

壳聚糖用于口腔疾病治疗中的研究现状

Recent studies on application of chitosan in dental therapy

张明珠 综述 段开文 欧炯光 审校

(昆明医学院第一附属医院, 云南 650032)

【摘要】 壳聚糖因具有良好生物相容性以及多种生物学功能, 已作为一种生物材料应用于口腔领域中, 本文结合国内外文献资料就壳聚糖用于口腔疾病治疗中的研究现状作一综述, 包含在龋病、牙周病、粘膜病治疗中的应用。

【关键词】 壳聚糖 牙周病 粘膜病 龋病

壳聚糖是甲壳类、昆虫类动物外壳及真菌细胞壁基质成分甲壳素 N-脱乙酰基化物, 属于基本碱性氨基多糖类物质, 在体内溶菌酶、甲壳酶作用下水解成低聚糖。在化学结构上壳聚糖较不活泼, 不与体内液体发生反映, 不刺激组织, 不蓄积, 有良好的生物相容性; 同时壳聚糖本身具有生物活性, 可促进血管内皮的生长、角质细胞、成骨细胞^[1-3]的增生, 还有消炎、止血、抗菌、调节免疫功能等特性^[4-7]。已被用于预防组织粘连、治疗肿瘤、促进骨修复、神经缺损修复等。此外, 壳聚糖还具有高粘性, 可作为药物控释载体或辅料应用于制药工业^[8]。比较医学和药学领域, 壳聚糖在口腔医学方面的应用研究起步较晚。但近十年来越来越受到口腔学者的重视, 本文结合国内外文献资料就此方面的最新进展进行综述。

1 壳聚糖用于牙周病治疗中的研究现状

1.1 壳聚糖作为药物控释载体

有效地去除龈上和龈下菌斑是牙周病治疗的主要手段之一, 然而全身长期使用抗生素不仅存在副作用的危险, 而且局部药物浓度较低。因此, 寻求有效的利于局部使用的控释药物一直是牙周病学治疗方面关注的焦点。利用壳聚糖具有的生物粘附性, 已将其作为全身或局部治疗需要、经口腔给药的控释输送系统载体^[9]。Perugini 等^[10]报道利用壳聚糖凝胶或膜作为脂溶性药物的载体可延长该药物在牙周袋中的存留时间。Kelly 等^[9]采用壳聚糖和四环素药物控释系统来治疗狗实验性牙周炎, 该药物室温下可保持流动性, 当复合药物注入牙周袋内后随温度升高而变为凝胶状, 其复合物在牙周袋内可缓慢释放

抗生素, 其释放药物的有效时间可达 6 周, 可维持有效的药物浓度水平, 并显示出良好的抗菌效果。

1.2 壳聚糖体外抗菌特性

壳聚糖作为牙周控释药物载体, 不仅具有其他药物载体的理化及生物性能, 还具有一定的抗牙周病致病菌的作用之优点。壳聚糖对牙周两种特导致病菌牙龈卟啉菌和伴放线放线杆菌有明显的抑制效果。Ikinci 等^[11]将壳聚糖与洗必泰联合应用, 在壳聚糖凝胶或膜中加入 0.1%~0.2% 的洗必泰, 观察了其复合物对牙龈卟啉菌的抗微生物活性。结果显示高分子量壳聚糖对牙龈卟啉菌有抑制作用, 壳聚糖与洗必泰联合应用, 比单独使用洗必泰的抗菌活性高, 两者结合可降低洗必泰的浓度, 避免其副作用(如染色、味觉改变), 同时又不改变洗必泰的抗微生物作用, 其壳聚糖凝胶或膜可作为牙周袋药物的控释剂, 维持药物浓度并发挥其抗微生物特性。

