

探讨二磷酸腺苷调控羟基磷灰石实现 牙釉质再矿化硬度和修复形貌

毛凯一*

(慈溪华阳口腔医院, 慈溪 315300)

摘要:目的 探究二磷酸腺苷调控羟基磷灰石在牙釉质的脱矿和再矿化中的作用与机理,以阻止牙釉质进一步脱矿及预防龋病发生。**方法** 通过二磷酸腺苷调控羟基磷灰石纳米颗粒的组装和融合,实现釉质原位再矿化,通过SEM形貌分析和硬度测试来证明其原位矿化效果。**结果** 本文通过硬度测试与SEM形貌分析,发现使用二磷酸腺苷调控羟基磷灰石的再矿化手段使得牙齿硬度与未脱矿的牙齿硬度基本持平,形貌也与未脱矿的牙齿形貌接近,平整且无脱矿后的粗糙表面。**结论** 使用二磷酸腺苷调控羟基磷灰石能够实现牙齿的再矿化,能够恢复至脱矿前的牙齿硬度和形貌水平。

关键词: 二磷酸腺苷; 羟基磷灰石; 牙釉质; 原位再矿化; 仿生矿化

0 引言

牙釉质是人体最坚硬的组织,覆盖在牙冠外层,主要成分为羟基磷灰石($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$),占牙釉质质量的95%^[1]。它具有承受咀嚼压力、抗磨损和耐酸腐蚀的优势,但由于其无细胞结构,一旦受损无法自我修复。牙釉质的主要功能是保护牙本质和牙髓,防止细菌侵入。损伤可能导致牙本质暴露,引发敏感、龋齿和牙髓炎等问题^[2-3]。尽管牙釉质硬度高,但在酸性环境中容易脱矿,尤其是由细菌代谢产酸引起的脱矿,糖类和碳水化合物的摄入加剧此过程,胃酸反流和正畸治疗也是常见原因^[4-5]。

为应对脱矿,口腔医学发展了再矿化策略,最常用的是氟化物治疗,能生成抗酸的氟磷灰石,预防脱矿^[6-7]。但氟化物治疗对严重脱矿效果有限,且过量使用可能导致副作用^[8-9]。钙、磷离子补充疗法也是一种治疗方法^[10-11],但再沉积效果差,难以修复深层脱矿。仿生矿化技术近年来受到关注,通过模拟自然矿化过程,使用生物相容材料调控无机晶体的沉积,能更好地恢复牙釉质结构。

其中,两性分子因其同时具有亲水和亲脂的特性。通过对两性分子的调控作用,可以有效控制羟基磷灰石晶体的尺寸、形态和排列方式^[12-13],使其更接近于天然牙釉质的结构。

这不仅提高了再矿化的效率,还能恢复脱矿牙釉质的力学性能^[14]。本研究开发一种基于两性分子(二磷酸腺苷)调控的原位再矿化方法,通过调控羟基磷灰石纳米颗粒的组装与沉积,实现对脱矿牙釉质的有效修复。其中二磷酸腺苷本身是人体中的重要组成部分,具有生物相容性,对人体也无害。本研究将通过硬度测试与SEM形貌分析,发现使用二磷酸腺苷调控羟基磷灰石的再矿化手段使得牙齿硬度与未脱矿的牙齿硬度基本持平,形貌也与未脱矿的牙齿形貌接近,平整且无脱矿后的粗糙表面,说明了其在牙釉质表面形成类天然晶体结构的能力,以及其对牙釉质硬度恢复和修复形貌的作用,为利用羟基磷灰石实现牙釉质再矿化的提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与器械

研究中使用的主要材料包括:3',5'-二磷酸腺苷(购买自阿拉丁试剂)、羟基磷灰石纳米颗粒(水性糊状物, $D < 50 \text{ nm}$, 30 wt.%, 购买自阿拉丁试剂)、人工唾液(采用ISO/TR 10271标准人工唾液配方: 0.4 g NaCl、0.4 g KCl、0.795 g CaCl_2 、0.7 g NaH_2PO_4 、0.005 g Na_2S 、1 g 尿素加蒸馏水定容至1000 mL,利用NaOH调节溶液pH到7.0)、酸性脱矿溶液(2.2 mmol/L $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、2.2 mmol/L KH_2PO_4 、50 mmol/L 醋酸,利用NaOH

基金项目:慈溪市科技计划项目(CN2018028)

