

木瓜蛋白酶用于选择性去除龋坏组织的实验研究

金琳¹ 庞希瑶² 汪延秋² 黄丹³ 吴锦涛² 于金华²

(1 南通市口腔医院,江苏 南通 226001; 2 南京医科大学口腔医学院; 3 南通大学附属医院)

[摘要] **目的** 探讨木瓜蛋白酶选择性去除龋坏组织的临床疗效,并比较与慢速球钻去龋的差异。**方法** 随机选取 50 例有牙本质龋坏但未累及牙髓的前磨牙或磨牙,随机分为 40 g/L 壳聚糖凝胶组、10 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组、30 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组、50 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组、100 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组 5 组,每组 10 例。每组牙纵切为两半,分别采用慢速球钻或木瓜蛋白酶凝胶去龋,采用龋齿指示剂和扫描电镜观察,比较去龋后的牙本质状态。**结果** 50 g/L 和 100 g/L 木瓜蛋白酶能有效去除软化牙本质。与慢速球钻去龋相比,50 g/L 木瓜蛋白酶去龋后的牙本质表面较粗糙,玷污层较少。**结论** 木瓜蛋白酶能够有效去除龋坏牙本质,对硬化牙本质无显著影响,能够最大限度地保存健康牙体组织。

[关键词] 木瓜蛋白酶;慢速球钻;龋齿;治疗结果
[中图分类号] R781.1 **[文献标志码]** A

USE OF PAPAIN GEL IN THE SELECTIVE REMOVAL OF DENTAL CARIES: AN EXPERIMENTAL STUDY JIN Lin, PANG Xiyao, WANG Yanqiu, HUANG Dan, WU Jintao, YU Jinhua (Stomatological Hospital of Nantong City, Nantong 226001, China)

[ABSTRACT] **Objective** To determine the clinical efficacy of papain gel, and to compare its efficacy with that of slow-speed bur, in the selective removal of dental caries. **Methods** A total of 50 premolars or molars with caries not involving the pulp were randomly divided into 40 g/L chitosan gel group, 10 g/L papain gel group, 30 g/L papain gel group, 50 g/L papain gel group, and 100 g/L papain gel group ($n=10$ per group). All teeth were longitudinally cut along the center of the cavity, and each half of the tooth was treated with either papain gel or slow-speed bur. Dentin surface after caries removal was examined by the dental caries detector and scanning electron microscope. **Results** Papain gel at concentrations of 50 g/L and 100 g/L were efficacious in the removal of softened dentin. Compared with those treated with slow-speed bur, teeth treated with 50 g/L papain gel had rough dentin surface with less smear layer. **Conclusion** Papain gel can effectively remove caries without affecting sclerotic dentin, and thereby maximize the preservation of healthy dental tissues.

[KEY WORDS] Papain; Slow-speed bur; Dental caries; Treatment outcome

龋病是导致牙体硬组织进行性破坏的一种口腔常见病,临床表现为牙齿龋坏组织的形成^[1-3]。第四次全国口腔健康流行病学部分调查结果显示,我国儿童患龋率呈上升趋势,12 岁儿童恒牙患龋率约为 34.5%。虽然居民口腔保健水平在不断提高,但龋病仍然是影响居民健康的普遍疾病之一^[4]。在过去的传统龋病治疗中使用的非选择性去龋、预防性扩展等观念已经逐渐被选择性去龋所替代^[5-7]。陈智等^[8]根据硬度,将龋坏牙本质分为软化牙本质(soft dentin)、皮革化牙本质(leathery dentin)、韧化牙本质(firm dentin)和硬化牙本质(hard dentin);并详细介绍了关于龋坏组织去除的新理念:已脱矿但结构完整的牙本质可以再矿化,应予以保留,由于粘接修复技术的使用,故无需过多去除牙齿硬组织;去龋时,窝洞侧壁应保留硬化牙本质,髓壁应保留韧化牙本质,近髓处可保留软化牙本质防止露髓。

