

# 壳聚糖治疗牙周病的研究进展

温星悦<sup>1</sup> 赵骏宇<sup>1</sup> 赵崇钧<sup>1</sup> 王贵欣<sup>2</sup> 黄睿洁<sup>1</sup>

1. 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儿童口腔科 成都 610041;  
2. 四川大学化学工程学院 成都 610065

**[摘要]** 壳聚糖是迄今为止发现的唯一天然存在的阳离子多糖，因具有良好的生物相容性、生物降解性、抗菌、抗炎、抗癌、组织修复活性和巨大载药能力等优点，在组织工程中逐渐受到重视。作为一种炎症破坏性疾病，牙周病发病率高且对口腔健康乃至全身健康都有重大影响。本文总结了壳聚糖在牙周治疗中的再生支架、药物递送、抗菌作用、抗炎和促进血管生成作用等，分析了目前存在的问题，指出了未来可能的发展方向，旨在为牙周病的治疗提供新思路。

**[关键词]** 牙周病；壳聚糖；多向支架；药物递送；抗菌

**[中图分类号]** R781.4 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2024037



开放科学（资源服务）  
标识码（OSID）

## Research progress on chitosan in periodontal disease treatment

Wen Xingyue<sup>1</sup>, Zhao Junyu<sup>1</sup>, Zhao Chongjun<sup>1</sup>, Wang Guixin<sup>2</sup>, Huang Ruijie<sup>1</sup>

1. State Key Laboratory of Oral Diseases & National Center for Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Dept. of Pediatric Dentistry, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. School of Chemical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China (21978179, 31800114); Sichuan University Innovation and Entrepreneurship Training Program under Grants (C2023122912)

Correspondence: Huang Ruijie, Email: hwangrj@163.com

**[Abstract]** Chitosan is the only naturally occurring cationic polysaccharide and has gradually become a focus of attention in tissue engineering due to its good biocompatibility; biodegradability; antibacterial, anti-inflammatory, anticancer, and tissue repair activity; and great drug delivery capacity. Periodontal disease, as an inflammatory and destructive disease, has a high prevalence and significant impact on oral health and even systemic health. In this review, we summarize the role of chitosan in periodontal therapy, including its regenerative scaffolding; drug delivery; and antibacterial, anti-inflammatory, and angiogenesis-promoting effects. We then analyze current issues and point out possible future directions for its development, aiming to provide solutions to problems encountered in periodontal disease treatment.

**[Key words]** periodontal disease; chitosan; multidirectional scaffold; drug delivery; antibacterial properties

牙周病是指发生在牙的支持组织（牙龈、牙周膜、牙槽骨和牙骨质）的炎症性、破坏性疾病，即通常所说的牙周炎，主要和口腔微生态平衡的

失调与宿主的高炎症反应有关<sup>[1]</sup>。牙周病的病变从牙龈波及到深部牙周组织的牙周膜、牙槽骨及牙骨质，可导致牙周袋形成、牙龈退缩甚至牙松动脱落<sup>[2]</sup>。Trindade等<sup>[3]</sup>进行了一项涉及25个国家的系统回顾和荟萃分析，对混杂因素进行处理后的结果表明，2011—2020年，成人的牙周炎患病率约为62%，重度牙周炎为23.6%。牙周病的发病率不断上升，极大影响人们的生活质量，此外，牙周病与糖尿病、心血管疾病等全身疾病之间的关

[收稿日期] 2023-08-06; [修回日期] 2023-11-21

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (21978179, 31800114); 四川大学大学生创新创业训练计划 (C2023122912)

[作者简介] 温星悦, 学士, Email: 2054287673@qq.com

[通信作者] 黄睿洁, 副教授, 博士, Email: hwangrj@163.com

系也越来越受到重视。牙周病的治疗方面,目前非手术机械治疗可以在很大程度上促进牙周炎症消退并去除龈下微生物生物膜,缓解临床症状,但已丧失的牙周组织难以重建<sup>[4]</sup>,而牙周组织重建正是牙周病治疗的理想目标。

壳聚糖是甲壳素的完全或部分脱乙酰衍生物,甲壳素在酵母细胞壁、真菌和海洋甲壳动物的壳中广泛存在,是自然界中仅次于纤维素的最广泛存在的天然多糖<sup>[5-6]</sup>。壳聚糖是一种长链阳离子多糖,活性基团包括伯氨基、伯羟基和仲羟基。其中,氨基氮含有自由电子对,容易吸附金属阳离子,氨基的存在也使壳聚糖得以溶解在酸性水溶液中,形成阳离子聚合物,这种独特的化学基团使得壳聚糖成为自然界中存在的阳离子多糖,并赋予其具有独特的生物学性能,如生物相容性、生物降解性、抗菌抗炎抗癌特性、适中的力学性能、组织修活性性和巨大载药能力等<sup>[7-8]</sup>。除此之外,壳聚糖具有稳定钙磷离子形成无定形磷酸钙的功能,钙化合物可以通过成核生长沉积在天然壳聚糖表面<sup>[1]</sup>;对于牙齿的釉质,壳聚糖表面的阳离子性质可能会吸引环境中的 $\text{PO}_4^{3-}$ 离子并诱导成核,促进无定形磷酸钙的形成<sup>[9]</sup>。因此,它在生物医学领域具有巨大潜力,包括药物输送、抗菌治疗、伤口愈合、组织工程和癌症治疗等方面<sup>[10]</sup>。