伴放线放线杆菌包含较多的致病毒力因子, 主要有脂多糖(内毒素)和非内毒素的骨吸收因子、白细胞毒素、成纤维细胞抑制因子。这些毒力因素破坏了龈沟中的正常抵御能力, 再加之其他合并感染因素的存在, 遂使此菌在部分青少年牙周炎或成年人破坏性牙周炎中起重要作用。Choi 等^[12]观察了壳聚糖对伴放线放线杆菌的抑制作用, 将 0.1% 的壳聚糖作用于大约 2 个单位菌落 (CFU)/ml 的伴放线放线杆菌, 30min 后可使其失活, 而 4.5CFU/ml 则需 120min, 电子显微镜显示壳聚糖可使伴放线放线杆菌细胞膜破裂, 可见壳聚糖对牙周致病菌有抑制作用。

1.3 壳聚糖在牙周再生中的作用

促进牙周组织再生, 重建因疾病丧失的牙周组

织功能是牙周病治疗的理想目标。牙周诱导再生术被认为是最有效的获得牙周组织再生的途径,而 GTR(引导性组织再生术)膜的性能又是 GTR 成功的关键。目前,一些学者对壳聚糖在这方面的潜在的应用价值进行了探索。

1.3.1 作为 GTR 膜:杨丕山等^[13,14]动物实验研究表明,壳聚糖膜作为 GTR 膜材料,具有较好的生物降解性和组织相容性,壳聚糖复合膜能起到 GTR 膜的作用,防止牙龈结缔组织细胞进入牙周骨缺损区,允许牙周韧带细胞和牙槽骨细胞长入,进而促进牙周再生。与目前国内应用的胶原膜相比,胶原膜因降解速度快而不能达到其应有的最大效果,而壳聚糖降解速度慢,壳聚糖膜埋藏在体内 60 天后可降解 40%,4~6 个月完全降解,并且因降解性引起的组织学反应符合可吸收性生物材料的一般规律,因此可有效的发挥作用。Park 等^[15]将壳聚糖复合物应用于 beagle 狗的一壁骨缺陷治疗中收到了良好的治疗效果,可抑制上皮细胞根方迁移,新骨形成、新的牙骨质形成,表明壳聚糖具有促进牙周组织再生的能力。

1.3.2 对牙周膜成纤维细胞的作用:牙周膜成纤维细胞是一具有多分化潜能的异质性的多能干细胞,可分化成骨细胞,成牙骨质细胞以及成纤维细胞,其在形成牙周新附着中起着至关重要的作用^[16]。Hamano 等^[17]研究发现加入维生素 C 复合硫化壳聚糖可促进人牙周膜成纤维细胞生长,复合壳聚糖基质可控制细胞的增殖、形态和分化。我们的实验表明壳聚糖抑制人牙周膜成纤维细胞增殖,但壳聚糖可提高人牙周膜成纤维细胞的 ALP(碱性磷酸酶活性)的活性。当壳聚糖和 bFGF(碱性成纤维细胞生长因子)联合作用后,既可促进人牙周膜成纤维细胞的增殖,又可促进人牙周膜成纤维细胞的 ALP 的活性和 OC(骨钙素)的合成,表明两者结合可促进人牙周膜成纤维细胞向成骨细胞转化。壳聚糖和 bFGF 联合应用于牙周治疗将可能明显提高牙周治疗效果。

1.3.3 促进牙周骨再生作用:Sturm 等^[18]研究表明壳聚糖促进骨原细胞转化为成骨细胞,并可促进骨形成。Park^[19]等报道含 PDGF-BB(血小板衍生生长因子-BB)的壳聚糖海绵可明显提高细胞的附着和增殖水平,并可促进新骨形成和促进骨快速矿化,表明含 PDGF-BB 的壳聚糖海绵可能有助于牙槽骨再生。

