211) 和 2θ (degree) = 32.13° (112), 可观察到 HA 的典型衍射峰, 确认了牙本质小管内矿化晶体的成分为 HA 晶体。从官能度梯度的方向分析, 与其他浓度的漆酚底涂剂比较, 0.7% 漆酚组样本牙本质小管内沉物可观察到

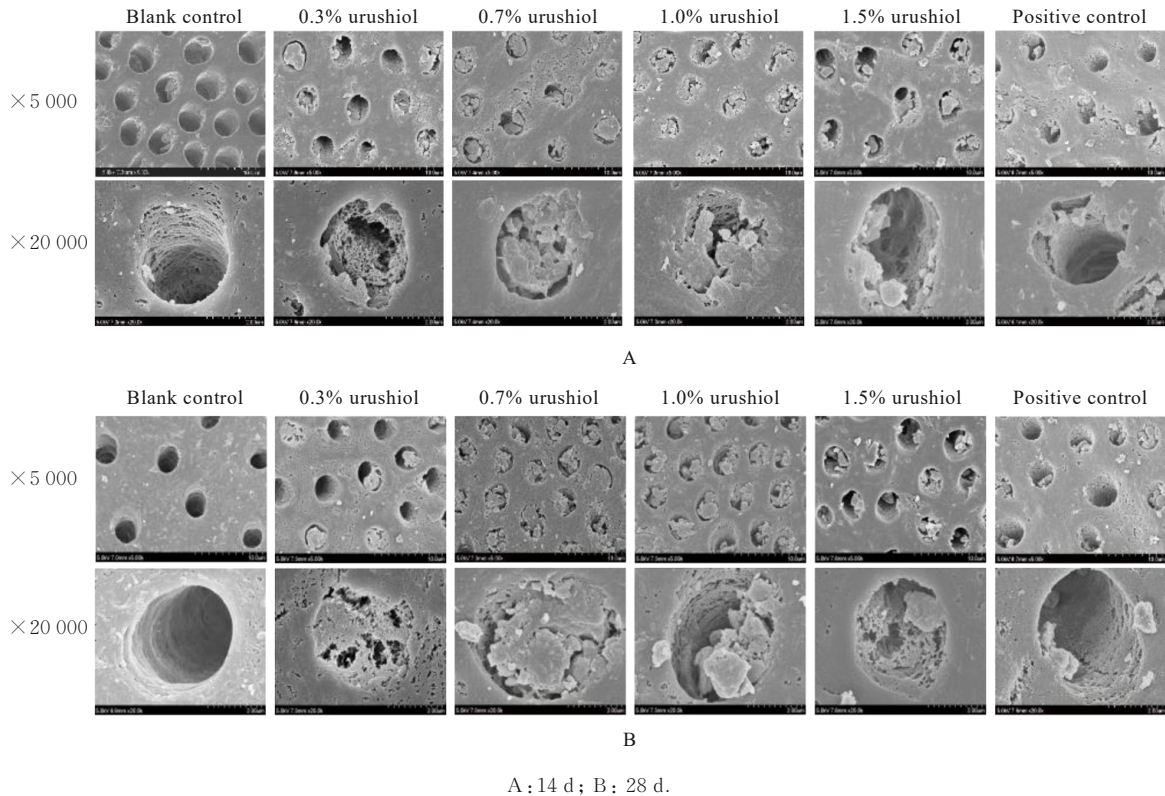


图2 再矿化14和28 d后各组样本牙本质小管矿化沉积物颗粒的SEM观察结果

Fig. 2 SEM observation results of mineralized particles of dentin tubules at 14 and 28 d after remineralization of samples in various groups

表2 再矿化14和28 d后EDS测量各组样本牙本质小管沉积物的钙磷离子比值

Tab. 2 Ratios of calcium-phosphorus irons of dentin tubule deposits of samples in various groups at 14 and 28 d after remineralization detected by EDS

