

支架材料在牙骨质再生领域的研究进展*

左临静 倪世磊 闫阔 李毅**

吉林大学口腔医院, 长春 130021

[摘要] 牙骨质是建立牙周组织与牙体组织联系的重要枢纽, 维持牙根部位稳定。牙骨质再生是牙周组织功能性再生的前提, 是组织工程牙再生的重要研究内容。牙周病是中老年人最常见的口腔疾病之一, 严重的牙周病可能影响患者全身的健康状况。功能性牙周组织再生对于提高老年人健康水平以及生活质量非常重要。由于缺乏理想的组织工程再生支架材料和方法, 牙骨质再生一直是牙周组织再生的热点与难点。本文对牙骨质组织工程再生材料的研究现状进行综述, 并分析当下再生材料面临的挑战, 旨在为支架材料的开发研究提供参考。

[关键词] 牙骨质; 再生; 支架材料; 组织工程

doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2024.05.020

Advancements in Scaffold Materials for Cementum Regeneration

Zuo Linjing, Ni Shilei, Yan Kuo, Li Yi**

Hospital of Stomatology, Jilin University, Changchun 130021

** Corresponding author: Li Yi, email: lyi99@jlu.edu.cn

[Abstract] Cementum plays a crucial role in linking periodontal and dental tissues and maintaining tooth root stability. Regenerating cementum is essential for functional periodontal tissue regeneration. It is a significant focus in tissue engineering. Periodontal disease, prevalent among the middle-aged and elderly, can severely impact overall health. Effective periodontal tissue regeneration is vital for enhancing the elderly's health and quality of life. Despite the progress, the lack of ideal scaffold materials and methods makes cementum regeneration a persistent challenge. This review discusses the current state of cementum tissue engineering materials and addresses existing challenges, providing a foundation for future scaffold material development.

[Key words] Cementum; Regeneration; Scaffold material; Tissue engineering

牙周病是中老年人最常见的口腔疾病之一, 不仅影响言语功能、美观等, 严重的牙周病导致牙齿脱落会对患者饮食和营养摄入产生不利影响, 从而累及全身健康^[1]。功能性牙周组织再生对于提高老年人健康水平以及生活质量非常重要。牙骨质结构成分与骨相似, 位于牙周膜与牙根之间, 通过牙周膜将牙齿附着于牙槽骨, 稳定牙根, 是牙周组织的重要组成部分。近年来, 随着组织工程牙及牙周组织再生研究的不断进展, 牙骨质再生成为牙周组织再生研究的热点和难点。各种生物材料被用于牙骨质再生研究。了解不同结构与构成的支架材料在牙骨质再生中的生物学作用, 对于促进功能性牙再生具有重要意义。本文对组织工程牙骨质再生研究的支架材料进行综述, 以期为推动其在组织工程牙骨质再生领域的应用提供参考。

1 牙骨质的发生发育

1.1 牙骨质的发生

关于牙骨质的形成目前尚无明确结论。一种

主流学说认为, 内釉上皮与外釉上皮形成的上皮根鞘与牙骨质发生密切相关^[2]。上皮根鞘内含有牙骨质附着蛋白等多种蛋白, 在募集前成牙骨质细胞向牙本质表面迁移和促进成牙骨质细胞分化中发挥重要作用。钟状期时上皮根鞘断裂呈网状, 牙囊中的细胞穿过断裂的上皮根鞘到达牙根部新形成的牙本质表面, 分化为成牙骨质细胞, 形成牙骨质。另一种学说认为, 上皮根鞘最终经历上皮-间充质转化参与牙骨质的形成^[3]。

1.2 牙骨质的结构与功能

根据组织中是否有细胞, 牙骨质可分为细胞牙骨质和无细胞牙骨质^[4]。无细胞牙骨质内有一种称为 Sharpey 纤维的外源性纤维, 该纤维平行排列, 自牙周膜垂直插入牙骨质中, 使牙周膜得以锚定在牙根表面^[5-6]。牙骨质的特殊质地与形态为 Sharpey 纤维垂直插入和锚定提供了有利条件, 从而使无细胞牙骨质成为悬挂固定牙齿的重要功能性结构^[7]。对保护牙本质免受外部刺激、建立牢固和稳定的牙与牙槽骨连接发挥重要作用^[8]。细胞牙

* 吉林省财政厅科技项目 (jcsz2021893-14)