临床上,牙周病的治疗主要包括基础牙周治疗、辅助治疗和手术治疗,其中辅助治疗主要涉及系统抗菌和调节宿主免疫防御功能<sup>[2]</sup>,而壳聚糖在口腔环境中具有良好的抗菌和免疫调节作用。虽然目前壳聚糖在治疗牙周病的临床应用方面还远远未达到“产品化”的程度,尚处在实验室研究阶段以评估其有效性及探索背后的机制,但不少体内实验研究证据对其疗效进行了肯定。如Zhang等<sup>[11]</sup>将短链壳聚糖掺入共价四臂聚乙二醇网络中,合成了半互穿网络复合凝胶。该复合凝胶同时具备较好的生物相容性和优良的机械强度。此外,复合凝胶还通过静电相互作用和链缠结轻松包裹阿司匹林,并在药物释放方面实现了长达14 d的缓释,14 d后药物释放水平达到70%。体外实验发现:该复合凝胶可以促进牙周膜干细胞的增殖,体内实验证实了其促进骨再生的潜能。

壳聚糖的脱乙酰度和相对分子质量很大程度上决定了其生物学性能(如:溶解度、机械性能和生物活性等),但是壳聚糖不耐酸、机械性能不足、溶解度较低,限制其广泛应用。通过改性可

以扩大壳聚糖的应用范围,改善其生物学性能,目前主流的改性方法包括化学改性、物理改性和酶法改性。其聚合物主链上氨基、乙酰氨基、羧基这3种类型的活性位点使其非常适合化学修饰,从而产生具有离子特性、可控溶解度和亲水性的衍生物。通过超声波处理、电离辐射和机械研磨等物理改性手段可以制备凝胶<sup>[12]</sup>、纳米颗粒<sup>[13]</sup>等形式,满足多种需求。酶法改性即将酪氨酸酶、辣根过氧化物酶等活性物质酶加入壳聚糖中以提高其生物活性,扩大应用范围。酶法改性因其安全性、便捷性而逐渐得到推广应用<sup>[14]</sup>。

壳聚糖本身优越的生物学性能使其越来越受到学者的关注,各种改性方式的不断探索与优化让其临床应用更接近实践。其较为广谱的抗菌抗炎作用、较强的载药能力让其有望应用于牙周病的预防和早期治疗,多向支架的构建更是为重度牙周炎的牙周组织再生提供了一个可能的选择。本文回顾了壳聚糖在牙周疾病中可能的应用方向(图1),为牙周病的治疗提供新思路。

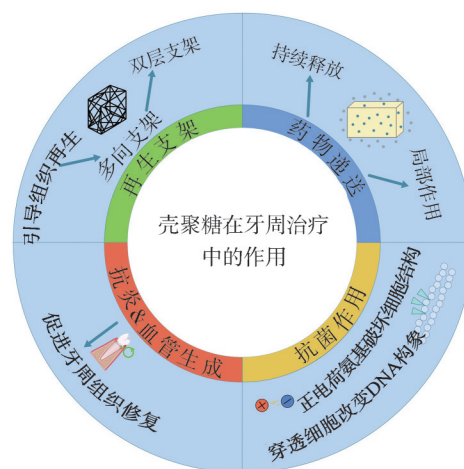


图 1 壳聚糖在牙周治疗中的作用

Fig 1 The role of chitosan in periodontal treatment

## 1 壳聚糖在牙周病治疗中的再生支架作用

再生是牙周病治疗的终极目标。利用生物材料构建三维支架表面可以促进细胞黏附、增殖和分化,从而为组织再生创造有利环境<sup>[15-17]</sup>。壳聚糖不仅具有良好的生物降解性、生物相容性和生物可再生性等优点,而且可吸收性使其不仅方便临床操作,更规避了二次手术操作的感染风险。壳聚糖本身具有良好的抗菌和抗炎特性,且具有

适中的力学性能。基于壳聚糖的支架与其他聚合物和分子结合,可以保留壳聚糖本身的抗菌与抗炎性能,并提升其机械性能<sup>[8]</sup>。从引导组织再生(guided tissue regeneration, GTR)到多向支架的构建,壳聚糖都表现出极大的潜力<sup>[18]</sup>。

当牙周组织受到损害时,与硬组织相比,软组织的再生较为容易。GTR是一种基于屏障膜的技术,通过膜屏障的构建,抑制了上皮和成纤维细胞迁移和生长,为牙周膜细胞和成骨细胞创造足够的空间,避免了因软组织的过度修复挤占硬组织再生的空间而使得骨形成障碍,进一步地,通过其支架结构支持缺损部位,提高成骨细胞活性、促进骨再生,从而实现复杂的牙周组织的再生。Niu等<sup>[19]</sup>结合溶剂浇铸和静电纺丝技术,设计了一种新型的聚酰胺-6/壳聚糖@纳米羟磷灰石/聚酰胺-6 (polyamide-6/chitosan@nano-hydroxyapatite/polyamide-6, PA6/CS@n-HA/PA6) 双层组织导向膜。体外细胞培养研究表明,该双层支架具有良好的生物安全性、生物活性、生物相容性,并能引导骨再生。Abdelaziz等<sup>[20]</sup>通过壳聚糖纳米支架的构建再次证明了其在组织再生和引导骨再生方面的潜力。Zhang等<sup>[21]</sup>通过静电纺丝和冻干制备了壳聚糖/聚己内酯/明胶夹层状结构,该复合支架表现出良好的物理化学性质,如包括适当的孔隙率(<50%)、孔径(约10 μm),以及良好机械稳定性、溶胀性和亲水性。Chichiricco等<sup>[22]</sup>用硅烷化羟丙基甲基纤维素(silanized hydroxypropyl methylcellulose, Si-HPMC)和甲基丙烯酸羧甲基壳聚糖(methacrylated carboxymethyl chitosan, MA-CMCS)合成水凝胶膜,证实了这2种生物材料优异的物理化学和机械性能,如降解性、细胞相容性、细胞屏障特性。