Groups	Ratio of calcium-phosphorus irons		
	(t/d)	14	28
Blank control		1.44	1.26
0.3% urushiol		1.61	1.64
0.7% urushiol		1.67	1.68
1.0% urushiol		1.65	1.66
1.5% urushiol		1.61	1.65
Positive control		1.47	1.50

2θ (degree) = 32.92° (300) 和 2θ (degree) = 45.24° (203) 2个峰, 证实形成的颗粒晶型种类更多, 表明其形成的晶体具有更多的各向性。

2.5 经再矿化处理14和28 d后的各组样本牙本质的显微硬度 经再矿化处理14和28 d后, 经漆酚底涂剂处理后的脱矿牙本质的显微硬度明显提高, 与空白对照组和阳性对照组比较, 0.3%、0.7%、

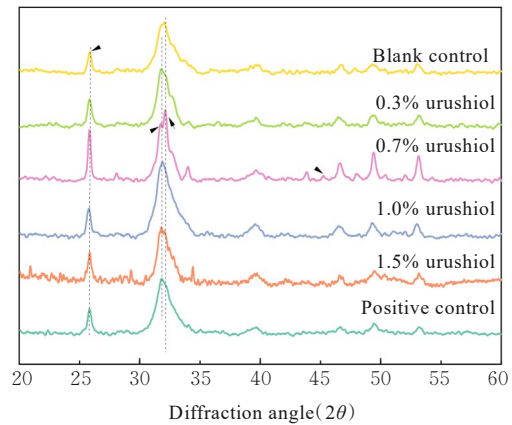


图3 再矿化28 d后各组样本牙本质小管矿化沉积物晶体的XRD图谱

Fig. 3 XRD spectra of mineralized sediment crystals in dentin tubules of samples in various groups at 28 d after remineralization

1.0%和1.5%漆酚组样本牙本质显微硬度升高 ($P < 0.05$), 与0.3%漆酚组比较, 0.7%漆酚组样本牙本质显微硬度升高 ($P < 0.05$)。表明在脱矿层内存在矿物质的沉积。再矿化28 d后, 空白对照组

和阳性对照组样本牙本质的硬度略有降低, 随时间推移不同浓度的漆酚底涂剂组的样本牙本质显微硬度明显升高 ($P < 0.05$), 经 0.7% 漆酚和 1.0% 漆酚处理后的脱矿牙本质在 28 d 后的硬度升高最为明显。见表 3。

表 3 再矿化 14 和 28 d 后各组样本牙本质的显微硬度

Tab. 3 Microhardness of dentin of samples in various groups at 14 and 28 d after remineralization ($n=5, \bar{x} \pm s, \text{HV}$)

Group	Microhardness	
	(t/d)	
Blank control	59.34 ± 1.06 ^{Aa}	57.60 ± 1.83 ^{Aa}
0.3% urushiol	62.06 ± 1.30 ^{Ba}	65.54 ± 0.71 ^{Bb}
0.7% urushiol	66.08 ± 1.76 ^{ABa}	69.58 ± 1.21 ^{ABb}
1.0% urushiol	67.12 ± 1.86 ^{ABa}	69.74 ± 0.46 ^{ABb}
1.5% urushiol	65.84 ± 1.85 ^{ABa}	69.26 ± 0.98 ^{ABb}
Positive control	60.38 ± 0.47 ^{Aa}	60.12 ± 0.50 ^{Aa}

For different capital letters, statistically significant differences are shown only for different primer concentrations in the same remineralization time ($P < 0.05$). Different lowercase letters represent statistically significant differences in different remineralization times for the same primer concentrations ($P < 0.05$).