** 通讯作者: 李毅, 电子邮箱 lyi99@jlu.edu.cn

骨质主要起适应性作用, 对牙的磨损、移动作出反应, 也与牙及牙周组织的修复有关^[9]。随着年龄的增长, 牙骨质会逐渐变薄, 老年人的牙骨质更容易发生钙化, 进而引发牙周病等问题。这些疾病又会反过来加速牙骨质的破坏, 形成恶性循环。因此, 对于老年人来说, 维护牙骨质健康至关重要。

2 牙骨质再生支架材料

对于老年口腔疾病患者, 牙骨质再生组织工程是一个新兴的治疗方法, 该方法显示出了巨大的牙周组织再生潜力, 是一种有前途的再生策略^[10]。牙骨质再生的组织工程是采用种子细胞结合细胞因子和支架材料对牙骨质进行再生, 对细胞因子和支架材料的选择有较高要求且再生过程复杂。支架材料旨在模仿自然牙骨质的结构和功能, 以促进牙骨质的再生和修复。理想的支架材料应不仅能促进牙骨质的形成, 同时能重建牙周膜与牙骨质的关系, 进而形成具有生理功能的牙骨质结构。目前, 常见的用于组织工程牙骨质再生支架的材料包括天然材料、人工合成材料和复合材料。

2.1 天然材料

天然材料大多具有优异的生物相容性, 毒性较小, 较少引起炎症反应或免疫反应^[11]。常用胶原和壳聚糖 (Chitosan, CS), 两者均具有良好的生物相容性、毒性小、能够促进组织愈合等优点。以比格犬磨牙为实验对象, 制备了标准化的实验性开裂缺损, 并在缺损表面以胶原基质为支架和传递系统培养牙周膜干细胞, 这一体系在体内良好地促进了牙骨质形成^[12]。但由于胶原机械强度低且降解速度快, 所以单纯胶原作为支架材料时, 较难制备长期稳定的功能性微观结构, 限制其应用。将氧化石墨烯分散体包覆三维胶原海绵支架表面制备氧化石墨烯支架, 这种支架不仅具有良好的生物相容性, 同时体内研究发现, 该材料能显著促进犬 II 类分叉缺损处牙骨质样组织的形成^[13]。CS 因其良好的生物相容性、生物降解性、非免疫原性而被用于牙骨质再生^[14]。复合 CS 纳米颗粒的聚乳酸纳米纤维亲水性提高、力学性能增强^[15]。此外, CS 的抗菌特性使其在组织工程牙骨质再生研究中显现出突出优势。将 CS 与羟基磷灰石 (Hydroxyapatite, HA) 结合制成复合支架, 发现 CS 的存在使该支架能够抑制牙周病原体的生长, 进而为牙周组织的再生提供有利环境^[16]。

处理过的牙本质基质 (Treated dentin matrix, TDM) 是一种来源于动物牙齿的脱矿牙本质, 不仅能诱导骨形成, 同时可为咀嚼力提供支持, 还能够模拟临床牙本质暴露的情境。在狗的牙髓腔底分叉穿孔实验中, 可以看到 TDM 表面形成了具有细胞的、连续的牙骨质^[17]。将牙槽窝微环境与 TDM 相结合, 是非常适合牙根再生的诱导环境,

同时 TDM 又能作为组织再生的良好支架。另外, 此研究中的人工钻孔可能已经穿透了牙周膜和骨组织, 支架周围的骨组织环境可能更有利于促进细胞成骨向诱导, 提示在未来的研究中, 可根据再生目的组织的不同将支架应用于各种环境。另一利用 TDM 进行体内牙根再生的研究发现, TDM 能促进其周围牙骨质样组织的形成, 这些组织不仅结构类似天然牙骨质, 同时还能表达牙骨质标志物牙骨质衍生的附着蛋白^[18]。表明 TDM 作为一种天然牙来源的支架材料可能在牙骨质再生中具有明显优势。

2.2 人工合成材料

用于组织工程的人工合成材料往往具有生物相容性好, 允许大规模生产, 理化性质可调和生物降解率可控等优点, 可根据不同的需求, 合成性质不同的产物。常用的有机合成材料包括聚乳酸、聚乳酸-羟基乙酸共聚物 [Poly (lactic-co-glycolic acid), PLGA]、聚己内酯 (Polycaprolactone, PCL)、聚乙醇酸等; 无机合成材料有生物陶瓷 (HA、磷酸三钙、生物活性玻璃等)、磷酸钙水泥、金属材料等。