目前,去除龋坏组织多采用涡轮机机械去龋和化学机械方法去龋^[9-11]。与前者相比,结合龋齿指示剂的使用,化学机械法去龋更精准、微创、无痛。最新研究发现,龋坏牙本质中的胶原纤维断裂破坏,木瓜蛋白酶可使破坏的胶原纤维水解,进而软化龋坏组织,使用手工器械即可刮除^[12]。因此,本研究对不同浓度的木瓜蛋白酶去龋能力进行了检测,并通过扫描电镜观察了慢速球钻去龋和木瓜蛋白酶去龋后牙本质表面的不同情况。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料和设备

离体牙(江苏省口腔医院颌面外科),木瓜蛋白酶(都莱生物公司),壳聚糖(美国 HARVEY),龋齿指示剂(美国皓齿公司 Sable Seek),低速切割机(美国标乐公司 IsoMet),标准型磁力搅拌器(北京大龙公司 MS-S),扫描电镜(美国 FEI)。

1.2 实验方法

1.2.1 木瓜蛋白酶凝胶的制备 配制 40 g/L 壳聚

[收稿日期] 2017-12-17; [修订日期] 2018-01-17
[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81371144)
[通讯作者] 于金华, Email: yujinhua@njmu.edu.cn

糖凝胶后,在上述凝胶中加入不同量的木瓜蛋白酶后充分搅拌,分别制成 10、30、50、100 g/L 的木瓜蛋白酶凝胶,4℃避光保存。

1.2.2 实验牙的选择及分组处理 在江苏省口腔医院颌面外科门诊,收集 50 例因牙周炎、牙体大面积缺损或阻生而拔除的有牙本质龋坏的前磨牙或磨牙(已获患者知情同意),且均为活髓牙。新鲜离体牙清洗干净牙周组织后放入提前预冷的无菌双蒸水中,4℃保存并尽快用于实验。将 50 例牙本质龋离体牙随机分成 40 g/L 壳聚糖凝胶组、10 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组、30 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组、50 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组、100 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组 5 组,每组 10 例。快速涡轮机去除牙釉质龋后,用低速切割器沿着牙本质龋坏部分的中心将每组牙齿纵切为两半,一半为对照组,使用慢速球钻去龋;另一半为实验组,使用不同浓度的木瓜蛋白酶凝胶去龋。

1.2.3 慢速球钻去龋 使用慢速球钻去除软化牙本质、皮革化牙本质、韧化牙本质,保留硬化牙本质。

1.2.4 木瓜蛋白酶凝胶去龋 将不同浓度的木瓜蛋白酶凝胶分别注入龋洞内,凝胶与龋坏牙本质充分作用 30 s,使龋坏牙本质软化,并使用小刮匙用很小的力量即可轻轻刮除,反复注入凝胶 3~4 次,直至木瓜蛋白酶凝胶不再使牙本质软化为止,最后通过所用的力度评估剩余牙本质的硬度。软化牙本质:在牙科器械加压时发生变形,使用尖锐的手用挖器用很小的力量即可刮除软化牙本质。皮革化牙本质:在牙科器械加压时不变形,无需太大力量即可被去除。韧化牙本质:在手用挖器刮除时有抵抗力,需要一定的力量才能去除。硬化牙本质:在牙科器械探查时需要加压,仅锋利器械或牙钻可以去除。探针加压划过牙本质时可以听到刺耳的刮擦音。

1.2.5 扫描电镜样本的制作与观察 对照组和实验组离体牙经去龋处理后干燥 24 h,将标本用导电胶固定于样品台上,真空喷金后,进行扫描电镜观察、摄片。

2 结 果

2.1 不同浓度木瓜蛋白酶软化去除牙本质龋后剩余牙本质硬度的比较

使用小刮匙轻轻刮除软化牙本质后,40 g/L 壳聚糖凝胶和 10 g/L 木瓜蛋白酶凝胶无法使韧化牙本质龋继续软化(图 1A、B);30 g/L 木瓜蛋白酶凝胶作用于韧化牙本质后可使其软化,使用小刮匙轻轻刮除被软化的牙本质后,牙本质硬度介于韧化牙