2.6 再矿化 14 和 28 d 各组样本粘接强度 如表 4 所示, 双因素方差分析结果显示 2 种因素在 2 个粘接体系 (底涂剂浓度和矿化时间) 中的主效应显著 ($P < 0.05$)。经 14 d 矿化处理后, 空白对照组样本的 μTBS 值最低, 与阳性对照组之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而与各浓度的漆酚底涂剂 μTBS 值比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。0.3%、0.7%、1.0% 和 1.5% 漆酚组不同程度地提高了 μTBS 值, 但各实验组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 其中 1.0% 漆酚组的粘接强度最强。而经 28 d 再矿化处理后, 只有 0.7% 漆酚组的 μTBS 值最高, 表明该组粘接强度最优, 再矿化效果最佳。

3 讨论

在牙本质的有机基质中, I 型胶原占 90%, 其余 10% 主要包括糖蛋白和非胶原蛋白 (non-collagenous protein, NCP)。NCPs 中的牙本质磷蛋白 (dentin phosphoprotein, DPP) 对于纤维内和管间牙本质的矿化起到促进作用, 同时也促进矿物晶体的初始形成和成熟^[14]。牙本质基质蛋白 1 (dentin matrix protein-1, DMP-1) 通过与钙的高亲

表 4 再矿化 14 和 28 d 后各组样本牙本质的 μTBS

Tab. 4 μTBS of dentin of samples in various groups at 14 and 28 d after remineralization ($n=3, \bar{x} \pm s, \text{MPa}$)

Group	μTBS	
	(t/d)	
Blank control	23.59 ± 5.12 ^{Aa}	22.32 ± 5.04 ^{Aa}
0.3% urushiol	32.43 ± 3.23 ^{Ba}	31.00 ± 5.78 ^{Ba}
0.7% urushiol	35.76 ± 6.43 ^{Ba}	38.12 ± 4.54 ^{ABa}
1.0% urushiol	36.70 ± 4.60 ^{Ba}	36.18 ± 4.92 ^{ABa}
1.5% urushiol	35.19 ± 2.44 ^{Ba}	34.27 ± 5.14 ^{ABa}
Positive control	29.28 ± 1.37 ^{Aa}	27.86 ± 1.29 ^{Aa}

For different capital letters, statistically significant differences are shown only for different primer concentrations in the same remineralization time ($P < 0.05$). Different lowercase letters represent statistically significant differences in different remineralization times for the same primer concentrations ($P < 0.05$).

和力和结合能力, 不仅调节晶体的成核和生长, 并且促进矿物的形成^[15]。尽管 NCPs 可诱导脱矿牙本质再矿化, 但从牙本质中提取和纯化 NCPs 仍面临挑战。因此, 研究者提出使用 NCPs 类似物促进仿生矿化的方法, 即聚合物诱导液体前驱体 (polymer-induced liquid precursor, PILP)^[16-17]。截至 2024 年, 已经研究出多种 NCPs 类似物, 如 PAA、三聚磷酸钠和聚乙基膦酸等^[18]。PAA 是最常见的 NCP 类似物, 其不仅可以模拟 DMP-1 的无定形磷酸钙 (amorphous calcium phosphate, ACP) 纳米颗粒结合位点, 还能有效促进流体 ACP 颗粒在胶原纤维间隙中的沉积。低相对分子质量的 PAA 还能稳定 ACP^[19]。因此, 本研究通过 PILP 的方法探究含有 PAA 的 SBF 作为矿化介质是否可以增强胶原纤维矿化能力, 从而促进其仿生再矿化, 改善树脂-牙本质粘接强度。

丙酮溶剂具有高偶极矩和低介电常数共存的特性, 使其能够同时溶解极性化合物和非极性化合物。因此, 丙酮在口腔潮湿环境中具有广泛应用。尽管与水或乙醇等含有羟基的溶剂比较, 其羰基 (C=O) 所形成的氢键相对较弱, 但其高偶极矩和优良的蒸发性能可有效降低粘接体系中的水分含量^[20], 从而减少水分对粘接系统的不利影响。先前的研究^[21]显示: 与其他有机溶剂比较, 丙酮作为 EDC 的溶剂具有更高的胶原交联潜力, 可改善单体在脱矿牙本质胶原纤维内的扩散, 并通过蒸发促进水分去除, 与漆酚的疏水性相互协同。因此, 本研究选用丙酮作为底涂剂的溶剂。