为了进一步提高支架性能,还研究了多向支架技术,即通过每一层独特的结构引导牙周不同成分的再生<sup>[23]</sup>。Tamburaci等<sup>[24]</sup>利用冷冻干燥和静电纺丝技术制备了一种新型双层纳米复合膜,该膜上层为壳聚糖/纳米纤维组成的微孔层,充当屏障阻止上皮和成纤维细胞在缺陷部位迁移和生长,下层为壳聚糖和硅掺杂的纳米羟磷灰石颗粒(Si doped nanohydroxyapatite particles, Si-nHap)构成的多孔层,增加成骨细胞活性,促进骨形成。结果显示:微孔层平均纤维直径为107 nm,具有阻挡性能,而多孔层具有81%~85%的高孔隙率,孔径直径为177~191 μm,适合细胞增殖。除了良好

的机械性能外,该复合膜还具有抗菌活性。三层支架方面,通过中、低分子量壳聚糖的交联冷冻干燥,结合电化学沉积方法,Varoni等<sup>[25]</sup>合成了一种基于壳聚糖的三层多孔支架,具体来说,不同相对分子量壳聚糖的交联冷冻干燥后得到了2个用于骨和牙龈再生的多孔室,进一步通过电化学沉积合成直径约为450 μm的高取向微通道,从而驱动牙周纤维向牙根生长,通过不同孔径支架的构建使骨、牙龈、牙周膜三者的同时再生成为可能,该支架在鼠体内也显示出良好的生物相容性。类似的,Shah等<sup>[26]</sup>通过控制不同层次壳聚糖的浓度构建三层支架以实现不同功能。

总之,壳聚糖与其他聚合物生物材料或生物陶瓷结合时表现出更高的牙周再生潜力,通过构建壳聚糖基质,加入特定的生长因子,可以有效地促进牙周组织的再生和修复,特别是对于牙周袋形成的骨缺损有很好的治疗效果。进一步的,通过双层或三层多向支架的构建,牙周不同组织的同时再生成为可能<sup>[27]</sup>。值得注意的是,除了再生支架,应用于牙周再生的壳聚糖还可以制备成膜型、纳米颗粒型,各有其应用特点<sup>[28]</sup>。Hsu等<sup>[29]</sup>发现:在壳聚糖膜上培养人牙龈成纤维细胞(human gingival fibroblasts, HGF)可以增强其软骨分化潜能。Wang等<sup>[30]</sup>利用壳聚糖的正电荷与带负电荷的miRNA相吸引形成纳米级复合物的原理设计出壳聚糖/透明质酸/miRNA-21纳米颗粒涂层,可以促进HGF在光滑钛植入物表面黏附、增殖和胞外基质(extracellular matrix, ECM)产生,形成早期紧密的生物整合。

## 2 壳聚糖在牙周病治疗中的药物递送作用

药物递送方面,壳聚糖具有优异的生物相容性、生物降解性、抗菌活性、成膜能力和金属离子螯合能力,克服了传送药物递送载体疏水性、溶解度差、生物利用度低、药物聚集和缺乏选择性等问题<sup>[31]</sup>。壳聚糖中的各种官能团可以被修饰以促进药物装载,从而提供位点特异性药物递送,其独特的阳离子性质使得特定部位持续的药物释放成为可能,良好的生物相容性和降解性不仅提高了药物的药理学活性,更提高了治疗效率。

药物释放机制方面,壳聚糖支架主要通过4种不同的方式释放药物,即扩散、侵蚀、溶胀和基于刺激反应控制释放系统<sup>[32]</sup>(图2)。扩散即药物

通过渗透作用从药物递送系统中央到达周围介质中发挥作用。侵蚀是指载药支架从边缘区域开始降解,导致搭载药物的释放<sup>[33-34]</sup>。溶胀是指药物递送系统吸收体液中物质和水分后体积增加,药物释放动力学改变,进而溶解释放出药物<sup>[35-36]</sup>。值得注意的是刺激反应控制药物释放系统是基于一种环境敏感机制,可对生物刺激(如pH、氧化还原、酶、葡萄糖和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)或物理刺激(如温度、光、磁场、超声波和电)作出反应<sup>[37]</sup>。Zhao等<sup>[38]</sup>通过偶联羧甲基壳聚糖和无定形磷酸钙合成了复合纳米颗粒水凝胶,该颗粒的表面电荷是pH依赖性的,即pH变化可能影响颗粒相互作用,从而构建了一种pH响应支架。该水凝胶系统显著提高了骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)-9在体内诱导成骨的效率和成熟度,同时抑制骨吸收。