1.4 壳聚糖作为组织工程支架材料

组织工程是近年来继基因工程之后取得重大技术突破的生命科学新领域、新的研究热点。组织工程

的三大要素是:具有增殖分化潜能的种子细胞、细胞外基质材料、组织器官的形成和再生。简单概括即在一定的支架材料中符合具有增殖分化能力的种子细胞,于构建具有活力的组织器官,然后植入到所需修复的组织或器官处直接发挥作用、促进组织器官的修复再造。目前已有将壳聚糖作为一种较好的生物材料应用于牙周组织工程中的报道^[19]。Pal 等^[20]将壳聚糖与羟基磷灰石(HA)结合体应用于牙周骨缺陷部位,作为一种重要的骨支架替代品,壳聚糖与 HA 结合可使 HA 颗粒固定于术区,既可发挥 HA 的成骨性和生物特性,又可表现出壳聚糖的生物相容性,在临床应用方面有很好的应用前景。Ito 等^[21]将壳聚糖与 HA、氧化钙、氧化锌按一定比例混合,可形成一种快速硬化的膏状物,该混合物的 PH 值为中性,抗压强度高。这种混合物可用来治疗牙周缺陷和扩大无牙合牙槽嵴,这样可减少粒状 HA 的移动,并且有助于移植体的塑性。Xu 等^[22]将壳聚糖乳酸盐与磷酸钙(CPC)结合来克服磷酸盐的脆性,可增加 CPC 的抗压强度、柔韧性、弹性模量,有助于防止移植体的折断,符合牙齿可动性的特性,可扩展 CPC 应用,可对一些压力承受区且伴有大的缺陷部位进行修复。

2 壳聚糖在口腔粘膜病防治中的作用

与牙周袋内的控释药物一样,由于口腔特殊环境及唾液的冲洗作用,口腔粘膜损害局部治疗药物疗效的关键仍在于药物存留时间的长短。壳聚糖不仅具有良好的生物粘附性和成膜性,以及广泛的抗菌性,而且也被证实具有促进角质细胞生长的作用^[6],因而具有作为口腔粘膜控释药物载体优越特性。Olsen 等^[23]将壳聚糖作为抗氧化剂的控释体,壳聚糖和牛黄酸协同作用可防止口腔上皮受损。谭葆春等^[24]将壳聚糖作为膜载体,加入芦荟、表皮生长因子(EGF)等药物制备口腔复合膜,并通过建立口腔溃疡的动物模型,观察复合药膜对实验性口腔溃疡愈合的影响。结果显示壳聚糖复合药膜可明显促进实验性口腔溃疡愈合。

3 壳聚糖在龋病防治中的作用

壳聚糖在口腔中的溶菌酶作用下,可发生生物降解,其代谢产物和壳聚糖本身都含有氨基呈碱性,可中和部分酸,从而提高菌斑 PH 值。**羧甲基壳聚糖对口腔变形链球菌和口腔乳酸杆菌的有抑制作用。**

Taris等^[25]观察了低分子量的壳聚糖及其衍生物在防止变形链球菌吸附到 HA 柱的作用,发现将唾液包被的羟基磷灰石或未包被的羟基磷灰石柱用壳聚糖处理后,粘附的变链数量明显的减少,可减少 47%~66%,且只要少量的壳聚糖就可以抑制变形链球菌吸附到羟基磷灰石上。Choi 等^[12]观察到 1%的壳聚糖作用变形念球菌,120min 后可使变形链球菌失活。Sano 等^[26]报道用 0.5%壳聚糖漱口 14 天,可明显降低实验者口腔中菌斑的形成,唾液中的变形链球菌也低于对照组,表明壳聚糖可开发作为抗菌剂应用于口腔中。壳聚糖本身具有广普抗菌作用,有人认^[27]可能因为壳聚糖在酸性条件下,壳聚糖分子中的质子化铵具有正电性,吸附带有负电荷的细菌,使细菌细胞壁和细胞膜上的负电荷分布不均,干扰细胞壁的合成,打破自然状态下细胞壁合成与溶解平衡,使细胞壁趋向于溶解,细胞膜因不能承受渗透压而变形破裂,细胞的内容物如水、蛋白质等渗出,发生细胞溶解而死亡。也有人认为壳聚糖吸附细菌后,进入细菌细胞内可能与 DNA 形成稳定的复合物,干扰 DNA 聚合酶或 RNA 聚合酶的作用,阻碍 DNA 和 RNA 的合成,从而抑制细菌繁殖^[28]。所以有人认为壳聚糖可作为一种抗龋制剂来开发^[29]。Mattioli 等^[30]报道磷酸钙和壳聚糖经酸处理后制成的糊剂,在室温下变硬,经扫描电镜和 X 光片分析所制成的钙磷灰石糊剂硬度超过松质骨,作者认为该糊剂可应用于牙髓病和修复牙医学中。

