

# 部分脱矿牙本质颗粒在上颌窦提升中的成骨性能

刘欢, 李涵, 马云豪, 仲维剑, 马国武

<https://doi.org/10.12307/2023.050>

投稿日期: 2021-09-26

采用日期: 2021-11-15

修回日期: 2021-12-21

在线日期: 2021-12-30

中图分类号:

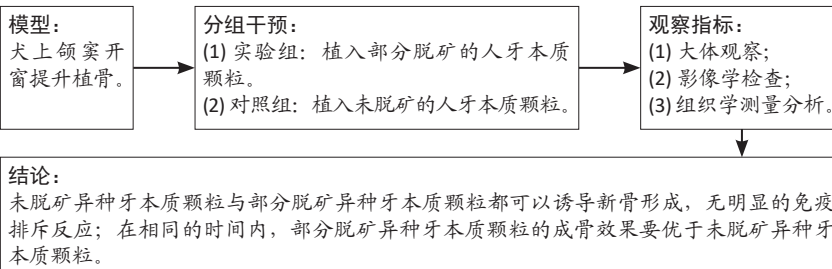
R459.9; R782.13; R318.08

文章编号:

2095-4344(2023)03-00354-06

文献标识码: A

文章快速阅读: 部分脱矿牙本质颗粒作为骨移植材料的组织反应与成骨效果



## 文题释义:

**部分脱矿牙本质颗粒:** 将人牙齿去除牙釉质、牙骨质和牙髓后, 研磨成直径为0.5-1.0 mm的颗粒, 然后经过脱钙、脱脂、消毒、灭菌处理, 可以作为修复颌骨缺损的骨移植材料, 其成分与骨组织类似, 含有丰富的钙磷等无机物和各种生长因子, 其中的胶原成分是细胞再生的优良载体。部分脱钙处理可以使颗粒表面的胶原充分暴露, 促进生长因子释放, 有利于细胞的附着, 加速骨组织再生。

**成骨性能:** 是评价骨移植替代材料在骨缺损修复重建和骨组织再生中的能效指标。理想的骨移植材料应具有骨生成性、骨诱导性及骨传导性。

## 摘要

**背景:** 研究证实牙本质颗粒具有良好的成骨潜能, 其中未脱矿牙本质颗粒的空间维持作用好, 但降解吸收缓慢, 延缓了新骨生成速度; 完全脱矿牙本质颗粒降解快, 但支架作用不佳、新骨生成量有限。

**目的:** 评价部分脱矿牙本质颗粒作为骨移植材料的组织反应与成骨效果。

**方法:** 收集临床上拔除的废弃牙齿, 去除牙釉质、牙骨质和牙髓, 保留健康的牙本质, 经过粉碎、筛选、煮沸、灭菌等处理制成直径0.5-1.0 mm的未脱矿牙本质颗粒; 将牙本质颗粒先浸泡在2%硝酸中脱矿10 min, 制成部分脱矿牙本质颗粒。取5只比格犬进行双侧上颌窦开窗提升骨缺损造模, 随机分为2组, 实验组植入部分脱矿异种牙本质颗粒, 对照组植入未脱矿异种牙本质颗粒, 术后3个月对植骨区进行大体观察、影像学检查和组织学测量分析。

**结果与结论:** ①大体观察: 两组植骨区愈合良好, 无炎症反应, 实验组植骨区表面较平坦, 可见少量残留牙本质颗粒包埋在骨基质中; 对照组植骨区表面不平整, 可见较多牙本质颗粒; ②锥形束CT检查: 实验组植骨区为低密度的阻射影, 牙本质颗粒与周围组织边界不清, 移植的牙本质颗粒总体积减小, 牙本质颗粒间影像密度较高; 对照组可见高密度的牙本质颗粒阻射影, 与周围组织边界较明显, 牙本质颗粒吸收程度较实验组轻; ③组织学观察: 两组植骨区均未见明显的炎症细胞浸润, 实验组牙本质颗粒呈虫蚀状吸收, 周围有新生骨组织围绕, 新生编织骨较致密; 对照组牙本质颗粒吸收程度较实验组轻, 新骨生成率低于实验组( $P < 0.05$ ); ④结果表明: 两种牙本质颗粒均可以诱导新骨形成, 在相同时间内, 部分脱矿牙本质颗粒的成骨效果优于未脱矿牙本质颗粒。

**关键词:** 骨; 部分脱矿; 牙本质颗粒; 骨再生; 生物材料; 骨移植材料; 上颌窦提升; 动物实验

## Osteogenic capacity of partially demineralized dentin particles in the maxillary sinus lift

Liu Huan, Li Han, Ma Yunhao, Zhong Weijian, Ma Guowu

Stomatological Hospital of Stomatology College of Dalian Medical University, Dalian 116023, Liaoning Province, China

Liu Huan, Master candidate, Stomatological Hospital of Stomatology College of Dalian Medical University, Dalian 116023, Liaoning Province, China

**Corresponding author:** Zhong Weijian, Associate professor, Master's supervisor, Stomatological Hospital of Stomatology College of Dalian Medical University, Dalian 116023, Liaoning Province, China

## Abstract

**BACKGROUND:** It has been confirmed that dentin particles obtain good osteogenic potential. The non-demineralized dentin particles maintained well in space, but their degradation and absorption were slow, which delayed the rate of new bone formation. The fully demineralized dentine particles degraded rapidly, but the effect of scaffolds was not good, and the amount of new bone formation was limited.