本质和硬化牙本质之间(图 1C);50 g/L 木瓜蛋白酶凝胶作用于牙本质龋,使用小刮匙轻轻刮除被软化的牙本质后,余牙本质层为硬化牙本质(图 1D);100 g/L 木瓜蛋白酶凝胶作用于牙本质龋,使用小刮匙轻轻刮除被软化的牙本质后,剩余牙本质层也为硬化牙本质(图 1E)。各组剩余牙本质使用龋齿指示剂染色后发现,40 g/L 壳聚糖凝胶和 10 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组剩余牙本质被龋齿指示剂着色;30 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组剩余牙本质部分着色;而 50 g/L 和 100 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组剩余牙本质不着色。

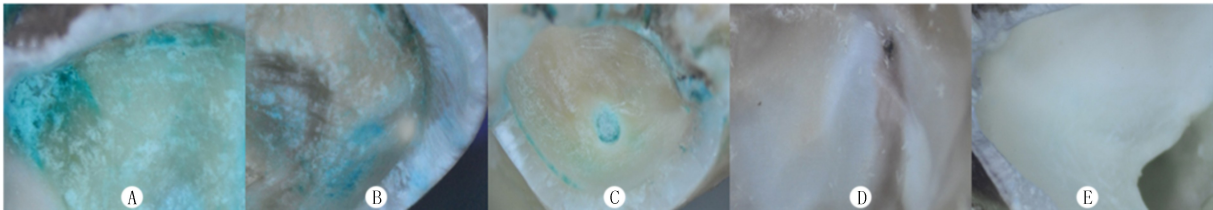
2.2 扫描电镜下观察

扫描电镜下,慢速球钻去龋和 50 g/L 木瓜蛋白酶凝胶化学机械去龋后,慢速球钻组牙本质表面较平坦(图 2A),牙本质玷污层较明显(图 2C);木瓜蛋白酶凝胶组牙本质表面凹凸不平(图 2B),牙本质玷污层较少(图 2D)。

3 讨 论

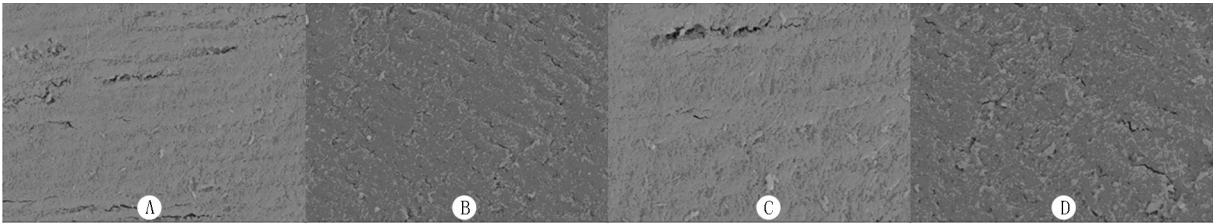
长期以来,去除龋坏组织常规采用单纯的机械方法,即使用高速或低速涡轮机机械磨除牙体组织,并预备出一定的固位形和抗力形^[13-14]。这种方法虽然能够快速去除龋坏组织,但磨牙时不能准确区分龋坏与健康的组织,常常过多地磨除健康牙体组织,并且容易对牙髓组织造成损伤^[15]。磨牙时还会出现令病人恐惧的疼痛感。而化学机械方法去龋在一定程度上能够避免单纯机械磨除法产生的上述问题^[16-18]。化学机械法通过化学材料作用于龋坏组织后,选择性地软化龋坏的牙本质,利用比较锐利的手工牙科器械就可将软化的龋坏牙本质刮除干净,并且不破坏健康的牙体组织,它是一种精准的、微创的去除龋坏组织方式,代表了口腔医学精准治疗的未来发展的趋势^[19-21]。