4 展望

目前,壳聚糖在口腔医学领域中的应用研究已涉及到骨缺损修复、菌斑控制、牙周再生和控释药物载体等诸多方面,显示了壳聚糖的应用前景。但由于对其理化结构、生物降解性等尚未清楚,使其在体内的降解时间难控制,有待随着材料科学的发展得到解决。其次,壳聚糖用于口腔疾病治疗中大多处于实验室和动物实验研究阶段,需要多学科的联合应用,才能实现规模的临床应用。

参考文献

- 1 Cho YW, Cho YN, Chung SH, et al. Water-soluble chitin as a wound healing accelerator. *Biomaterials*, 1999,20(22):2139-2145.
- 2 Krajeuska M, Mrajewski S, Epstein JI, et al. Immunohistochemical analysis of bcl-2, bax, bol-x and mcl-1 expression in prostate cancers. *Am J Pathol*, 1996,148:1567-1576.
- 3 Sturm PG, Hayes SM. The effect of poly-N-Acetyl glucosaminogly-

- can (chitosan) on osteogenesis in vitro. *J periodontol*, 1996, 67(11):1170-1175.
- 4 Muzzarelli RA, Mattioli-Belmonte M, Pugnali A, et al. Biochemistry, histology and clinical uses of chitins and chitosans in wound healing. *EXS*, 1999,87251-87261.
- 5 Sugamori T, Iwase H, Maeda M, et al. Local hemostatic effects of microcrystalline partially deacetylated chitin hydrochloride. *J Biomed Mater Res*, 2000,49(2):225-232.
- 6 Howling GI, Dettmar PW, Hampson FC, et al. The effect of chitin and chitosan on the proliferation of human skin fibroblasts and keratinocytes in vitro. *Biomaterials*, 2001,22(22):2959-2966.
- 7 Mizuno K, Yamamura K, Yano K. Effect of chitosan film containing basic fibroblast, growth factor on wound healing in genetically diabetic mice. *J Biomed Mater Res*, 2003,64(1):177-181.
- 8 Ito M, Ban A, Ishihara M. Anti-ulcer effects of chitin and chitosan, healthy foods, in rats. *J Pharmacol*, 2000,82(3):218-225.
- 9 Kelly HM, Deasy PB, Ziaka E, et al. Formulation and preliminary in vivo dog studies of a novel drug delivery system for the treatment of periodontitis. *Int J Pharm*, 2004, 274(1-2):167-183.
- 10 Perugini P, Genta I, Conti B, et al. Periodontal delivery of ipriflavone: new chitosan/PLGA film delivery system for a lipophilic drug. *Int J Pharm*, 2003, 252(1-2):1-9.
- 11 Ikinci G, Senel S, Akincibay H, et al. Effect of chitosan on a periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *Int J Pharm*, 2002, 20:235(1-2):121-127.
- 12 Choi BK, Kim KY, Yoo YJ, et al. In vitro antimicrobial activity of a chitoooligosaccharide mixture against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Streptococcus mutans*. *Int J Antimicrob Agents*, 2001,18(6):553-557.
- 13 杨丕山,庄昭霞,孙钦峰,等.壳聚糖促进牙周再生的实验研究. *山东医科大学学报*, 1998, 36(3):204-206.
- 14 Zhang ZX, Lin ZY, Cao JF. Biocompatibility of chitosan-carboxymethylchitosan as membrane for periodontal guided tissue regeneration. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*, 2003,12(5):362-365.
- 15 Park JS, Choi SH, Moon IS, et al. Eight-week histological analysis on the effect of chitosan on surgically created one-wall intrabony defects in beagle dogs. *J Clin Periodontol*, 2003,30(5):443-453.
- 16 Nojima N, Kobayashi M, Takahashi N, et al. Fibroblastic cells derived from bovine periodontal ligaments have the phenotypes of osteoblasts. *J periodontal Res*, 1990,25:179-185.
- 17 Hamano T, Chiba D, Teramoto A, et al. Effect of polyelectrolyte complex (PEC) on human periodontal ligament fibroblast (HPLF) functions in the presence of glucocorticoids. *J Biomater Sci Polym Ed*, 1998,9(9):985-1000.
- 18 Park YJ, Lee YM, Park SN, et al. Platelet derived growth factor releasing chitosan sponge for periodontal boneregeneration. *Biomaterials*, 2000,21(2):153-159.
- 19 Nakahara T, Nakamura T, Kobayashi E, et al. Novel approach to regeneration of periodontal tissues based on in situ tissue engineering: effects of controlled release of basic fibroblast growth