*通信作者:毛凯一,主治医师,研究方向为口腔医学。E-mail: dentist_mao@164.com

调节溶液 pH 到 4.5)。其中配置溶液的药品均购买自阿拉丁试剂。

扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM) 使用 FEI 的 Apreo 场发射扫描电子显微镜；显微维氏硬度计使用岛津的 HMV-30 显微维氏硬度计；离心机使用中科中佳 HC-3518 高速离心机。

1.2 方法

1.2.1 普通羟基磷灰石溶液与改性羟基磷灰石纳米颗粒溶液制备

将购买的羟基磷灰石纳米颗粒溶液稀释于人工唾液中，稀释至 5 wt.%，得到普通羟基磷灰石溶液。

将购买的羟基磷灰石纳米颗粒溶液稀释于水中，稀释至 5 wt.%，加入一定量 3',5'-二磷酸腺苷，使得 3',5'-二磷酸腺苷的浓度与羟基磷灰石纳米颗粒相当，使 3',5'-二磷酸腺苷充分吸附在羟基磷灰石纳米颗粒上。搅拌 6 小时后，使用 10000 r/min 离心 20 分钟，去除上清液，保留沉淀，将沉淀用清水洗多次，确保残留的未被吸附的二磷酸腺苷会被洗走。将沉淀放于烘箱干燥。

将沉淀研磨成粉再溶于人工唾液溶液中，配置成浓度分别为 1 wt.% 和 5 wt.% 的改性羟基磷灰石纳米颗粒溶液。

1.2.2 釉质脱矿模型构建

从健康人类牙齿中切取牙釉质样本 (设为空白对照组)，将其浸泡在酸性溶液中 96 小时，模拟牙釉质脱矿过程，形成局部缺损区域 (设为 A 组)。通过显微镜观察，记录脱矿前后的牙釉质结构变化。每个组样本量为 5 个。

1.2.3 原位再矿化实验

将脱矿的牙釉质样本浸泡于含有普通羟基磷灰石纳米颗粒的模拟唾液溶液中 (设为 B 组)；将脱矿的牙釉质样本浸泡于浓度分别为 1 wt.% 和 5 wt.% 的改性羟基磷灰石纳米颗粒的模拟唾液溶液中 (分别设为 C 组和 D 组)，每个组样本含量为 5 个。

观察类釉质晶体的形成与沉积过程。通过调控羟基磷灰石纳米颗粒的模拟唾液溶液的作用时间，优化再矿化效果。优化后设置统一的作用时间为 96 小时，以便进行对比。

1.2.4 SEM 分析和硬度测试

使用扫描电子显微镜 (SEM) 对普通羟基磷灰石纳米颗粒、改性羟基磷灰石纳米颗粒以及再矿化后的牙釉质表面进行成像分析。样品制备过程中，通过在其表面镀上一层导电材料 (如金或碳)，以提高电子导电性和图像分辨率。随后，利用 SEM 在不同放大倍数下观察纳米颗粒在磷灰石晶体结构中的生长模式、晶体形貌以及沉积行为。

为了评估牙釉质的硬度，使用显微硬度仪进行测试。将普通羟基磷灰石纳米颗粒、改性羟基磷灰石纳米颗粒以及再矿化

后的牙釉质样品打磨至平滑表面，并在特定载荷下使用金刚石压头进行压痕测试。在显微镜下测量压痕尺寸以计算维氏硬度值。为了确保测试的准确性和重复性，在每个样品的不同位置进行多次测量。该方法能够定量评估再矿化处理对牙釉质硬度的影响。

2 结果与分析

2.1 SEM 分析结果

(1) 通过扫描电子显微镜 (SEM) 测试了普通羟基磷灰石纳米颗粒和改性羟基磷灰石纳米颗粒沉积在普通玻璃基底上的表面形貌 (如图 1)。发现通过二磷酸腺苷自组装的羟基磷灰石纳米颗粒容易团聚，更具有附着力。