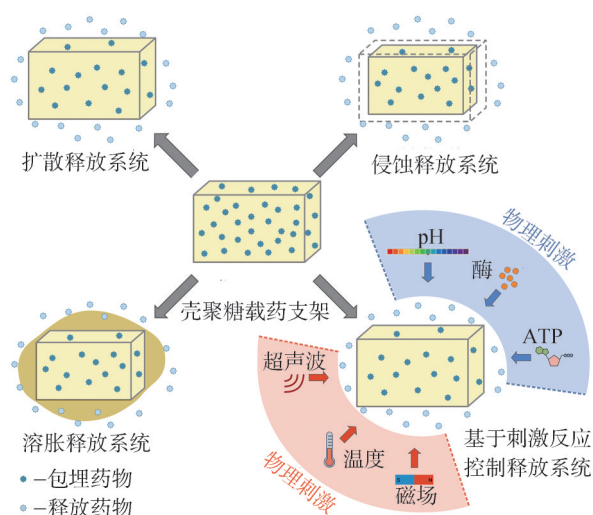


图 2 壳聚糖支架药物控制释放的机制

Fig 2 Mechanism of controlled drug release from chitosan scaffolds

壳聚糖药物递送系统的开发应用不仅提高药物疗效,还可以减少全身不良反应。靶向输送抗炎药有助于实现炎症和免疫反应的健康平衡,Özdoğan等<sup>[39]</sup>在牙周炎大鼠模型中评估了局部递送的含有壳聚糖的阿托伐他汀(质量分数为2%)制剂在治疗牙周炎中的效果,结果发现:阿托伐他汀给药后,与对照组相比,促炎[白细胞介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-6和IL-8]和抗炎[转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- $\beta$ 1和TGF- $\beta$ 2]细胞因子的释放减少,牙槽骨愈合显著,在壳聚糖存在下抗炎作用增强。再生方面,Chang等<sup>[40]</sup>用壳聚糖包裹辛伐他汀(simvastatin, SIM)

和多西环素(doxycycline, DOX),并递送至大鼠实验性牙周炎和大尺寸下颌骨缺损的部位,持续释放的SIM和DOX验证了该纳米球具有促进牙周再生和修复大面积骨缺损的潜力。Xu等<sup>[41]</sup>以壳聚糖、 $\beta$ -甘油磷酸钠( $\beta$ -sodium glycerophosphate,  $\beta$ -GP)和明胶为原料,制备了一种可注射的热敏性水凝胶。该凝胶可持续释放阿司匹林和促红细胞生成素(erythropoietin, EPO),二者分别发挥抗炎和组织再生的药理作用,体内体外实验也证实了该水凝胶生物相容性及抗炎的再生效果。

### 3 壳聚糖在牙周病治疗中的抗菌作用

牙周病涉及感染牙周病原体 and 宿主炎症反应的相互作用,导致组织破坏。壳聚糖对大多数革兰阴性菌和革兰阳性菌具有抗菌活性,除了作为递送抗菌药物的支架外,其本身也具有抗菌作用。

Arancibia等<sup>[42]</sup>在不同壳聚糖浓度(10  $\mu$ g/mL~10 mg/mL)下,通过分光光度法来测量悬浮液中的伴放线聚集杆菌和牙龈卟啉单胞菌2种细菌的浓度,并通过生长曲线绘制了评估壳聚糖颗粒对牙周病原体的抗菌活性,结果发现壳聚糖在5 mg/mL的浓度下能很好地抑制伴放线聚集杆菌和牙龈卟啉单胞菌的生长。通过对牙龈成纤维细胞细胞活力的测定,结果发现壳聚糖颗粒浓度为1 mg/mL时有较好的生物相容性,但需要进一步的研究来确定可以抑制细菌生长而不影响牙龈细胞的存活的最佳浓度。Divakar等<sup>[43]</sup>将壳聚糖与银纳米粒子结合,测试了其作为钛牙种植体未来涂层材料的功效,结果发现银壳聚糖纳米颗粒对2种主要牙科病原体变异链球菌和牙龈卟啉单胞菌的生长具有良好的抑制作用,它不仅抑制这2种测试细菌的黏附,而且能够减少生物膜的形成。此外,研究团队使用MTT比色法分析评估纳米颗粒处理后的牙龈成纤维细胞的细胞活力,证实了该材料具有良好的生物相容性研究。Zupančič等<sup>[44]</sup>成功地开发了一种由壳聚糖/聚氧化乙烯纳米纤维层和聚己内酯纳米纤维层组成的双层纳米纤维垫,基于平板抗菌谱分析,所开发的双层纳米纤维垫显示出对大肠杆菌和伴放线聚集杆菌的抗菌活性。Peng等<sup>[45]</sup>开发了一个类似口腔牙周袋的体外3D牙龈模型,以培养金黄色葡萄球菌、伴放线聚集杆菌和牙龈卟啉单胞菌形成生物膜,制备了壳聚糖水凝胶并评估了其于光动力灭活技术联合应用的抗菌效果,

结果表明：壳聚糖凝胶不仅增强了光动力疗法的灭菌效果，在未应用光动力技术时壳聚糖本身也具有抗菌能力。这些研究表明，壳聚糖作为一种天然抗菌剂，对口腔感染中多种细菌具有很好的抗菌活性。

关于抗菌机制目前尚未完全阐明，但许多科学家已经提出了2种核心观点。一种观点认为壳聚糖含有许多带正电荷的氨基，这些氨基与细菌细胞膜表面带负电荷的脂质、蛋白质和多糖相互作用，可能导致在细胞周围形成不透水层，阻止了营养物质等的运输并破坏细菌细胞结构。这一观点在几项研究中得到了证实：增加壳聚糖上以 $-NH_3^+$ 形式存在的正电荷数量（脱乙酰化），可增加壳聚糖的抗菌活性<sup>[46-47]</sup>；而减少鼠伤寒沙门氏菌细胞壁上的阴离子数量可降低壳聚糖的抗菌活性<sup>[48]</sup>。另一种观点认为，低相对分子质量壳聚糖可以穿透细胞，改变DNA的构象，抑制细菌RNA和蛋白质的合成<sup>[49-50]</sup>。