本研究结果表明,50 g/L 和 100 g/L 浓度的木瓜蛋白酶可以软化韧化牙本质,而对硬化牙本质无显著影响。对于牙本质浅层龋、中层龋,可以使用含有 50 g/L 的木瓜蛋白酶去除龋坏至硬化牙本质层,有效防止过多的破坏健康牙体组织。而对于近髓的牙本质深龋,应予以保留近髓处的软化牙本质,通过氢氧化钙间接盖髓术使牙本质再矿化,尽可能地保护牙髓组织,避免露髓的发生^[22]。研究表明,软化牙本质冠方的严密充填可以有效阻止龋损的进行性发展,这可能与粘结材料严密充填冠方的窝洞后,控制了剩余软化牙本质的生物膜和龋活性有关,使龋



A、B、C、D、E 分别为 40 g/L 壳聚糖凝胶组、10 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组、30 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组、50 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组、100 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组。

图 1 不同浓度木瓜蛋白酶去龋后牙本质着色程度



A、B、C、D 分别为慢速球钻组(放大 1 000 倍)、50 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组(放大 1 000 倍)、慢速球钻组(放大 2 000 倍)、50 g/L 木瓜蛋白酶凝胶组(放大 2 000 倍)。

图 2 恒牙去龋后牙本质表面形态

损不再进一步发展,软化牙本质得以再矿化^[23]。

本研究扫描电镜结果表明,木瓜蛋白酶去龋后,牙本质表面凹凸不平。粗糙的表面加大了粘结面积,使粘结剂、树脂与牙面间形成更加牢固的结合,这些情况更有利于窝洞侧壁的粘结修复,使充填更加严密^[24]。本研究还发现,经木瓜蛋白酶处理后的牙本质表面玷污层较少。众多研究表明,去除玷污层后有利于增加粘结强度。但也有研究认为,随着粘结技术的发现,玷污层不会对树脂粘结造成显著影响^[25-27]。

综上所述,木瓜蛋白酶能够选择性地去除龋坏牙本质,对硬化牙本质无显著影响,能够最大限度地保存健康牙体组织,可以成为一种精准、微创、安全无痛的去龋方式。

【参考文献】

[1] 周学东,凌均桢,梁景平,等. 龋病临床治疗难度因素及处理[J]. 华西口腔医学杂志, 2017,35(1):1-7.

[2] SCHMICKLER J, WURBS S, WURBS S, et al. Influence of the utilization time of different manual toothbrushes on oral hygiene assessed during a 6-month observation period: A randomized clinical trial[J]. J Periodontol, 2014, 85(8):1050-1058.

[3] 周兵,郭姗姗. 伢典在龋病治疗中的临床疗效观察[J]. 重庆医学, 2010,39(13):1721-1723.

[4] 林赳,余钊源,方欣怡,等. 儿童口腔健康相关生存质量量表信度与效度的验证研究[J]. 国际口腔医学杂志, 2017,44(4):445-451.

[5] 陈智,纪伟. 龋病的微创治疗[J]. 中国实用口腔科杂志, 2008, 1(10):586-589.

[6] 吴叶,梅予锋,吴新. Er:YAG 激光龋齿去腐对低龄儿童牙科焦虑症影响的初步观察[J]. 实用口腔医学杂志, 2016,32(4):586-589.

[7] LI T, ZHAI X, SONG F, et al. Selective versus non-selective removal for dental caries: A systematic review and meta-analysis[J]. Acta Odontol Scand, 2017,76(2):135-140.

[8] 陈智,卢展民,FALK SCHWENDICKE,等. 龋损管理:龋坏组织去除的专家共识[J]. 中华口腔医学杂志, 2016, 51(12):712-716.

[9] 华志祥,蔡传宝. 龋齿治疗中微创去腐技术的临床观察[J]. 口腔医学研究, 2016,32(6):652-653.