一类常用的合成材料是可降解的聚合物, 随着时间的推移, 这些聚合物可以被身体自然降解并被新骨替代。PLGA 由乳酸和羟基乙酸聚合而成, 无毒副作用的同时, 降解速度可控, 成膜性能良好, 是被大量组织工程研究证明的具有良好生物学性能的载体和支架材料。体内研究表明, 利用血管生成小分子二甲基乙二酰氨基乙酸开发的用于牙周组织再生的二甲基乙二酰氨基乙酸/纳米硅酸盐-PLGA 纤维膜, 可诱导血管生成和成骨, 再生了牙骨质-牙周膜-骨复合物^[19]。然而 PLGA 降解速度较快, 而硬组织工程中缺损在完全再生之前仍需要机械支持, 所以降解时间较 PLGA 长的 PCL 更适合作为硬组织再生的支架材料。对含有辛伐他汀 (Simvastatin, SIM) 的 PCL 膜支架进行了电纺和表征发现, PCL-SIM 膜支架通过持续的药物释放促进了牙骨质样组织的形成^[20]。将一种富含甲基转移酶抑制剂的聚多巴胺和胶原涂层电纺的 PLGA-PCL 支架, 应用在实验性牙周炎模型时发现, 形成了高度有序的牙骨质层, 且有生理结缔组织附着的 Sharpey 纤维插入其中, 纤维平行定向排列^[21]。

生物陶瓷类材料具有与牙骨质相似的成分和结构, 能够与周围的骨骼形成紧密结合, 可以作为牙骨质的支架, 引导新骨的生长和发育。HA 是组织工程应用研究相当成熟的人工合成无机材料, 是天然牙骨质的主要无机成分^[22]。其生物相容性好、化学性质稳定, 而且具有结构稳定性和骨传导性, 在组织工程中被广泛应用。将 HA 支架与不同细胞结合, 模拟人牙本质-牙髓-釉质复合物, 从而构建了钟状晚期未成熟牙齿模型, 再生出牙骨

质等典型牙体组织^[23]。此研究使用新型混合支架显示的生物学优势表明, 根据牙齿解剖结构模拟牙齿的钟状晚期, 同时利用与天然组织性质相近的材料来进行支架设计, 对硬组织工程体外研究有所帮助。生物活性玻璃因具有良好的力学性能和成骨性能而广泛用于牙周组织再生。使用溶胶-凝胶技术合成的一类新型含镁硅酸盐玻璃并用于牙周组织再生的研究结果发现, 含 10% MgO 和 60% SiO₂ 的玻璃在高温烧结后具有较高的硬度且能在体内促进 HA 形成, 在体内牙周组织再生研究中展示出良好的促牙骨质和牙槽骨再生能力^[24]。但是生物活性玻璃存在降解性差、脆性较大等缺点。

2.3 复合材料

复合材料是指由两种或两种以上理化性质不同的材料组合而形成的新材料。复合材料是较为理想的用于牙骨质再生的组织工程载体, 能够发挥不同材料的优势, 优于单一材料的性能。

合成的 HA 纳米颗粒 (Hydroxyapatite nanoparticles, HANPs) 由于脆性和强度均较低而被限于非应力承载的骨再生, 将电纺纳米纤维与 HANPs 结合可以获得两者的优势。复合纳米纤维负载 HANPs 和 SIM 可促进成骨细胞的生长、增殖和黏附, 添加 HANPs 为后期成骨分化和生物矿化提供了适宜的环境, 而复合纤维控制 SIM 释放则支持前成骨细胞的初始附着和增殖, 是良好的组织再生和药物递送支架^[25]。这启发我们可以将此种材料与具有成牙骨质能力的细胞或牙骨质相关蛋白相结合, 探究其在成牙骨质方面的应用。为探究 PCL、I 型胶原, 和负载了牙骨质蛋白 1 (Cementum protein 1, CEMPI) 的无定形磷酸钙组成的电纺多相支架对人牙周膜细胞附着、增殖及促成骨和牙骨质分化的影响, 在体外实验中, 该多相支架上调了种子细胞牙骨质附着蛋白和 CEMPI 的表达, 将支架原位植入大鼠颅骨缺损后观察到, 局部有明显的牙骨质样组织形成^[26]。支架材料微观结构的设计决定了材料的载药、缓释、降解等生物学性能。体内实验发现, 负载重组人釉原蛋白的介孔 HA + CS 复合支架能促进牙骨质样组织的形成, 并具有一定抗菌性能^[16]。与单独使用 CS 支架相比, 以 CS 为基础的支架与其他材料联合使用具有更高的牙周再生潜力^[27]。