**OBJECTIVE:** To evaluate the tissue reaction and osteogenic effect of partially demineralized dentin matrixes as bone graft materials.

大连医科大学口腔医学院附属口腔医院, 辽宁省大连市 116023

第一作者: 刘欢, 女, 1993年生, 内蒙古自治区巴彦淖尔市人, 汉族, 大连医科大学口腔医学院在读硕士, 主要从事种植牙和骨再生技术的研究。

通讯作者: 仲维剑, 副教授, 硕士生导师, 大连医科大学口腔医学院附属口腔医院, 辽宁省大连市 116023

<https://orcid.org/orcid.org/0000-0002-9568-0090> (刘欢)

基金资助: 辽宁省自然科学基金(2015020313), 项目负责人: 仲维剑

引用本文: 刘欢, 李涵, 马云豪, 仲维剑, 马国武. 部分脱矿牙本质颗粒在上颌窦提升中的成骨性能 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(3):354-359.



**METHODS:** The enamel, cementum, and pulp were removed from clinically collected teeth, and the healthy dentin was preserved. The undemineralized dentin particles of 0.5–1.0 mm in diameter were prepared by grinding, screening, boiling, and sterilization. The dentin particles were demineralized in 2% nitric acid for 10 minutes, then cleaned and disinfected to produce partially demineralized dentin particles. Five beagles were selected for bilateral maxillary sinus elevation and randomly divided into two groups. Sinus in the experimental group was filled with partially demineralized dentin particles, and that in the control group was filled with undemineralized dentin particles. Three months after bone grafting, specimens were analyzed by gross observation, X-ray imaging and histological examination.

**RESULTS AND CONCLUSION:** (1) General observation: The bone graft area in the two groups healed well without inflammation. In the experimental group, the surface of the bone graft area was flat, with remaining dentin particles. In the control group, the surface of the bone graft area was uneven, with a large number of remaining dentin particles. (2) Cone beam CT examination: In the experimental group, low-density image was observed; the boundary between dentin particles and surrounding tissues was unclear; the total volume of dentin particles in the bone graft area was decreased; and the density of new bone between dentin particles was increased. In the control group, the high density dentin particle image and surrounding tissue boundary were obvious, and dentin absorption was less compared with the experimental group. (3) Histological analysis: There was no obvious inflammatory cell infiltration in the bone graft area of the two groups. In the experimental group, dentin particles were absorbed like insect erosion, surrounded by new bone tissue; newly-born braided bones were dense. In the control group, the absorption degree of dentin particles was less than that in the experimental group. The rate of new bone formation was lower in the control group than that in the experimental group ( $P < 0.05$ ). (4) The results show that both partially demineralized and undemineralized dentin particles could induce new bone formation. The osteogenic effect of partially demineralized dentin particles was better than that of undemineralized dentin particles.

**Key words:** bone; partial demineralization; dentin particles; bone regeneration; biomaterial; bone graft; maxillary sinus lift; animal experiment

**Funding:** the Natural Science Foundation of Liaoning Province, No. 2015020313 (to ZWJ)

**How to cite this article:** LIU H, LI H, MA YH, ZHONG WJ, MA GW. Osteogenic capacity of partially demineralized dentin particles in the maxillary sinus lift. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2023;27(3):354-359.

## 0 引言 Introduction

种植义齿修复以其不损伤邻牙、使用方便、舒适性好、稳定性高等优势,逐渐被越来越多的患者所接受。不同患者牙齿缺失的原因不尽相同,很多患者因为牙周病、根尖病、创伤、肿瘤等原因造成颌面部骨组织的不同程度缺损。骨组织工程的3个基本组成部分是:①促进宿主细胞在植入部位附着、迁移和增殖的骨传导支架;②骨诱导蛋白或生长因子,刺激骨祖细胞分化并合成矿化骨基质;③能够合成骨组织的成骨细胞<sup>[1]</sup>,其中寻找一种理想的支架材料是骨组织工程的主要目标之一。如何有效使用植骨材料修复各类骨缺损,已经成为当前的研究热点。

目前临床应用的骨移植材料都各具优缺点。自体骨因其来源于自身,具有良好的生物相容性及成骨性能,在临床上一直被认为是骨移植材料的“金标准”,但仍存在着增加取骨创伤、供体供应有限、供区感染、移植后不可避免的骨吸收等问题<sup>[2-4]</sup>。其他植骨材料如同种异体骨、异种骨、人工合成骨,虽然也可以用来修复骨组织缺损,但是在不同方面存在着局限性,例如价格昂贵、存在着免疫排斥反应、自身缺乏骨诱导能力等<sup>[5]</sup>。

牙本质颗粒因其来源广泛、价格低廉、制备简便,逐渐引起临床医生和学者的重视。牙齿和骨的成分类似,并且都起源于神经嵴<sup>[6-7]</sup>。研究表明,未脱矿牙本质衍生的无机矿物质作为一种独特的支架材料,可以促进骨髓间充质干细胞的成骨分化能力,不仅无细胞毒性,而且具有良好的生物相容性和骨传导性<sup>[8]</sup>。但由于未脱矿牙本质颗粒的生长因子包裹在羟基磷灰石晶体里,释放缓慢,所以颗粒吸收慢,新骨形成的速度也慢。目前常用的牙本质改性增效的方法为脱矿处理。经酸性溶液处理后的脱矿牙本质基质,生长因子释放加快,骨传导和骨诱导作用提高。牙本质衍生的脱矿牙本质基质于1967年首次被报道,研究发现脱矿牙本质植入骨缺损后会诱导成骨,而不是诱导牙本质形成<sup>[9]</sup>。脱矿后,牙本质小管增大,释放胶原纤维和碱性蛋白,这些蛋白可以促进