[10] RAVASINI F, FORNARI M, BONANINI M. Quantification of the amount of dental material removed by selective grinding in wax dentures with photogrammetric measurements[J]. Minerva Stomatol, 2016,65(6):335-342.

[11] BRIGNARDELLO-PETERSEN R. Stepwise caries removal seems to result in more successful treatments than nonselective caries removal 5 years after treatment[J]. J Am Dent Assoc, 2017,148(8):e109.

[12] 杨峰,史宗道. 用木瓜蛋白酶建立兔颞颌关节骨关节炎模型的研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2002,20(5):330-332.

[13] 倪佳文,朱亚琴. 去龋技术研究进展[J]. 中国实用口腔科杂志, 2015,8(7):435-438.

[14] 张青,区跃坚,张玲. 部分去龋法治疗恒磨牙深龋的疗效观察[J]. 上海口腔医学, 2017,26(3):321-323.

[15] 胡静,陈增力,刘继延,等. 不同去龋技术在乳牙龋病治疗中的应用疗效分析[J]. 现代生物医学进展, 2015,15(4):668-671.

[16] KVKS K, PRASAD M G, SANDEEP R V, et al. Chemomechanical caries removal method versus mechanical caries removal methods in clinical and community-based setting: A comparative in vivo study[J]. Eur J Dent, 2016,10(3):386.

[17] SCHWENDICKE F, SCHWEIGEL H, PETROU M A, et al. Selective or stepwise removal of deep caries in (下转第 33 页)