水凝胶具有良好的可调控力学性能, 在牙及牙周组织再生研究中是常用的支架材料。但天然水凝胶不够稳定, 合成水凝胶生物相容性差, 无法满足具有复杂结构的牙周组织的再生。有研究制造了一种与牙骨质、牙周膜、牙槽骨分别对应的, 由甲壳素-PLGA/纳米生物活性玻璃陶瓷 (Nanobioactive glass ceramic, nBGC) /CEMPI、甲壳素-PLGA/成纤维细胞生长因子 2、甲壳素-PLGA/nBGC/富血小板血浆衍生生长因子共同构成的 3

层纳米复合水凝胶支架。在牙骨质层中, 甲壳素-PLGA 作为支架基质, nBGC 具有生物矿化能力促进硬组织再生。将这一复合材料用于牙周缺损模型的实验中, 结果表明, 缺损完全闭合, 形成了不规则的新生牙骨质, 形成了一侧附着于新生牙骨质的完整纤维性牙周膜和具有明确小梁的牙槽骨^[28]。一种由海藻酸钠-CS/ β -磷酸三钙组成的新型复合支架的生物降解性可调, 结构与黏多糖相似, 可以在牙骨质再生中明显延长药物的释放周期, 是药物控释的良好载体^[29]。

3 小结与展望

组织工程牙骨质再生支架材料为老年牙周病患者提供了新的治疗选择和希望, 具有巨大的潜力。目前组织工程技术尚不能实现结构与功能仿生的牙骨质再生。针对牙骨质的组织结构和理化特性, 设计出具有功能性微观结构的理想支架是牙骨质再生面临的一大难关。应运而生的复合生物材料可能在促进牙骨质再生中发挥潜在作用。依据组织特异性制定支架的布局, 以此重建结构和功能之间的关系, 有望实现牙周组织软硬组织界面整合^[30]。此外, 能否建立新生牙骨质与牙周膜的关系决定了牙骨质再生的临床意义, 这也是未来支架材料设计过程中应关注的问题。

参考文献

- [1] 蒋微, 张剑书, 刘雪莲, 等. 老年口腔衰弱与肌少症相关性的研究进展 [J]. 国际老年医学杂志, 2023, 44 (3): 358-361.
Jiang W, Zhang J S, Liu X L, et al. Research progress on the correlation between oral frailty and sarcopenia in the elderly [J]. Int J Geriatr, 2023, 44 (3): 358-361.
- [2] Xiong J, Gronthos S, Bartold P M. Role of the epithelial cell rests of Malassez in the development, maintenance and regeneration of periodontal ligament tissues [J]. Periodontol 2000, 2013, 63 (1): 217-233.
- [3] Hammarström L, Alatli I, Fong C D. Origins of cementum [J]. Oral Dis, 1996, 2 (1): 63-69.
- [4] Yamamoto T, Hasegawa T, Yamamoto T, et al. Histology of human cementum: its structure, function, and development [J]. Jpn Dent Sci Rev, 2016, 52 (3): 63-74.
- [5] Park C H, Oh J H, Jung H M, et al. Effects of the incorporation of ϵ -aminocaproic acid/chitosan particles to fibrin on cementoblast differentiation and cementum regeneration [J]. Acta Biomater, 2017, 61: 134-143.
- [6] Wang Y, Zhang Y, Miron R J. Health, maintenance, and recovery of soft tissues around implants [J]. Clin Implant Dent Relat Res, 2016, 18 (3): 618-634.
- [7] Dean C, Le Cabec A, Spiers K, et al. Incremental distribution of strontium and zinc in great ape and fossil hominin cementum using synchrotron X-ray fluorescence mapping [J]. J R Soc Interface, 2018, 15 (138): 20170626.