血管生成和骨形成<sup>[10]</sup>。因此,脱矿牙本质基质具有骨诱导作用<sup>[11-12]</sup>。REIS-FILHO等<sup>[13]</sup>报道脱矿牙本质基质对骨祖细胞具有趋化特性,在骨重塑过程中被吸收,并可以通过刺激血管内皮生长因子的表达加速骨修复和血管形成,表明脱矿牙本质基质具有骨诱导、骨传导的潜力。但是完全脱矿牙本质颗粒制作过程复杂,酸性试剂与牙本质颗粒的长时间接触还会损伤其中的非胶原蛋白等物质,从而影响新骨的形成<sup>[14]</sup>。

KOGA等<sup>[15]</sup>的研究表明,部分脱矿(脱矿程度约为70%)牙本质颗粒表现出了优越的骨再生能力,相比未脱矿组和完全脱矿组诱导出了更多的新骨。但有关部分脱矿牙本质颗粒成骨效果的动物实验研究较少,此次实验通过建立犬的上颌窦提升骨缺损修复的动物模型,旨在比较部分脱矿牙本质颗粒与未脱矿牙本质颗粒的成骨效果,为其临床应用提供参考依据。

## 1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验,组间比较采用t检验。

1.2 时间及地点 实验于2018年6月至2019年11月在大连医科大学完成。

1.3 材料 收集临床上患者因正畸减数、牙周病而拔除的患牙以及无功能的智齿(由大连医科大学口腔医学院附属口腔医院提供),供者对实验知情同意。

1.3.1 实验动物 健康雄性比格犬5只,体质量约8 kg,由大连医科大学实验动物中心提供并喂养,许可证号:SCXK(辽)2018-0007。动物实验获得大连医科大学实验动物中心伦理委员会批准,伦理审批号码(AEE18085)。

1.3.2 仪器及试剂 常规无菌手术器械及用品:手术刀柄、刀片、止血钳、一次性注射器、组织镊、骨膜剥离器、单面骨凿等,由大连医科大学口腔医学院提供并进行消毒;EXAKT300CP切片机(德国EXAKT公司);OLYMPUS SZX16体式显微镜、OLYMPUS BX43光学显微镜(日本OLYMPUS公司);陆眠宁(长春农牧兽医研究所);鹿醒宁、利多卡因(长春农

牧兽医研究所); 硝酸(佛山市南海双氯化工有限公司); 甲苯胺蓝染色剂(上海碧云天生物技术有限公司)。

## 1.4 实验方法

### 1.4.1 牙本质颗粒的制备

**未脱矿牙本质颗粒:** 收集牙齿, 用打磨机去除牙釉质、牙骨质、牙髓, 保留牙本质。将牙本质用骨磨敲碎, 经筛子过滤为直径 0.5–1.0 mm 的颗粒, 经过蒸馏水煮沸 2 h, 体积分数 75% 乙醇消毒、生理盐水反复荡洗, 备用。

**部分脱矿牙本质颗粒:** 煮沸后, 将直径 0.5–1.0 mm 的牙本质颗粒浸泡在硝酸中 10 min, 体积分数 75% 乙醇消毒、生理盐水反复荡洗, 备用。

**1.4.2 实验动物分组** 将 5 只比格犬的 10 个上颌窦抽签法随机分为 2 组, 制备上颌窦开窗提升骨缺损模型, 实验组植入部分脱矿异种牙本质颗粒, 对照组植入未脱矿异种牙本质颗粒, 每组 5 个上颌窦。

**1.4.3 上颌窦开窗提升骨缺损模型** 用陆眠宁 0.07–0.1 mL/kg 肌肉注射麻醉实验犬后, 以仰卧位将其固定于手术台上, 消毒铺巾。在上颌第一磨牙颊侧, 用 2% 利多卡因按 0.2 mL/kg 进行浸润麻醉, 沿着腭侧龈缘切开, 翻开全厚黏骨膜瓣, 充分暴露术区骨面, 用小球钻打磨的方法在腭侧骨板制备直径 8–10 mm 的骨窗, 在距离窦底约 1 mm 时, 用单面骨凿敲击去除窦底骨片, 剥离提升窦底黏膜, 提升高度 4 mm 左右, 以同样的方法完成对侧上颌窦底提升。每个骨缺损植入牙本质颗粒约 0.5 cm<sup>3</sup>, 实验组植入部分脱矿牙本质颗粒, 对照组植入未脱矿牙本质颗粒, 见图 1。牙龈骨膜瓣复位, 严密缝合创口。手术结束后, 肌肉注射鹿醒宁促进实验犬苏醒, 0.08 mL/kg 青霉素预防感染 1 周, 每日以生理盐水冲洗伤口, 术后 7 d 拆线。