漆酚是一种从植物生漆中提取的天然单体,成分为邻苯二酚基团和线性的不饱和侧链^[22],在抗菌和抗氧化方面性能优异^[23],还具备良好的耐腐蚀性和耐水性^[24]。本实验选择0.3%、0.7%、1.0%和1.5%漆酚浓度作为实验浓度,在0.7%浓度下能够提高牙本质胶原的交联程度,从而增强其生物稳定性。漆酚结构中的酚羟基基团可以吸引SBF中的钙和磷离子,经过PAA稳定的ACP渗透到胶原纤维间隙,加速矿物晶体的成核和生长,使混合层裸露的牙本质胶原纤维在短时间内被矿物质包裹,保持胶原支架结构的完整性,为再矿化提供了先决条件。

本研究结果显示:丙酮组的双键转化率较低,可能是由于丙酮相对浓度过高,阻碍了粘接剂单体的流动性,从而影响C=C键的转化^[25]。含漆酚实验组的转化率随漆酚浓度的升高而降低,这与先前的研究结果^[11]一致,表明高浓度的漆酚具有一定的阻聚作用。

本研究ATR-FTIR的检测结果显示:经过漆酚底涂剂处理后的牙本质在 PO_4^{3-} 峰处有显著的提升,表明经矿化后的脱矿牙本质小管内存在矿物晶体的生成,改良SBF中的PAA可稳定ACP;协同I型胶原作为模板吸引ACP的聚集和生长,促进矿化物的形成和沉积。经漆酚底涂剂处理后, PO_4^{3-} /酰胺I比值明显提升,表明14d后所有预处理组均有再矿化效果。SEM检测结果显示:含漆酚实验组的脱矿牙本质小管中可观察到较多的矿物质沉积,而在阳性对照组和空白对照组样本中牙本质小管开放十分明显;EDS检测结果表明:经28d再矿化处理后,0.7%和1.0%漆酚组样本的牙本质小管内矿化物的钙磷离子比值与HA钙磷离子的比值相近^[26];XRD检测结果提示矿化后的特征峰与HA的标准谱相同,且再矿化28d后,0.7%漆酚组的图谱中可见峰更多,表明生成的矿物晶体各向性更高,上述结果表明牙本质小管内的矿化物为HA,表明漆酚有促进脱矿牙本质再矿化的作用。

本研究显微硬度测试结果表明:经漆酚改性后牙本质表面硬度随再矿化处理的时间增长而显著提高。经14d再矿化处理后,实验组的表面硬度均有不同程度的改善。 μ TBS测试中,再矿化14d后,与空白对照组比较,阳性对照组 μ TBS值差异无统计学意义,但不同浓度的漆酚组之间差异有统计学

意义。再矿化28d后,除0.7%漆酚组外,其余实验组的 μ TBS值与14d相比虽有降低,但仍显著高于空白对照组和阳性对照组,表明漆酚实验组不仅不会影响粘接强度,还能提高树脂-牙本质界面的粘接强度,随再矿化时间的延长,0.7%漆酚组表现出优异的粘接强度。漆酚能提高粘接强度的原因是漆酚中大量的酚羟基可与胶原蛋白的氨基和羧基相结合,形成氢键取代胶原纤维表面的游离水和结合水^[27],同时经过底涂剂改性后的胶原纤维中亲水性氨基基团随之减少,漆酚本身的疏水性可降低水的渗入,进而维持混合层的稳定性。因此,通过PILP方法,在含有PAA作为NCPs类似物的介导下,经漆酚底涂剂再矿化处理后产生的矿化物可通过保护混合层裸露胶原纤维,进而改善修复体树脂-牙本质粘接的耐久性。