- [8] Deng Z, Liang J, Fang N, et al. Integration of collagen fibers in connective tissue with dental implant in the transmucosal region [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 28: 833 – 843.
- [9] Ripamonti U. Developmental pathways of periodontal tissue regeneration: developmental diversities of tooth morphogenesis do also map capacity of periodontal tissue regeneration? [J]. *J Periodontal Res*, 2019, 54 (1): 10 – 26.
- [10] Tan J, Zhang M, Hai Z, et al. Sustained release of two bioactive factors from supramolecular hydrogel promotes periodontal bone regeneration [J]. *ACS Nano*, 2019, 13 (5): 5616 – 5622.
- [11] Woo H N, Cho Y J, Tarafder S, et al. The recent advances in scaffolds for integrated periodontal regeneration [J]. *Bioact Mater*, 2021, 6 (10): 3328 – 3342.
- [12] Yoo S Y, Lee J S, Cha J K, et al. Periodontal healing using a collagen matrix with periodontal ligament progenitor cells in a dehiscence defect model in beagle dogs [J]. *J Periodontal Implant Sci*, 2019, 49 (4): 215 – 227.
- [13] Kawamoto K, Miyaji H, Nishida E, et al. Characterization and evaluation of graphene oxide scaffold for periodontal wound healing of class II furcation defects in dog [J]. *Int J Nanomed*, 2018, 13: 2365 – 2376.
- [14] Zang S, Mu R, Chen F, et al. Injectable chitosan/ β -glycerophosphate hydrogels with sustained release of BMP-7 and ornidazole in periodontal wound healing of class III furcation defects [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019, 99: 919 – 928.
- [15] Shen R, Xu W, Xue Y, et al. The use of chitosan/PLA nano-fibers by emulsion eletrospinning for periodontal tissue engineering [J]. *Artif Cells Nanomedicine Biotechnol*, 2018, 46 (sup2): 419 – 430.
- [16] Liao Y, Li H, Shu R, et al. Mesoporous hydroxyapatite/chitosan loaded with recombinant-human amelogenin could enhance antibacterial effect and promote periodontal regeneration [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 180.
- [17] Bakhtiar H, Mirzaei H, Bagheri M R, et al. Histologic tissue response to furcation perforation repair using mineral trioxide aggregate or dental pulp stem cells loaded onto treated dentin matrix or tricalcium phosphate [J]. *Clin Oral Investig*, 2017, 21 (5): 1579 – 1588.
- [18] Chang C C, Lin T A, Wu S Y, et al. Regeneration of tooth with allogeneous, autoclaved treated dentin matrix with dental pulpal stem cells: an in vivo study [J]. *J Endod*, 2020, 46 (9): 1256 – 1264.
- [19] Shang L, Liu Z, Ma B, et al. Dimethylallyl glycine/nanosilicates-loaded osteogenic/angiogenic difunctional fibrous structure for functional periodontal tissue regeneration [J]. *Bioact Mater*, 2021, 6 (4): 1175 – 1188.
- [20] Zhao B, Chen J, Zhao L, et al. A simvastatin-releasing scaffold with periodontal ligament stem cell sheets for periodontal regeneration [J]. *J Appl Biomater Funct Mater*, 2020, 18: 2280800019900094.
- [21] Lyu H, Zhou X, Qian Y, et al. Long-acting PFI-2 small molecule release and multilayer scaffold design achieve extensive new formation of complex periodontal tissues with unprecedented fidelity [J]. *Biomaterials*, 2022, 290: 121819.
- [22] Metwally S, Stachewicz U. Teeth resorption at cement-enamel junction (CEJ) -microscopy analysis [J]. *Micron*, 2020, 137: 102913.
- [23] Taşlı P N, Yalçın Ülker G M, Cumbul A, et al. In vitro tooth-shaped scaffold construction by mimicking late bell stage [J]. *Turk J Biol*, 2020, 44 (5): 315 – 326.
- [24] Goudouri O M, Kontonasaki E, Chrissafis K, et al. Towards the synthesis of an Mg-containing silicate glass-ceramic to be used as a scaffold for cementum/alveolar bone regeneration [J]. *Ceram Int*, 2014, 40 (10, Part B): 16287 – 16298.
- [25] Rezk A I, Bhattarai D P, Park J, et al. Polyaniline-coated titanium oxide nanoparticles and simvastatin-loaded poly (ϵ -caprolactone) composite nanofibers scaffold for bone tissue regeneration application [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2020, 192: 111007.
- [26] Chen X, Liu Y, Miao L, et al. Controlled release of recombinant human cementum protein 1 from electrospun multiphase scaffold for cementum regeneration [J]. *Int J Nanomed*, 2016, 11: 3145 – 3158.
- [27] Lauritano D, Limongelli L, Moreo G, et al. Nanomaterials for periodontal tissue engineering: chitosan-based scaffolds. A systematic review [J]. *Nanomater Basel Switz*, 2020, 10 (4): 605.
- [28] Sowmya S, Mony U, Jayachandran P, et al. Tri-layered nanocomposite hydrogel scaffold for the concurrent regeneration of cementum, periodontal ligament, and alveolar bone [J]. *Adv Healthc Mater*, 2017, 6 (7). doi: 10. 1002/adhm. 201601251.
- [29] Abdelrasoul M, El-Fattah A A, Kotry G, et al. Regeneration of critical-sized grade II furcation using a novel injectable melatonin-loaded scaffold [J]. *Oral Dis*, 2023, 29 (8): 3583 – 3598.
- [30] Peiffer Q C, de Ruijter M, van Duijn J, et al. Melt electrowriting onto anatomically relevant biodegradable substrates: resurfacing a diarthrodial joint [J]. *Mater Des*, 2020, 195: 109025.