### 1.5 主要观察指标

**大体观察:** 术后密切观察植骨区愈合情况, 有无红肿、溢脓等感染、排斥症状。术后 3 个月, 麻醉后处死实验犬, 暴露植骨区, 观察骨缺损修复状态和牙本质颗粒的吸收情况, 探诊检查牙本质颗粒的质地、硬度, 有无纤维包裹等。

**锥形束 CT 检测:** 观察植骨区的密度和牙本质颗粒体积变化情况。使用锥形束 CT 中的 ROI 及 AREA 功能进行测量。每个标本选取 3 个截面, 对植骨区的密度和面积进行测量, 取平均值。

**组织学观察:** 切取植骨区的组织标本, 分别进行标号, 每个标本体积为 2 cm×1.5 cm×1.5 cm, 放入体积分数 10% 中性甲醛溶液中固定, 树脂包埋后制作硬组织磨片, 切片厚度控制在 70 μm, 甲苯胺蓝染色, 光学显微镜下观察新骨生成量和牙本质颗粒的变化情况。在每块标本的不同部位选取 5 张切片, 每张切片随机选取 5 个视野进行拍照, 使用 Image J 软件分析图片, 计算新骨生成率及牙本质颗粒面积比率。

新骨生成率 = 视野中新生骨的面积 / 视野的总面积 × 100%  
牙本质颗粒面积比率 = 剩余牙本质颗粒所占面积 / 视野

总面积 × 100%

**1.6 统计学分析** 将所得实验数据利用 SPSS 17.0 软件进行处理, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 进行 *t* 检验,  $P < 0.05$  提示差异有显著性意义。该统计学方法已经大连医科大学生物统计学专家审核。

## 2 结果 Results

**2.1 实验动物数量分析** 5 只实验犬全部存活, 精神状态良好, 植骨区愈合良好, 未出现感染化脓, 未见排斥反应, 全部纳入结果分析。

**2.2 两组植骨区大体观察结果** 术后 3 个月, 去除术区黏膜后观察可见, 两组植骨区表面均覆盖有纤维组织, 实验组移植区探诊质硬, 边界模糊, 与周围骨组织融为一体, 表面较平坦, 暴露的牙本质颗粒较少, 见图 2A; 对照组植骨区表面凹凸不平, 探诊质地疏松, 边界清楚, 暴露的牙本质颗粒较实验组多, 见图 2B。

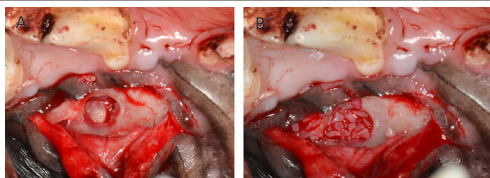
**2.3 两组植骨区影像学观察结果** 植骨区标本锥形束 CT 检查可见, 实验组牙本质颗粒残余较少, 牙本质颗粒与周围骨组织影像界限不清, 植骨区面积明显缩小, 植骨区牙本质颗粒呈低密度阻射影像, 见图 3A; 对照组牙本质颗粒吸收较实验组少, 牙本质颗粒呈高密度阻射影像, 与周围骨组织界限较明显, 植骨区面积无明显缩小, 见图 3B。

实验组、对照组植骨区平均密度分别为 (1 043.95±123.09), (1 387.77±194.96) HU, 组间比较差异有显著性意义 ( $P < 0.05$ ); 实验组、对照组植骨区平均面积分别为 (16.38±2.91), (26.48±3.44) mm<sup>2</sup>, 组间比较差异有显著性意义 ( $P < 0.05$ ), 说明实验组牙本质颗粒较对照组吸收快。

**2.4 两组植骨区组织形态学观察结果** 由于切片甲苯胺蓝染色后放置时间过长, 有些褪色, 但并不影响结果观察。对硬组织磨片的观察可见, 两组植骨区的牙本质颗粒均呈虫蚀样吸收, 实验组吸收程度较对照组明显, 两组牙本质颗粒周围均可见新生的编织骨, 呈网格状, 新生骨组织包绕牙本质颗粒并与基骨紧密连接, 实验组新生骨多于对照组, 对照组牙本质颗粒周围有较多的纤维组织, 两组植骨区均未见炎症细胞浸润, 见图 4。

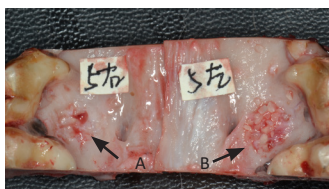
**2.5 两组植骨区组织学测量和统计学分析** 术后 3 个月, 实验组和对照组的新骨生成率分别为 (41.91±4.66)% 和 (30.80±5.31)%, 组间比较差异有显著性意义 ( $P < 0.05$ ), 说明在相同时间内, 部分脱矿牙本质颗粒的新骨生成量多于未脱矿牙本质颗粒。术后 3 个月, 实验组和对照组的牙本质颗粒所占面积比率分别为 (12.41±6.76)% 和 (20.66±2.34)%, 组间比较差异有显著性意义 ( $P < 0.05$ ), 说明未脱矿牙本质颗粒吸收较慢, 有利于维持空间。