#### 4 壳聚糖在牙周病治疗中的抗炎和促进血管生成作用

牙周病在发生发展过程中，宿主对细菌损伤的免疫炎症反应发挥重要作用，抑制牙周炎症和调节免疫反应可以改善牙周病变。壳聚糖除了可以搭载抗炎药物缓解疾病进展外，其本身也具有抗炎作用。主要机制有以下2点：一方面，壳聚糖可以促进抗炎相关细胞因子如IL-10的合成，抑制炎症因子如肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor, TNF）- $\alpha$ 的合成；另一方面，其可以促进巨噬细胞从M1型向M2型的分化。具体来说，M1型巨噬细胞是一种“经典”活化状态的巨噬细胞，通过释放促炎因子来引发免疫反应和组织炎症。M2型巨噬细胞是一种“替代”活化状态的巨噬细胞，主要通过产生抗炎因子来抑制炎症反应，在修复和再生过程中起关键作用，能够清除细胞残骸、促进血管生成和组织修复，并抑制炎症反应的持续进程。M1型巨噬细胞向M2型巨噬细胞的转化对于炎症过程的正常进行和恢复至关重要<sup>[51-52]</sup>。

Davydova等<sup>[53]</sup>对比了低分子量壳聚糖和高分子量壳聚糖在小鼠体内的抗炎作用，结果表明：高分子和低分子壳聚糖刺激小鼠血清中抗炎细胞因子IL-10的合成，此外，高分子壳聚糖在体外抑制内毒素诱导的TNF- $\alpha$ 的合成。Cosco等<sup>[13]</sup>采用喷

雾干燥技术将芦丁微胶囊化在壳聚糖基质中，通过测定IL-1 $\beta$ 和IL-6的水平，研究了载芦丁壳聚糖微球细菌脂多糖处理的人角质形成细胞和人软骨细胞体外模型中的抗炎活性，结果表明：与游离芦丁相比，负载芦丁的壳聚糖微球显示出更高的体外抗炎活性。Ji等<sup>[54]</sup>通过体外实验评价壳聚糖和季铵化壳聚糖对脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）刺激的人牙周膜细胞中IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 的调节作用，酶联免疫吸附实验表明：壳聚糖在24、48和72 h均能抑制IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 的产生。除了相关炎症因子外，促炎巨噬细胞与抗炎巨噬细胞的比例增高是牙周炎加重的原因之一。骨髓干细胞衍生的外泌体可以调节牙周组织中巨噬细胞表型。Shen等<sup>[55]</sup>的研究发现：骨髓干细胞衍生的外泌体掺入的壳聚糖水凝胶可以更好的增加抗炎巨噬细胞的比例，抑制牙周炎小鼠牙周组织的炎症反应，加速牙周炎小鼠牙槽骨和牙周上皮的愈合。

血管生成是许多组织和器官修复以及再生的最重要过程之一，其在牙周病等疾病后的牙齿组织修复中也起着重要作用。新形成的血管参与临时肉芽组织的形成，氧气、营养物质、各种生长因子得以运输到受损组织以促进其愈合<sup>[56]</sup>。血管再生是一个复杂的过程，不仅需要各种细胞因子（血管内皮生长因子、血管生成素、成纤维细胞生长因子和转化生长因子 $\beta$ ）的协同作用，还需要细胞外基质通过提供支架支持和发送信号来调节血管生成<sup>[57]</sup>。而壳聚糖作为一种天然存在的生物活性材料不仅可以作为支架促进血管生成，其本身也具有促进血管生成的能力。Divband等<sup>[58]</sup>用制备了负载碱性成纤维细胞生长因子的壳聚糖支架，研究其对人牙髓干细胞血管生成诱导的影响，通过实时聚合酶链反应（polymerase chain reaction, PCR）和Western印迹分析在基因和蛋白质水平上血管生成标记物的量，结果表明：该支架具有促进人牙髓干细胞血管生成的潜力。Malik等<sup>[59]</sup>用壳聚糖负载不同浓度甲状腺素（0.1、0.5和1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）合成水凝胶，在鸡绒毛膜尿囊膜中测试水凝胶的血管生成潜力，结果表明：含有0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 甲状腺素的壳聚糖水凝胶显示出最大的血管生成能力。此外，壳聚糖搭载NO、血管内皮生长因子、胶原肽等也可以加速创伤愈合、促进血管再生<sup>[60-65]</sup>。然而也有研究报道出矛盾的结果，如Jiang等<sup>[66]</sup>通过体外和体内实验评估了壳聚糖的抗肿瘤血管生成作用，证据不支持其具有相关作用。

## 5 小结

壳聚糖作为天然多糖中迄今为止发现的唯一的碱性多糖,具有生物相容性、生物可降解性、抑菌抗炎、GTR等多种生理功能,在生物医疗领域逐渐受到重视,含有壳聚糖活性成分的漱口水、牙膏等口腔保健产品也逐渐进入人们的生活,归根到底得益于其优异的生物学性能。壳聚糖作为药物递送系统的局部给药方式不仅降低全身不良反应和过量给药的风险,而且使药物以最佳浓度在整个愈合期间有效和可持续地到达靶位点,多向支架的构建让“牙周再生”这一牙周治疗目标的实现成为可能,其对多种口腔细菌的抑制作用使其有望成为有效的抗菌材料。