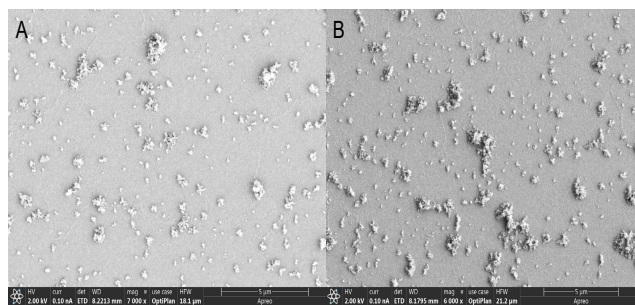


图 1 普通羟基磷灰石纳米颗粒(A)与改性羟基磷灰石纳米颗粒(B)样品对应的 SEM 图

相比于普通羟基磷灰石纳米颗粒，通过二磷酸腺苷改性的羟基磷灰石纳米颗粒，尺寸稍大一些，这可能是因为二磷酸腺苷可以连接多个羟基磷灰石颗粒，从而使得多个羟基磷灰石颗粒能够团聚，这也从另一个侧面体现出使用二磷酸腺苷提高了羟基磷灰石表面的附着力。这说明了这种方法用于矿化修复牙釉质表面的潜力。

(2) 通过 SEM 观察，脱矿后的牙釉质表面呈现明显的晶体结构流失，表面粗糙且存在较大的缺损区域。而经过普通羟基磷灰石纳米颗粒和改性羟基磷灰石纳米颗粒处理后，样本表面出现了类牙釉质的结晶沉积 (如图 2)。这些晶体与天然牙釉质的结构相似，呈现出紧密的纳米结构，填充了原本的缺损区域，表面变得平滑致密。

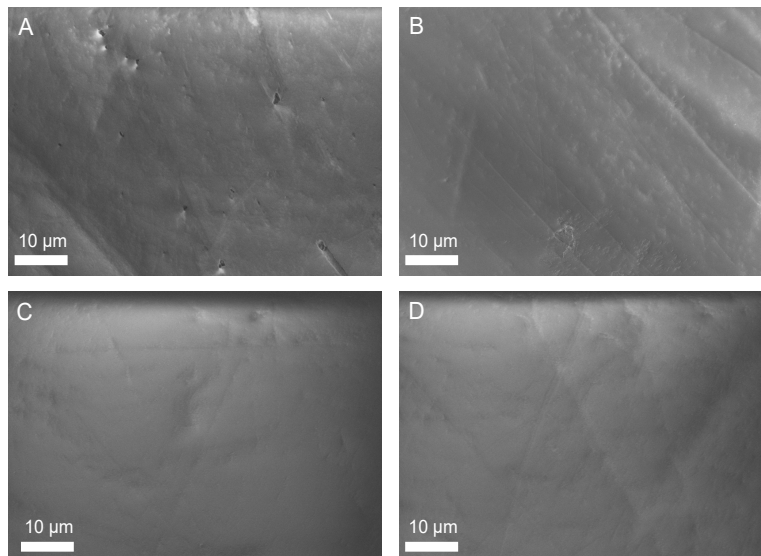
本研究发现空白对照组样品在被酸腐蚀了 96 h 后得到 A 组样品，其表面会有明显的孔洞，其表面粗糙度也有所提升。而 A 组样品经过普通羟基磷灰石纳米颗粒再矿化修复处理后得到的 B 组样品，其表面孔洞也有所减少，但是仍有不少孔洞未被再矿化。而经过了改性羟基磷灰石纳米颗粒的再矿化修复处理后，无论是 C 组还是 D 组样品相对于 A 组样品和 B 组样品，都大大减少了孔洞的数量，进一步体现了优越的再矿化效果。同时，发现 C 组和 D 组样品的再矿化效果基本相同，这说明可以在更低的羟基磷灰石纳米颗粒溶液浓度下实现一样的再矿化

效果，这在临床试验中具有一定的实用意义。这不仅能降低成本，还能减少对人体的不必要的药物输入。

2.2 硬度测试结果

硬度测试结果显示，脱矿后的牙釉质样本硬度明显降低，

而经过再矿化处理后，硬度显著回升，接近天然牙釉质的硬度水平(如图3和表1)。这表明二磷酸腺苷调控的羟基磷灰石纳米颗粒，对比于普通羟基磷灰石纳米颗粒和对照组都能够有效地恢复牙釉质的力学性能。



注：(A)A组样品脱矿后被酸腐蚀后的牙釉质表面；(B)B组样品脱矿后被酸腐蚀后被普通羟基磷灰石再矿化后的牙釉质表面；(C)C组样品脱矿后被酸腐蚀后被1 wt.%的浓度的改性羟基磷灰石再矿化后的牙釉质表面；(D)D组样品脱矿后被酸腐蚀后被5 wt.%的浓度的改性羟基磷灰石再矿化后的牙釉质表面。