**2.6 牙本质颗粒的组织相容性** 由动物实验的大体观察与组织学观察结果可知, 部分脱矿牙本质颗粒与未脱矿牙本质颗粒均具有良好的组织相容性。



图注: A 为腭侧翻瓣开窗提升上颌窦底黏膜, B 为骨缺损内填入牙本质颗粒  
图 1 | 比格犬上颌窦提升植骨手术

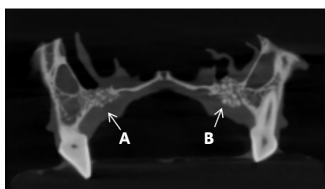
Figure 1 | Operation of sinus elevation and bone grafting in a Beagle dog



图注: A 为部分脱矿牙本质颗粒移植区 (箭头示), 牙本质颗粒暴露较少, 表面光滑, 与周围骨组织融为一体; B 为未脱矿牙本质颗粒移植区 (箭头示), 牙本质颗粒暴露较多, 有明显的颗粒感, 表面凹凸不平, 与周围骨组织界限清晰

图 2 | 术后 3 个月两组植骨区大体观察

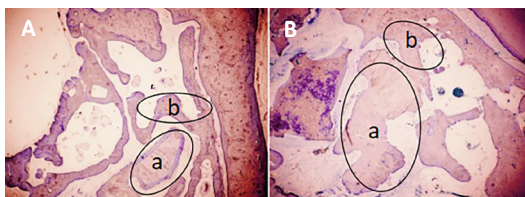
Figure 2 | Gross observation of bone grafting area in both groups 3 months after operation



图注: A 为部分脱矿牙本质颗粒移植区 (箭头示), 残余牙本质颗粒较少, 牙本质颗粒呈低密度的阻射影像, 植骨区面积明显缩小, 与邻近骨组织界限不明显; B 为未脱矿牙本质颗粒移植区 (箭头示), 可见较多颗粒状的牙本质颗粒高密度阻射影, 与邻近骨组织交界明显

图 3 | 术后 3 个月两组植骨区锥形束 CT 影像

Figure 3 | Cone beam CT image of bone grafting areas in both groups 3 months after operation



图注: A 为部分脱矿牙本质颗粒移植区, a 为牙本质颗粒呈虫蚀状吸收, 吸收较多; b 为新生骨, 骨小梁呈网格状, 生成较多。B 为未脱矿牙本质颗粒移植区, a 为牙本质颗粒呈虫蚀状吸收, 吸收较少; b 为新生骨, 骨小梁呈网格状, 生成较少

图 4 | 两组植骨区硬组织磨片组织学观察结果 (甲苯胺蓝染色, ×40)

Figure 4 | Histological observation of hard tissue grinding sections in both groups (toluidine blue staining, ×40)

### 3 讨论 Discussion

口腔种植治疗因其舒适美观、适用范围广、不损伤邻牙等优点, 被越来越多的患者所接受, 已成为牙列缺损和牙列缺失的最佳修复方式。但是临床上由于肿瘤、创伤、长时间缺牙未修复和晚期牙周病等原因, 常常导致牙槽骨骨量不足, 需要采用骨增量技术恢复缺失的骨量, 为种植治疗的成功打下坚实的基础。

临床上常用的骨移植材料有自体骨、同种异体骨、异种骨和人工合成骨等。自体骨无免疫排斥反应, 具有骨生成性、骨传导性、骨诱导性, 是骨移植材料的“金标准”, 但是存在二次损伤的弊端, 可能造成供区感染、疼痛、麻木等并发症。同种异体骨存在免疫排斥的风险, 而且其骨诱导作用会受到储存和灭菌技术的影响<sup>[16]</sup>。目前使用广泛的异种骨为无机牛骨, 具有骨传导性好、来源广泛和组织反应低等优点, 然而牛源性生物材料可能会给患者带来病毒传播的风险<sup>[17]</sup>, 而且其在生物体内降解缓慢<sup>[18]</sup>。人工骨移植材料多由磷酸三钙和羟基磷灰石合成, 其结构和化学性质与生物体内的磷灰石类似, 具有良好的生物相容性, 但是不具有骨诱导能力<sup>[19]</sup>。

近年来, 牙本质颗粒由于具有良好的生物相容性、生物可吸收性和成本效益等优点, 受到越来越多的学者关注。牙体组织由牙釉质、牙本质、牙骨质、牙髓构成, 其中牙本质是牙齿的主要组成成分。研究表明牙本质由 70% 无机物和 20% 有机物组成, 无机物的主要成分为磷灰石晶体, 与骨组织相似, 是一种类似骨骼的矿化组织<sup>[20-21]</sup>; 有机物中 18% 是胶原蛋白, 主要是 I 型胶原蛋白, 其余为非胶原蛋白, 含有多种生长因子, 包括骨形态发生蛋白、转化生长因子  $\beta$ 、碱性成纤维细胞生长因子和血小板衍生生长因子等<sup>[22]</sup>。骨形态发生蛋白是一种水溶性分子质量相对较低的蛋白质, 由于人体体液流动的原因, 把骨形态发生蛋白直接植入体内时其很难在局部保留足够长的时间。牙本质基质可作为支持骨再生的支架, 也可以作为重组人骨形态发生蛋白载体, 具有骨传导和骨诱导作用<sup>[23-24]</sup>。相比于其他的人工合成骨移植支架材料, 牙本质含有的活性成分较多, 可以将未成熟的间叶细胞诱导分化为成骨细胞<sup>[25]</sup>。研究表明, 牙本质的骨诱导作用不仅来源于非胶原蛋白, 还来源于牙本质基质蛋白 1、牙本质涎磷蛋白、骨钙素、骨桥蛋白、碱性磷酸酶以及一些特殊的转录因子<sup>[26]</sup>。其中, 牙本质基质蛋白 1 在胚胎发育期间主要在成骨细胞中表达, 对骨和牙本质的矿化起着重要作用。在矿化组织中, 牙本质基质蛋白 1 以蛋白水解片段的形式存在, 牙本质基质蛋白 1 的水解过程对牙本质、牙骨质和颌骨的形成和矿化至关重要, 并在骨和软骨的发育中发挥关键作用<sup>[27]</sup>。骨桥蛋白是一种多功能蛋白, 通过促进成骨细胞和破骨细胞活性在骨重塑中发挥作用<sup>[28]</sup>。