壳聚糖在治疗牙周病方面潜力巨大,而口腔健康状况与全身健康状况密切相关。大量研究<sup>[67]</sup>表明:牙周病与不良妊娠结局、心血管疾病、中风、肺部疾病和糖尿病有关,而这些疾病又会进一步使得牙周状况恶化。Liu等<sup>[68]</sup>制备了一种负载甲硝唑葡萄糖敏感性水凝胶膜,通过紫外线照射赋予壳聚糖支架葡萄糖敏感性。在高葡萄糖浓度下,壳聚糖水凝胶通过对自身微孔结构的调节,得以释放更多的甲硝唑,从而提高高葡萄糖浓度下对牙龈卟啉单胞菌的抗菌活性,这为糖尿病患者的牙周病临床治疗提供了一种新的方法。此外,不少研究发现壳聚糖水凝胶敷料在糖尿病慢性伤口管理中显示出巨大的潜力<sup>[69-70]</sup>。

尽管壳聚糖在生物医疗领域表现出巨大的潜力,仍有很多问题值得进一步探究解决。如壳聚糖作为再生支架的机械性能有待提高,在药物递送系统中生物活性分子释放机制和控制机制尚不清楚。抗菌方面,壳聚糖在不同浓度下的抗菌效果、对不同菌种的抗菌作用、在体内的降解分布过程等问题都可能会影响其在牙周治疗中的应用效果。壳聚糖促进血管生成的作用也有矛盾的研究结果被报道,可能与壳聚糖作用的组织微环境有关。此外,稳定性方面,口腔环境复杂多变,酶、pH值、温度等都会影响壳聚糖在口腔环境中的稳定性。壳聚糖与口腔微生态之间相互影响,不仅口腔环境影响壳聚糖的治疗效果和生物活性,壳聚糖本身可能会影响口腔微生物的生长和代谢,但这种影响的具体机制尚不清楚。虽然壳聚糖本身具有良好的生物相容性,但其降解产物的影响

有待进一步研究。壳聚糖在牙周治疗中的应用方式和使用剂量、基于壳聚糖支架的最佳的药物装载方式和药物释放曲线、不同相对分子质量壳聚糖的抗菌机制及如何发挥最大抗菌性能等问题都有待进一步探讨解决。

综上所述,牙周组织具有十分精密的结构,其再生受众多生物事件调控,通过对壳聚糖精准化学改性、物理改性、酶法改性等方式可以进一步改善其性能,以将基于壳聚糖治疗牙周病的理念转化为安全、有效的临床实践。

利益冲突声明:作者声明本文无利益冲突。

## 6 参考文献

- [1] Darveau RP. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8(7): 481-490.
- [2] Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2017, 3: 17038.
- [3] Trindade D, Carvalho R, Machado V, et al. Prevalence of periodontitis in dentate people between 2011 and 2020: a systematic review and meta-analysis of epidemiological studies[J]. *J Clin Periodontol*, 2023, 50(5): 604-626.
- [4] Larsson L, Decker AM, Nibali L, et al. Regenerative medicine for periodontal and peri-implant diseases[J]. *J Dent Res*, 2016, 95(3): 255-266.
- [5] Kou SG, Peters LM, Mucalo MR. Chitosan: a review of sources and preparation methods[J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 169: 85-94.
- [6] Lagarto A, Merino N, Valdes O, et al. Safety evaluation of chitosan and chitosan acid salts from *Panurillus Argus* lobster[J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72: 1343-1350.
- [7] Fakhri E, Eslami H, Maroufi P, et al. Chitosan biomaterials application in dentistry[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 162: 956-974.
- [8] Aguilar A, Zein N, Harmouch E, et al. Application of chitosan in bone and dental engineering[J]. *Molecules*, 2019, 24(16): 3009.
- [9] Baskar D, Balu R, Sampath Kumar TS. Mineralization of pristine chitosan film through biomimetic process[J]. *Int J Biol Macromol*, 2011, 49(3): 385-