图2 不同条件下牙釉质表面 SEM 图

表1 不同样品的维氏硬度测试结果

样本	平均维氏硬度(HV)	维氏硬度标准差
空白对照组	408.45	16.19
A组(脱矿后)	312.67	13.95
B组	355.52	8.86
C组	405.68	12.58
D组	411.27	11.49

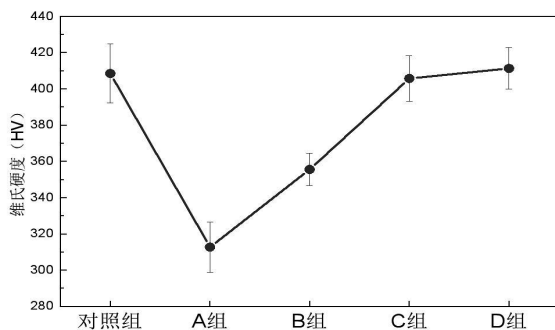


图3 不同样品组的维氏硬度测试结果

通过测量未经脱矿的空白对照组，经过脱矿被酸腐蚀后的A组，经过脱矿被酸腐蚀后被普通羟基磷灰石纳米颗粒溶液再矿化修复的B组，经过脱矿被酸腐蚀后被1 wt.%的改性羟基磷灰石纳米颗粒溶液再矿化修复的C组和经过脱矿被酸腐蚀后被

5 wt.%的改性羟基磷灰石纳米颗粒溶液再矿化修复的D组对应的维氏硬度。发现和前面的SEM结果一致，空白对照组样品在被酸腐蚀了96 h后得到A组样品硬度有明显的降低，相对于空白对照组的408.45 HV的平均维氏硬度，A组样品仅为空白组照度的平均维氏硬度的76%，为312.67 HV。B组样品在经过普通羟基磷灰石纳米颗粒溶液的再矿化修复后，平均维氏硬度恢复了43 HV，达到了355.52 HV的硬度。C组样品和D组样品在经过分别为1 wt.%和5 wt.%的浓度的改性羟基磷灰石纳米颗粒的溶液的再矿化修复，基本达到了未被脱矿腐蚀的水平，分别为405.68 HV和411.27 HV的维氏硬度。

3 讨论

3.1 两亲性分子的作用机制

在本研究中，实验结果验证了两亲性分子在牙釉质再矿化过程中的关键调控作用。具体来说，二磷酸腺苷作为一种两亲性分子，其独特结构具备亲水和亲脂两端。实验中，通过SEM图像观测和对比图1A与图1B发现，二磷酸腺苷改性后的羟基磷灰石纳米颗粒相比普通颗粒更具附着力，尤其是在模拟脱矿的牙釉质表面上，能够形成更加紧密的晶体结构，使得牙釉质表面得到了修复。这一特性使得脱矿区域的缺损得到了有效的填充。两亲性分子的亲水端能够与纳米颗粒表面结合，保持

颗粒在溶液中的稳定性,防止颗粒在口腔环境中聚集或沉淀。而其亲脂端则有助于与牙釉质的有机基质形成紧密结合,促进颗粒的定向沉积,模拟牙釉质的天然矿化过程。实验结果表明,这种调控方式使得羟基磷灰石晶体能够有效沉积在脱矿表面,提高了再矿化的效率,并且形成的晶体结构更接近天然牙釉质。

3.2 改性羟基磷灰石纳米颗粒的再矿化优势

实验中的再矿化效果对比进一步展示了改性羟基磷灰石纳米颗粒的显著优势。SEM 图像表明(图 2),将图 2D 和图 2C 对比,可以发现经过改性颗粒处理后的样本表面显示出类牙釉质晶体的高度紧密结构,与天然牙釉质高度相似,且填充了原本的缺损区域。这表明二磷酸腺苷改性的颗粒能够有效引导晶体的有序沉积,修复脱矿区域的微观结构。在硬度测试中(图 3 与表 1),使用改性颗粒的 C 组和 D 组样本的硬度恢复接近未脱矿的天然牙釉质,甚至在低浓度的情况下(如 1 wt.%),再矿化效果也几乎达到与高浓度(如 5 wt.%)相当的水平,平均维氏硬度基本恢复到 400 HV 的硬度。这不仅在临床应用中有助于减少材料使用,降低治疗成本,同时也减少了人体对外源性物质的摄入量,提升了患者的接受度和舒适度。此外,改性羟基磷灰石纳米颗粒的再矿化过程能够恢复牙釉质的纳米结构,从而提升釉质的耐磨性和抗酸性,进一步延长了修复后的牙釉质的使用寿命。