KIM 等<sup>[29]</sup>将牙本质颗粒作为引导骨再生的植骨材料应用于临床, 术后 3-6 个月观察发现, 牙本质颗粒逐渐吸收并被新生骨所取代, 显现出良好的骨再生效果。课题组前期研究也证实了未脱矿自体牙本质颗粒在骨组织缺损修复中的作用和临床效果<sup>[30-31]</sup>, 美中不足的是自体牙齿来源有限, 而且未脱矿牙本质颗粒降解缓慢, 诱导新骨生成的速度较慢, 这种情况并不能满足临床的植骨需求。

相比于自体牙, 异体牙的来源广泛, 但是其在移植过程中可能会有感染及免疫排斥的风险。研究证实, 牙本质中的牙本质细胞突起及脂类可能引起免疫排斥反应。目前常用煮沸、煅烧、冷冻、脱矿等方法处理异体牙本质颗粒<sup>[32]</sup>。煮

沸法是利用高温使酶失去活性，从而避免可能导致的免疫排斥反应，异丙醇可以去除牙本质中的脂类物质而降低其抗原性<sup>[33]</sup>。赵彬彬等<sup>[34]</sup>将未脱矿异种牙本质颗粒分别经过煮沸2 h、异丙醇脱脂处理2 h后植入大鼠颅骨表面，结果也证实了牙本质颗粒经煮沸和异丙醇处理后的抗原性较弱，具有良好的生物相容性和骨传导性。此次实验使用经过煮沸法处理的牙本质颗粒，结果未见免疫排斥反应和炎症细胞浸润。

脱矿是牙本质改性的一种方法，其使用酸性溶液对牙本质进行处理，将牙本质中的无机物部分或全部去除，暴露更多的胶原纤维，以提高牙本质基质的成骨活性。有文献表明，牙本质经脱矿处理后第4周就开始进行骨诱导，而未脱矿牙本质在第8周才进行骨诱导，其差异的可能原因是，脱矿牙本质中的骨形态发生蛋白因为无机物的去除释放加快，新骨形成的速度也加快<sup>[35]</sup>。有文献报道在电镜下观察，脱矿后的牙本质小管会变宽，内部的活性生长因子更容易释放出来，而且基质中的胶原作为支架成网状暴露，更有利于成骨细胞的黏附<sup>[36-39]</sup>。REDDI<sup>[40]</sup>研究对比了脱钙骨基质和非脱钙骨基质的骨诱导能力，发现脱钙骨基质具有更强的骨诱导能力。

一些基础动物研究表明，脱矿牙本质基质不仅具有生物相容性，而且具有骨诱导性，类似于脱矿骨基质<sup>[41-42]</sup>。但这些研究大多使用了完全脱矿牙本质基质，材料制备时间较长，在大多数使用完全脱矿牙本质基质的临床研究中，牙本质完全脱矿大约需要12 h，过程复杂，使得牙本质颗粒的制作与种植手术无法同期进行。脱矿程度不同，牙本质颗粒的吸收速率也不同，在相同时间内的新骨生成率也不同。理想的骨移植材料改建过程应该是支架材料的吸收与新骨形成相平衡。MINAMIZATO等<sup>[43]</sup>自体部分脱矿牙本质基质在牙槽骨再生的应用研究中，将400-800 μm的牙本质颗粒放入pH=1的2%硝酸溶液中脱矿10 min，用于上颌窦外提升植骨，移植前整个加工时间是40 min，显著减少了椅旁操作时间，3个月后用X射线评估骨生成量，术后相对于术前平均骨高度增加了8.7 mm，组织学检查显示自体部分脱矿牙本质基质被新形成的骨包围，提示自体部分脱矿牙本质基质可能具有骨诱导性。KOGA等<sup>[45]</sup>将牙齿研磨成不同颗粒大小，分别为200，500，1 000 μm；然后用2%的HNO<sub>3</sub>溶液进行处理，根据脱矿情况分为未脱矿、部分脱矿（脱矿程度约为70%）、完全脱矿的牙本质颗粒组，分别植入大鼠颅骨缺损中，在1，2个月时观察发现，颗粒大小1 000 μm部分脱矿（脱矿程度约为70%）牙本质颗粒表现出了优越的骨再生能力，诱导出了更多的新骨，而未脱矿组和完全脱矿组都未诱导出更多的新骨。究其原因，可能是因为部分脱矿牙本质颗粒更易于骨细胞的附着，并且部分脱矿牙本质颗粒的吸收与新骨形成之间达到了较好的平衡。此次实验将部分脱矿异种牙本质颗粒（脱矿程度约70%）与未脱矿异种牙本质颗粒分别用于上颌窦提升植骨手术中，不论锥形束CT表现还是组织学观察显示，在相同时间内，部分脱矿牙本质颗粒的成骨效果优于未脱矿牙本质颗粒，显示出部分脱矿牙本质颗粒良好的骨诱导性及成