研究^[28]表明:类似于漆酚的多酚类物质(杨梅素)也能促脱矿牙本质再矿化。然而,在杨梅素再矿化处理后,牙本质小管内的矿物质沉积程度较低,导致堵塞牙本质小管的管腔面积较狭窄。本研究结果表明:漆酚作为底涂剂,在一定的矿化时间内不仅可以促进脱矿牙本质的再矿化,还能有效提高树脂-牙本质粘接界面的粘接稳定性。在未来仿生矿化的研究中,需要进行更多的体内矿化实验,并将其转化为可在临床实践中应用的方法。

综上所述,本研究结果表明漆酚底涂剂能促进脱矿牙本质再矿化;0.7%漆酚底涂剂可显著提高混合层的稳定性,使树脂-牙本质粘接界面的粘接性能得到改善,是较为理想的浓度。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

柏婷婷参与论文整体设计,魏飞参与论文撰写,孙广迪参与数据统计学分析,陈雪参与论文格式修改,朱松参与实验整体设计和论文审阅。

[参考文献]

- [1] DE PAUULA D M, LOMONACO D, PARENTE DA PONTE A M, et al. Collagen cross-linking lignin improves the bonding performance of etch-and-rinse adhesives to dentin[J]. *Materials*, 2022, 15(9): 3218.
- [2] DAVILA-SANCHEZ A, GUTIERREZ M F, BERMUDEZ J P, et al. Effects of dentine pretreatment solutions containing flavonoids on the resin polymer-