3.3 可能的副作用与局限

尽管本研究展示了仿生矿化策略在牙釉质修复方面的潜力,但其可能的副作用和局限性依然不可忽视。首先,尽管实验表明二磷酸腺苷改性后的颗粒在体外环境下对牙釉质具有良好的再矿化效果,但在口腔内的复杂环境下,诸如唾液、口腔菌群、饮食习惯等因素可能对材料的效果产生影响。此外,虽然低浓度改性颗粒(如 1 wt.%)已经展示了与高浓度颗粒(如 5 wt.%)相近的修复效果,但仍需在临床试验中进一步验证其在长期使用中的稳定性和安全性。特别是,二磷酸腺苷的长期留存是否会对口腔软组织产生潜在的不良反应仍需通过更广泛的研究进行确认。这些问题的解决对于仿生矿化技术从实验室走向临床应用至关重要。

4 结论

本研究通过二磷酸腺苷分子调控羟基磷灰石纳米颗粒,成功实现了牙釉质的原位再矿化。实验结果表明,该方法能够有效恢复脱矿釉质的结构和硬度,具有显著的再矿化效果。未来的研究将进一步优化材料的生物相容性与临床应用性能,以期对龋齿的预防和治疗提供更有效的解决方案。

参考文献

- [1] PEPLA E, BESHARAT LK, PALAIA G, *et al.* Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative and regenerative dentistry: A review of literature [J]. *Annali Di Stomato*, 2014, 5: 108.
- [2] DALIR ABDOLAHINIA E, ILBEYGI TAHER S, ABDALI DEHDEZI P, *et al.* Strategies and challenges in the treatment of dental enamel [J]. *Cells Tissues Organs*, 2023, 212(06): 485-498.
- [3] BENIASH E, STIFLER CA, SUN CY, *et al.* The hidden structure of human enamel [J]. *Nat commun*, 2019, 10: 4383.
- [4] KRUZIC JJ, HOFFMAN M, ARSECULARATNE JA. Fatigue and wear of human tooth enamel: A review [J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2023, 138: 105574.
- [5] 李全利. 牙釉质再矿化的过去,现在与未来 [J]. *口腔材料器械杂志*, 2023, 32: 77-85.
- [6] LYARUU DM, MEDINA JF, SARVIDE S, *et al.* Barrier formation: Potential molecular mechanism of enamel fluorosis [J]. *J Dent Res*, 2014, 93(01): 96-102.
- [7] 蔺孝慧, 杨梦源, 李春年. 仿生再矿化治疗在牙釉质早期脱矿的作用及机制 [J]. *中国组织工程研究*, 2025, 29(04): 856.
- [8] CREETH J, KELLY S, MARTINEZ-MIER E, *et al.* Dose-response effect of fluoride dentifrice on remineralisation and further demineralisation of erosive lesions: A randomised in situ clinical study [J]. *J Dent*, 2015, 43(07): 823-831.
- [9] 伍廷芸, 王德堂, 朱友家, 等. 不同非含氟护牙剂对牙釉质酸蚀后再矿化效果影响的体内试验 [J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(18): 2842.
- [10] ABDALLA MM, BIJLE MN, ABDALLAH NM, *et al.* Enamel remineralization potential and antimicrobial effect of a fluoride varnish containing calcium strontium silicate [J]. *J Dent*, 2023, 138: 104731.
- [11] XIE B, HALTER TJ, BORAH BM, *et al.* Tracking amorphous precursor formation and transformation during induction stages of nucleation [J]. *Cryst Growth Des*, 2014, 14(04): 1659-1665.
- [12] KRAUS T. Ionic glue [J]. *Nat Chem*, 2021, 13: 925-926.
- [13] HARTGERINK JD, BENIASH E, STUPP SI. Self-assembly and mineralization of peptide-amphiphile nanofibers [J]. *Science*, 2001, 294: 1684-1688.
- [14] LI QL, NING TY, CAO Y, *et al.* A novel self-assembled oligopeptide amphiphile for biomimetic mineralization of enamel [J]. *BMC Biotechnol*, 2014, 14: 1-11.