- for weighted correlation network analysis[J]. BMC Bioinformatics, 2008,9:559.
 - [13] LI A, HORVATH S. Network neighborhood analysis with the multi-node topological overlap measure [J]. Bioinformatics, 2007,23(2):222-231.
 - [14] YIP A M, HORVATH S. Gene network interconnectedness and the generalized topological overlap measure [J]. BMC Bioinformatics, 2007,8:22.
 - [15] STOREY J D, TIBSHIRANI R. Statistical significance for genomewide studies[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003,100(16):9440-9445.
 - [16] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. Genome Res, 2003,13(11):2498-2504.
 - [17] SZKLARCZYK D, FRANCESCHINI A, WYDER S, et al. STRING v10: Protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life[J]. Nucleic Acids Res, 2015,43(Database issue):D447-452.
 - [18] CUI X, CHURCHILL G A. Statistical tests for differential expression in cDNA microarray experiments[J]. Genome Biol, 2003,4(4):210.
 - [19] GAO L, FAN Y, HAO Y, et al. Cysteine-rich 61 (Cyr61) upregulated in pulmonary arterial hypertension promotes the proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells[J]. Int J Med Sci, 2017,14(9):820-828.
 - [20] REID S E, KAY E J, NEILSON L J, et al. Tumor matrix stiffness promotes metastatic cancer cell interaction with the endothelium[J]. EMBO J, 2017,36(16):2373-2389.
 - [21] KLINGENBERG R, AGHLMANDI S, LIEBETRAU C, et al. Cysteine-rich angiogenic inducer 61 (Cyr61): A novel soluble biomarker of acute myocardial injury improves risk stratification after acute coronary syndromes[J]. Eur Heart J, 2017,38(47):3493.
 - [22] WOO Y J, SEO Y, KIM J J, et al. Serum CYR61 is associated with disease activity in graves' orbitopathy[J]. Ocul Immunol Inflamm, 2017;1-7.
 - [23] LIN J, LI N, CHEN H, et al. Serum Cyr61 is associated with clinical disease activity and inflammation in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Medicine (Baltimore), 2015,94(19):e834.
 - [24] SAWAI K, MUKOYAMA M, MORI K, et al. Expression of CCN1 (CYR61) in developing, normal, and diseased human kidney[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2007,293(4):F1363-1372.
 - [25] 徐岩,国敏,董辉. 含胱氨酸蛋白 61 对缺氧状态下肾小管上皮细胞的保护作用[J]. 中华肾脏病杂志, 2015,31(6):451-455.
 - [26] 徐岩,沈学飞,宋年华. 富含半胱氨酸蛋白 61 对人肾小管上皮细胞增殖与细胞周期的影响[J]. 中华肾脏病杂志, 2013,29(4):273-276.
 - [27] 徐岩,沈学飞,宋年华. 富半胱氨酸蛋白 61 对转化生长因子 β 1 诱导肾小管上皮细胞凋亡的影响[J]. 中华肾脏病杂志, 2012,28(10):813-814.
 - [28] MA R, ZHANG J, LIU X, et al. 7,8-DHF Treatment induces Cyr61 expression to suppress hypoxia induced ER stress in HK-2 cells[J]. Biomed Res Int, 2016,2016:5029797.
 - [29] LAI C F, CHEN Y M, CHIANG W C, et al. Cysteine-rich protein 61 plays a proinflammatory role in obstructive kidney fibrosis[J]. PLoS One, 2013,8(2):e56481.
 - [30] KEENAN S W, HILL C A, KANDOTH C, et al. Transcriptional responses of the heart and brain to anoxia in the western painted turtle[J]. PLoS One, 2015,10(7):e0131669.
 - [31] KIM I, LEE S H, JEONG J, et al. Functional profiling of human MeCP2 by automated data comparison analysis and computerized expression pathway modeling [J]. Healthc Inform Res, 2016,22(2):120-128.
 - [32] JONGBLOETS B C, VAN GASSEN K L, KAN A A, et al. Expression profiling after prolonged experimental febrile seizures in mice suggests structural remodeling in the hippocampus[J]. PLoS One, 2015,10(12):e0145247.
- (本文编辑 厉建强)
-
- (上接第 27 页)
- deciduous molars: Study protocol for a randomized controlled trial[J]. Trials, 2015,16(1):11.
- [18] 谷楠,刘富萍,张宇娜,等. 儿童牙科焦虑症的治疗及其研究进展[J]. 国际口腔医学杂志, 2015,42(5):575-577.
 - [19] 罗雍凤,张红梅,林居红. 应用显微硬度比较化学机械法与传统机械法去龋效果的研究[J]. 重庆医科大学学报, 2014(8):1186-1188.
 - [20] 刘元元,刘生波,王莉. 显微超声去龋技术的临床应用评价[J]. 口腔医学研究, 2017,33(4):375-377.
 - [21] DOSTIE S, ALKADI L T, OWEN G, et al. Chemotherapeutic decontamination of dental implants colonized by mature multispecies oral biofilm[J]. J Clin Periodontol, 2015,44(4):403-409.
 - [22] AND A G K, KIRKPATRICK R J. Molecular dynamics modeling of chloride binding to the surfaces of calcium hydroxide, hydrated calcium aluminate, and calcium silicate phases[J]. Chem Mater, 2015,14(8):3539-3549.
 - [23] 聂二民,姜瑞,张春元,等. 比较 5 种不同盖髓剂长期护髓的差异[J]. 中国组织工程研究, 2015,19(16):2557-2561.
 - [24] DA F C, COLARES V, VAN A E. Two-year evaluation of the atraumatic restorative treatment approach in primary molars class I and II restorations[J]. Int J Paediatr Dent, 2011,21(4):249-253.
 - [25] 宋丹丹,邱大鹏,方慧敏,等. Er:YAG 激光处理对牙本质与树脂粘结强度的影响[J]. 口腔医学研究, 2017,33(6):629-632.
 - [26] 周群,于月,马琳. 自粘结树脂水门汀粘结强度的体外评价[J]. 口腔医学, 2014(s1):34-37.
 - [27] 伊哲,朱琳琳,李柯檬. 四种自酸蚀粘接剂的粘接强度耐久性实验研究[J]. 中国实用口腔科杂志, 2015,8(6):358-362.
- (本文编辑 厉建强)