- dentine interface created using a modern universal adhesive[J]. *Polymers*, 2021, 13(7): 1145.
- [3] AYDINB, LEME-KRAUS A A, VIDAL C M P, et al. Evidence to the role of interflavan linkages and galloylation of proanthocyanidins at sustaining long-term dentin biomodification[J]. *Dent Mater*, 2019, 35(2): 328-334.
- [4] PAIK Y, KIM J H, YOO K H, et al. Dentin biomodification with flavonoids and calcium phosphate ion clusters to improve dentin bonding stability [J]. *Materials*, 2022, 15(4): 1494.
- [5] KHAROUF N, HAIKEL Y, BALL V. Polyphenols in dental applications[J]. *Bioengineering*, 2020, 7(3): 72.
- [6] KUANG X, CHEN V, XU X. Novel Approaches to the control of oral microbial biofilms[J]. *BioMed Res Int*, 2018, 2018: 1-13.
- [7] EPASINGHE D J, BURROW M F, YIU C K Y. Effect of proanthocyanidin on ultrastructure and mineralization of dentine collagen[J]. *Arch Oral Biolog*, 2017, 84: 29-36.
- [8] KALAISELVAM R, GANESH A, RAJAN M, et al. Evaluation of bioflavonoids on the immediate and delayed microtensile bond strength of self-etch and total-etch adhesive systems to sound dentin[J]. *Indian J Dent Res*, 2018, 29(2): 133-136.
- [9] CHU C, WANG Y, WANG Y, et al. Evaluation of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) modified collagen in guided bone regeneration (GBR) surgery and modulation of macrophage phenotype [J]. *Mater Sci Eng: C*, 2019, 99: 73-82.
- [10] JEONG H, CHO Y A, CHO Y, et al. Durable urushiol-based nanofilm with water repellency for clear overlay appliances in dentistry [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2016, 2(3): 344-348.
- [11] ZHAO Y, HE X, WANG H, et al. Polyphenol-enriched extract of lacquer sap used as a dentine primer with benefits of improving collagen cross-linking and antibacterial functions [J]. *ACS Biomater Sci & Eng*, 2022, 8(9): 3741-3753.
- [12] CHEN C, MAO C, SUN J, et al. Glutaraldehyde-induced remineralization improves the mechanical properties and biostability of dentin collagen[J]. *Mat Sci Eng C*, 2016, 67: 657-665.
- [13] ENRICH-ESSVEIN T, RODRIGUEZ-NAVARRO A B, ÁLVAREZ-LLORET P, et al. Proanthocyanidin-functionalized hydroxyapatite nanoparticles as dentin biomodifier[J]. *Dent Mater*, 2021, 37(9): 1437-1445.
- [14] GULSEREN G, TANSIK G, GARIFULLIN R, et al. Dentin phosphoprotein mimetic peptide nanofibers promote biomineralization [J]. *Macromolecular Bioscience*, 2019, 19(1): 1800080.
- [15] FAN M, ZHOU Z, ZHU W, et al. Reinforced dentin remineralization via a novel dual-affinity peptide [J]. *Dent Mater*, 2024, 40(2): 254-266.
- [16] BACINO M, GIRN V, NURROHMAN H, et al. Integrating the PILP-mineralization process into a restorative dental treatment [J]. *Dent Mater*, 2019, 35(1): 53-63.
- [17] GAO X, WANG Z, YANG H, et al. Rapid intrafibrillar mineralization strategy enhances adhesive-dentine interface[J]. *J Dent Res*, 2023: 2023, 3(1): 42-50.
- [18] KUNERT M, PIWONSKI I, HARDAN L, et al. Dentine remineralisation induced by “bioactive” materials through mineral deposition: an *in vitro* study[J]. *Nanomaterials*, 2024, 14(3): 274.
- [19] QI Y, YE Z, FOK A, et al. Effects of molecular weight and concentration of poly (acrylic acid) on biomimetic mineralization of Collagen [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2018, 4(8): 2758-2766.
- [20] VAN LANDUYT K L, SNAUWAERT J, DE MUNCK J, et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives[J]. *Biomaterials*, 2007, 28(26): 3757-3785.
- [21] EKAMBARAM M, Yiu C K Y, MATINLINNA J P, et al. Effect of solvents on dentin collagen cross-linking potential of Carbodiimide [J]. *J Adhes Dent*, 2015, 17(3): 219-226.
- [22] HATADA K, KITAYAMA T, NISHIURA T, et al. Structural analysis of the components of Chinese lacquer “kuro-urushi” [J]. *Macromol Chem Phys*, 1994, 195(5): 1865-1870.
- [23] SUK K T, KIM H S, KIM M Y, et al. *In vitro* antibacterial and morphological effects of the urushiol component of the sap of the Korean lacquer tree (*Rhus vernicifera* Stokes) on helicobacter pylori [J]. *J Korean Med Sci*, 2010, 25(3): 399-404.
- [24] YANG Y X, LOHAKARE J D, CHAE B J. Effects of lacquer (*rhus verniciflua*) meal supplementation on layer performance [J]. *Asian-Aust J Animal Sci*, 2006, 20(1): 82-88.
- [25] OGURI M, YOSHIDA Y, YOSHIHARA K, et al. Effects of functional monomers and photo-initiators on the degree of conversion of a dental adhesive [J]. *Acta Biomaterialia*, 2012, 8(5): 1928-1934.
- [26] DING J, ZHU X, LIN Q, et al. Effects of arginine-

- calcium carbonate pretreatment on the remineralizing and bonding performance of phosphorylated dentin [J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2023, 140: 105718.
- [27] Sim G S, LEE B C, CHO H S, et al. Structure activity relationship of antioxidative property of flavonoids and inhibitory effect on matrix metalloproteinase activity in UVA-irradiated human dermal fibroblast [J]. *Arch Pharm Res*, 2007, 30(3): 290-298.
- [28] 王贝贝, 韩菲, 袁晓君, 等. 杨梅素对脱矿牙本质再矿化及树脂-牙本质粘接效果的影响[J]. *口腔医学*, 2022, 42(10): 865-868, 916.