- 389.
- [10] Gao HY, Wu N, Wang NN, et al. Chitosan-based therapeutic systems and their potentials in treatment of oral diseases[J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 222 (Pt B): 3178-3194.
- [11] Zhang YF, Dou XY, Zhang LY, et al. Facile fabrication of a biocompatible composite gel with sustained release of aspirin for bone regeneration[J]. *Bioact Mater*, 2022, 11: 130-139.
- [12] Sacco P, Furlani F, de Marzo G, et al. Concepts for developing physical gels of chitosan and of chitosan derivatives[J]. *Gels*, 2018, 4(3): 67.
- [13] Cosco D, Failla P, Costa N, et al. Rutin-loaded chitosan microspheres: characterization and evaluation of the anti-inflammatory activity[J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 152: 583-591.
- [14] Rezaei FS, Sharifianjazi F, Esmailkhanian A, et al. Chitosan films and scaffolds for regenerative medicine applications: a review[J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 273: 118631.
- [15] Vaquette C, Pilipchuk SP, Bartold PM, et al. Tissue engineered constructs for periodontal regeneration: current status and future perspectives[J]. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7(21): e1800457.
- [16] Liang YX, Luan XH, Liu XH. Recent advances in periodontal regeneration: a biomaterial perspective [J]. *Bioact Mater*, 2020, 5(2): 297-308.
- [17] Woo HN, Cho YJ, Tarafder S, et al. The recent advances in scaffolds for integrated periodontal regeneration[J]. *Bioact Mater*, 2021, 6(10): 3328-3342.
- [18] Islam MM, Shahruzzaman M, Biswas S, et al. Chitosan based bioactive materials in tissue engineering applications—a review[J]. *Bioact Mater*, 2020, 5(1): 164-183.
- [19] Niu XL, Wang LF, Xu MJ, et al. Electrospun polyamide-6/chitosan nanofibers reinforced nano-hydroxyapatite/polyamide-6 composite bilayered membranes for guided bone regeneration[J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 260: 117769.
- [20] Abdelaziz D, Hefnawy A, Al-Wakeel E, et al. New biodegradable nanoparticles-in-nanofibers based membranes for guided periodontal tissue and bone regeneration with enhanced antibacterial activity[J]. *J Adv Res*, 2021, 28: 51-62.
- [21] Zhang L, Dong YS, Zhang N, et al. Potentials of sandwich-like chitosan/polycaprolactone/gelatin scaffolds for guided tissue regeneration membrane[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, 109: 110618.
- [22] Chichiricco PM, Riva R, Thomassin JM, et al. *In situ* photochemical crosslinking of hydrogel membrane for Guided Tissue Regeneration[J]. *Dent Mater*, 2018, 34(12): 1769-1782.
- [23] Bottino MC, Thomas V, Janowski GM. A novel spatially designed and functionally graded electrospun membrane for periodontal regeneration[J]. *Acta Biomater*, 2011, 7(1): 216-224.
- [24] Tamburaci S, Tihminlioglu F. Development of Si doped nano hydroxyapatite reinforced bilayer chitosan nanocomposite barrier membranes for guided bone regeneration[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 128: 112298.
- [25] Varoni EM, Vijayakumar S, Canciani E, et al. Chitosan-based trilayer scaffold for multitissue periodontal regeneration[J]. *J Dent Res*, 2018, 97(3): 303-311.
- [26] Shah AT, Zahid S, Ikram F, et al. Tri-layered functionally graded membrane for potential application in periodontal regeneration[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019, 103: 109812.
- [27] Lauritano D, Limongelli L, Moreo G, et al. Nanomaterials for periodontal tissue engineering: chitosan-based scaffolds. A systematic review[J]. *Nanomaterials*, 2020, 10(4): 605.
- [28] Kim Y, Zharkinbekov Z, Raziyeva K, et al. Chitosan-based biomaterials for tissue regeneration[J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(3): 807.
- [29] Hsu SH, Huang GS, Lin SY, et al. Enhanced chondrogenic differentiation potential of human gingival fibroblasts by spheroid formation on chitosan membranes[J]. *Tissue Eng Part A*, 2012, 18(1/2): 67-79.
- [30] Wang ZS, Wu GS, Yang ZJ, et al. Chitosan/hyaluronic acid/MicroRNA-21 nanoparticle-coated smooth titanium surfaces promote the functionality of human gingival fibroblasts[J]. *Int J Nanomedicine*, 2022, 17: 3793-3807.
- [31] de Sousa Victor R, Marcelo da Cunha Santos A, Viana de Sousa B, et al. A review on chitosan's uses as

- biomaterial: tissue engineering, drug delivery systems and cancer treatment[J]. *Materials*, 2020, 13(21): 4995.
- [32] Bharathi R, Ganesh SS, Harini G, et al. Chitosan-based scaffolds as drug delivery systems in bone tissue engineering[J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 222(Pt A): 132-153.
- [33] Gentile P, Nandagiri VK, Daly J, et al. Localised controlled release of simvastatin from porous chitosan-gelatin scaffolds engrafted with simvastatin loaded PLGA-microparticles for bone tissue engineering application[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2016, 59: 249-257.
- [34] Gull N, Khan SM, Zahid Butt MT, et al. *In vitro* study of chitosan-based multi-responsive hydrogels as drug release vehicles: a preclinical study[J]. *RSC Adv*, 2019, 9(53): 31078-31091.
- [35] Fonseca-Santos B, Chorilli M. An overview of carboxymethyl derivatives of chitosan: their use as biomaterials and drug delivery systems[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 77: 1349-1362.
- [36] Saber-Samandari S, Saber-Samandari S. Biocompatible nanocomposite scaffolds based on copolymer-grafted chitosan for bone tissue engineering with drug delivery capability[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 75: 721-732.
- [37] Song YH, Li YH, Xu QE, et al. Mesoporous silica nanoparticles for stimuli-responsive controlled drug delivery: advances, challenges, and outlook[J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 87-110.
- [38] Zhao C, Qazvini NT, Sadati M, et al. A pH-triggered, self-assembled, and bioprintable hybrid hydrogel scaffold for mesenchymal stem cell based bone tissue engineering[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(9): 8749-8762.
- [39] Özdoğan AI, İlarıslan YD, Kösemehmetoğlu K, et al. *In vivo* evaluation of chitosan based local delivery systems for atorvastatin in treatment of periodontitis [J]. *Int J Pharm*, 2018, 550(1/2): 470-476.
- [40] Chang PC, Tai WC, Luo HT, et al. Core-shell poly(D, l-lactide-co-glycolide)-chitosan nanospheres with simvastatin-doxycycline for periodontal and osseous repair[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 158: 627-635.
- [41] Xu XW, Gu ZY, Chen X, et al. An injectable and thermosensitive hydrogel: promoting periodontal regeneration by controlled-release of aspirin and erythropoietin[J]. *Acta Biomater*, 2019, 86: 235-246.
- [42] Arancibia R, Maturana C, Silva D, et al. Effects of chitosan particles in periodontal pathogens and gingival fibroblasts[J]. *J Dent Res*, 2013, 92(8): 740-745.
- [43] Divakar DD, Jastaniyah NT, Altamimi HG, et al. Enhanced antimicrobial activity of naturally derived bioactive molecule chitosan conjugated silver nanoparticle against dental implant pathogens[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 108: 790-797.
- [44] Zupančič Š, Casula L, Rijavec T, et al. Sustained release of antimicrobials from double-layer nanofiber mats for local treatment of periodontal disease, evaluated using a new micro flow-through apparatus[J]. *J Control Release*, 2019, 316: 223-235.
- [45] Peng PC, Hsieh CM, Chen CP, et al. Assessment of photodynamic inactivation against periodontal bacteria mediated by a chitosan hydrogel in a 3D gingival model[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(11): 1821.
- [46] Liu XF, Guan YL, Yang DZ, et al. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan[J]. *J Appl Polym Sci*, 2001, 79(7): 1324-1335.
- [47] Pyo-Jam P, Je JY, Byun HG, et al. Antimicrobial activity of hetero-chitosans and their oligosaccharides with different molecular weights[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2004, 14(2): 317-323.
- [48] Helander IM, Nurmiaho-Lassila EL, Ahvenainen R, et al. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria[J]. *Int J Food Microbiol*, 2001, 71(2/3): 235-244.
- [49] Sun ZM, Shi CG, Wang XY, et al. Synthesis, characterization, and antimicrobial activities of sulfonated chitosan[J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 155: 321-328.
- [50] Benhabiles MS, Salah R, Lounici H, et al. Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers prepared from shrimp shell waste[J]. *Food Hydrocoll*, 2012, 29(1): 48-56.
- [51] Ouyang LP, Chen BH, Liu XD, et al. Puerarin@Chitosan composite for infected bone repair through mimicking the bio-functions of antimicrobial peptides[J]. *Bioact Mater*, 2023, 21: 520-530.