骨效果，这与KOGA等研究结果一致。

此次实验采用比格犬的上颌窦提升植骨作为研究模型，原因是上颌窦血运丰富，而且窦腔的空间密闭，可以为植骨后的愈合和骨再生提供一个稳定的环境。上颌窦提升可分为经外侧壁开窗上颌窦底提升和穿牙槽嵴顶上颌窦底提升，此次实验采用的是比格犬上颌窦外侧壁开窗植骨手术。因犬的上颌窦颊侧有大的血管穿通走行，所以此次实验采取从腭侧入路进行上颌窦侧壁开窗。

综上所述，此次实验证实，未脱矿和部分脱矿牙本质颗粒均可以作为骨移植替代材料用于骨缺损的修复，部分脱矿牙本质颗粒的成骨效果要优于未脱矿牙本质颗粒，提示部分脱矿牙本质颗粒具有更好的成骨性能。但在相同时间内，未脱矿牙本质颗粒吸收少，具有良好的空间维持能力。因此，临床上应根据骨缺损的部位、形态以及治疗需要选择适合的骨移植材料。牙本质颗粒的成骨潜能使之有望成为新型骨移植替代材料，但是关于其颗粒大小、脱钙程度的控制还需要进一步研究。

**作者贡献：**实验设计为第一作者和通讯作者，实施为全体作者，第一作者成文，通讯作者审核。

**利益冲突：**文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**开放获取声明：**这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

**版权转让：**文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

**出版规范：**该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

## 4 参考文献 References

- [1] BEAMAN FD, BANCROFT LW, PETERSON JJ, et al. Bone graft materials and synthetic substitutes. *Radiol Clin North Am.* 2006;44(3):451-461.
- [2] GARCIA-JÚNIOR IR, SOUZA FÁ, FIGUEIREDO AAS, et al. Maxillary Alveolar Ridge Atrophy Reconstructed With Autogenous Bone Graft Harvested From the Proximal Ulna. *J Craniofac Surg.* 2018;29(8):2304-2306.
- [3] SAKKAS A, WILDE F, HEUFELDER M, et al. Autogenous bone grafts in oral implantology-is it still a “gold standard”? A consecutive review of 279 patients with 456 clinical procedures. *Int J Implant Dent.* 2017;3(1):23.
- [4] 王宁, 崔婷婷, 李永奇, 等. 自体块状皮质骨修复种植区颌骨缺损[J]. *中国组织工程研究*, 2020,24(17):2675-2679.
- [5] ROGERS GF, GREENE AK. Autogenous bone graft: basic science and clinical implications. *J Craniofac Surg.* 2012;23(1):323-327.
- [6] YOSHIDA T, VIVATBUTSIRI P, MORRIS-KAY G, et al. Cell lineage in mammalian craniofacial mesenchyme. *Mech Dev.* 2008;125(9-10):797-808.
- [7] KABIR MA, MURATA M, AKAZAWA T, et al. Evaluation of perforated demineralized dentin scaffold on bone regeneration in critical-size sheep iliac defects. *Clin Oral Implants Res.* 2017;28(11):e227-e235.