- [52] Vasconcelos DP, Fonseca AC, Costa M, et al. Macrophage polarization following chitosan implantation[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(38): 9952-9959.
- [53] Davydova VN, Kalitnik AA, Markov PA, et al. Cytokine-inducing and anti-inflammatory activity of chitosan and its low-molecular derivative[J]. *Prikl Biokhim Mikrobiol*, 2016, 52(5): 460-466.
- [54] Ji QX, Deng J, Yu XB, et al. Modulation of pro-inflammatory mediators in LPS-stimulated human periodontal ligament cells by chitosan and quaternized chitosan[J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 92(1): 824-829.
- [55] Shen ZS, Kuang SH, Zhang Y, et al. Chitosan hydrogel incorporated with dental pulp stem cell-derived exosomes alleviates periodontitis in mice via a macrophage-dependent mechanism[J]. *Bioact Mater*, 2020, 5(4): 1113-1126.
- [56] Baru O, Nutu A, Braicu C, et al. Angiogenesis in regenerative dentistry: are we far enough for therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 929.
- [57] Li JE, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix[J]. *Microscopy Res Technique*, 2003, 60(1): 107-114.
- [58] Divband B, Pouya B, Hassanpour M, et al. Towards induction of angiogenesis in dental pulp stem cells using chitosan-based hydrogels releasing basic fibroblast growth factor[J]. *Biomed Res Int*, 2022, 2022: 5401461.
- [59] Malik MH, Shahzadi L, Batool R, et al. Thyroxine-loaded chitosan/carboxymethyl cellulose/hydroxyapatite hydrogels enhance angiogenesis in *in-ovo* experiments[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 145: 1162-1170.
- [60] Ojeda JE, Cardenas G, Klassen R, et al. Nitric oxide synthase activity and angiogenesis measured by expression of CD34 in burns treated with chitosan films[J]. *Wounds*, 2011, 23(5): 135-143.
- [61] Zahid AA, Ahmed R, Raza Ur Rehman S, et al. Nitric oxide releasing chitosan-poly (vinyl alcohol) hydrogel promotes angiogenesis in chick embryo model[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 136: 901-910.
- [62] Yu YM, Chen R, Sun Y, et al. Manipulation of VEGF-induced angiogenesis by 2-N, 6-O-sulfated chitosan[J]. *Acta Biomater*, 2018, 71: 510-521.
- [63] Mohandas A, Anisha BS, Chennazhi KP, et al. Chitosan-hyaluronic acid/VEGF loaded fibrin nanoparticles composite sponges for enhancing angiogenesis in wounds[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2015, 127: 105-113.
- [64] Soriente A, Amodio SP, Fasolino I, et al. Chitosan/PEGDA based scaffolds as bioinspired materials to control *in vitro* angiogenesis[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 118: 111420.
- [65] Deng C, Zhang PC, Vulesevic B, et al. A collagen-chitosan hydrogel for endothelial differentiation and angiogenesis[J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(10): 3099-3109.
- [66] Jiang ZW, Han BQ, Li H, et al. Carboxymethyl chitosan represses tumor angiogenesis *in vitro* and *in vivo*[J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 129: 1-8.
- [67] Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases[J]. *Lancet*, 2005, 366(9499): 1809-1820.
- [68] Liu JY, Xiao Y, Wang XY, et al. Glucose-sensitive delivery of metronidazole by using a photo-cross-linked chitosan hydrogel film to inhibit *Porphyromonas gingivalis* proliferation[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 122: 19-28.
- [69] Hao YP, Zhao WW, Zhang H, et al. Carboxymethyl chitosan-based hydrogels containing fibroblast growth factors for triggering diabetic wound healing[J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 287: 119336.
- [70] Khaliq T, Sohail M, Minhas MU, et al. Self-cross-linked chitosan/ $\kappa$ -carrageenan-based biomimetic membranes to combat diabetic burn wound infections [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 197: 157-168.

(本文编辑 王姝)