- [8] LEI G, WANG Y, YU Y, et al. Dentin-Derived Inorganic Minerals Promote the Osteogenesis of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells: Potential Applications for Bone Regeneration. *Stem Cells Int.* 2020;(2):1-16.
- [9] YEOMANS JD, URIST MR. Bone induction by decalcified dentine implanted into oral, osseous and muscle tissues. *Arch Oral Biol.* 1967; 12(8):999-1008.
- [10] UM IW, KU JK, LEE BK, et al. Postulated release profile of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) from demineralized dentin matrix. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2019;45(3):123-128.
- [11] ZHANG S, LI X, QI Y, et al. Comparison of Autogenous Tooth Materials and Other Bone Grafts. *Tissue Eng Regen Med.* 2021;18(3):327-341.
- [12] ATIYA BK, SHANMUHASUNTHARAM P, HUAT S, et al. Liquid nitrogen-treated autogenous dentin as bone substitute: an experimental study in a rabbit model. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2014;29(2):e165-170.
- [13] REIS-FILHO CR, SILVA ER, MARTINS AB, et al. Demineralised human dentine matrix stimulates the expression of VEGF and accelerates the bone repair in tooth sockets of rats. *Arch Oral Biol.* 2012;57(5):469-476.
- [14] 肖闻澜, 胡琛, 荣圣安, 等. 自体牙本质作为骨移植材料的临床应用进展 [J]. *口腔疾病防治*, 2020(6):394-398.
- [15] KOGA T, MINAMIZATO T, KAWAI Y, et al. Bone Regeneration Using Dentin Matrix Depends on the Degree of Demineralization and Particle Size. *PLoS One.* 2016;11(1):e0147235.
- [16] BALDWIN P, LI DJ, AUSTON DA, et al. Autograft, allograft, and bone graft substitutes: clinical evidence and indications for use in the setting of orthopaedic trauma surgery. *J Orthop Trauma.* 2019;33(4):203-213.
- [17] KIM Y, NOWZARI H, RICH SK. Risk of prion disease transmission through bovine-derived bone substitutes: a systematic review. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2013;15(5):645-653.
- [18] TAYLOR JC, CUFF SE, LEGER JP, et al. In vitro osteoclast resorption of bone substitute biomaterials used for implant site augmentation: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002;17(3):321-330.
- [19] GIANNOUDIS P, DIPOPOULOS H, TSIRIDIS E. Bone Substitutes: An Update. *Injury.* 2005;36 Suppl 3(3):S20-27.
- [20] KIM YK, KIM SG, YUN PY, et al. Autogenous teeth used for bone grafting: A comparison with traditional grafting materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2014;117:39-45.
- [21] KOZUMA W, KON K, KAWAKAMI S, et al. Osteoconductive potential of a hydroxyapatite fiber material with magnesium: In vitro and in vivo studies. *Dent Mater J.* 2019;38:771-778.
- [22] MURATA M, AKAZAWA T, MITSUGI M, et al. Autograft of Dentin Materials for Bone Regeneration. *Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications.* 2013:391-403.
- [23] UM IW. Demineralized Dentin Matrix (DDM) As a Carrier for Recombinant Human Bone Morphogenetic Proteins (rhBMP-2). *Adv Exp Med Biol.* 2018;1077:487-499.
- [24] UM IW, KU JK, KIM YK, et al. Histological Review of Demineralized Dentin Matrix as a Carrier of rhBMP-2. *Tissue Eng Part B Rev.* 2020; 26(3):284-293.
- [25] BESSHO K, TAGAWA T, MURATA M. Purification of bone morphogenetic protein derived from bovine bone matrix. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989;165(2):595-601.
- [26] ZHANG S, LI X, QI Y, et al. Comparison of Autogenous Tooth Materials and Other Bone Grafts. *Tissue Eng Regen Med.* 2021;18(3):327-341.
- [27] SUN Y, LU Y, CHEN L, et al. DMP1 processing is essential to dentin and jaw formation. *J Dent Res.* 2011;90(5):619-624.
- [28] SINGH A, GILL G, KAUR H, et al. Role of osteopontin in bone remodeling and orthodontic tooth movement: a review. *Prog Orthod.* 2018;19(1):18.
- [29] KIM YK, KIM SG, BYEON JH, et al. Development of a novel bone grafting material using autogenous teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109(4):496-503.
- [30] 靳夏莹, 仲维剑, 马国武. 自体牙制成骨移植材料在上前牙即刻种植中的应用 1 例 [J]. *口腔医学研究*, 2017(11):1228-1229.
- [31] 崔婷婷, 寇霓, 仲维剑, 等. 自体牙本质颗粒联合富血小板纤维蛋白在上颌窦提升同期种植中的应用 [J]. *口腔医学研究*, 2018,34(5): 532-534.
- [32] 崔婷婷, 邱泽文, 邵阳, 等. 异种牙本质颗粒复合骨髓浓缩物在上颌窦提升中的成骨效应 [J]. *中国组织工程研究*, 2018,22(30): 4806-4811.
- [33] 赵彬彬, 仲维剑, 马国武. 牙本质作为骨移植材料的研究进展 [J]. *国际口腔医学杂志*, 2021,48(1):82-89.
- [34] 赵彬彬, 邱泽文, 马程辉, 等. 不同处理方法对未脱钙异种牙本质颗粒成骨性能的影响 [J]. *中国组织工程研究*, 2019,23(26): 4154-4159.
- [35] LI R, GUO W, YANG B, et al. Human treated dentin matrix as a natural scaffold for complete human dentin tissue regeneration. *Biomater.* 2011;32(20):4523-4538.
- [36] KIM YK, KIM SG, OH JS, et al. Analysis of the inorganic component of autogenous tooth bone graft material. *J Nanosci Nanotechnol.* 2011;11(8):7442-7445.
- [37] GALLER KM, BUCHALLA W, HILLER KA, et al. Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. *J Endod.* 2015; 41(3):363-368.
- [38] MATHEWS S, BHONDE R, GUPTA PK, et al. Novel biomimetic tripolymer scaffolds consisting of chitosan, collagen type 1, and hyaluronic acid for bone marrow-derived human mesenchymal stem cells-based bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2014;102(8):1825-1834.
- [39] CHU C, DENG J, SUN X, et al. Collagen Membrane and Immune Response in Guided Bone Regeneration: Recent Progress and Perspectives. *Tissue Eng Part B Rev.* 2017;23(5):421-435.
- [40] REDDI AH. Bone matrix in the solid state:geometric influence on differentiation of fibroblasts. *Adv Biol Med Phys.* 1974;15:1-18.
- [41] GUO W, HE Y, ZHANG X, et al. The use of dentin matrix scaffold and dental follicle cells for dentin regeneration. *Biomaterials.* 2009;30(35): 6708-6723.
- [42] LI R, GUO W, YANG B, et al. Human treated dentin matrix as a natural scaffold for complete human dentin tissue regeneration. *Biomaterials.* 2011;32(20):4525-4538.
- [43] MINAMIZATO T, KOGA T, I T, et al. Clinical application of autogenous partially demineralized dentin matrix prepared immediately after extraction for alveolar bone regeneration in implant dentistry: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2018;47(1):125-132.

(责任编辑: GW, ZN, ZJP)