成口腔的治疗。

参考文献

- 1 Kasaba T, Onizuka S, Takasaki M. Procaine and Mepivacaine have less toxicity in vitro than other clinically used local anesthetics. *Anesth Analg*, 2003, Jul 97(1):85-90.
 - 2 邱蔚六主编. 口腔颌面外科学. 第四版. 北京: 人民出版社, 2000.20.
 - 3 Ribeiro PD, Sanches MG, Okamoto T. Comparative analysis of tissue reactions to anesthetic solutions: histological analysis in subcutaneous tissue of rats. *Anesth Prog*, 2003, 50(4):169-80.
 - 4 张富军, 邓小明. 罗哌卡因的实验与临床研究进展. *中国新药与临床杂志*, 2000, 19(4):317-319.
 - 5 Hickey R, Hoffman J, Ramamurthy S. A comparison of 0.5% Ropivacaine and 0.5% Bupivacaine for brachial plexus block. *Anesthesiology*, 1991, 74(4):639-642.
 - 6 Donny, Dewinde V, Vanderick B. The comparative toxicity of ropivacaine and bupivacaine at equipotent doses in rats. *Anesth Analg*, 2000, 91(6):1489-1492.
 - 7 Gouws P, Galloway P, Jacob J. Comparison of Articaine, Bupivacaine and Lidocaine for sub-Tenon's anesthesia in cataract extraction. *Br J Anaesth*, 2004, 92(2):228-30.
 - 8 岳保利. 阿替卡因在牙髓病治疗中的应用. *牙体牙髓病学杂志*, 2001, 11(5):334-335.
 - 9 Malamed SF, Gagnon S, Leblanc D. A comparison between Articaine and Lidocaine in pediatric dental patients. *Pediatr Dent*, 2001, 22(4):307-11.
 - 10 Gallatin E, Stabile P, Reader A, et al. Anesthetic efficacy and heart rate effects of the intraosseous injection of 3% Mepivacaine after an inferior alveolar nerve block. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2000, 89(1):83-7.
 - 11 史宗道. 2%甲哌卡因局部麻醉效果及安全性评价的多中心随机双盲临床试验. *中国循证医学*, 2002, 2(2):86-91.
 - 12 郭斌, 李继遥, 周学东, 等. The Wand 计算机控制局部麻醉仪在牙髓病治疗中的临床应用. *华西医科大学报*, 2002, 33 (1):155-156.
 - 13 于国跃. 应用 The Wand 口腔无痛局麻仪行上牙槽前中神经注射麻醉评价. *上海口腔医学*, 2002, 11(2):183-184.
 - 14 Krochak M, Friedman M. Using a precision-metered injection system to minimize dental injection anxiety. *Compend Contin Educ Dent*, 1998, 19(2):137-40, 142-3, 146 passim; quiz 150.
 - 15 Hochman M, Chlarello D. Computerized local anesthetic delivery vs traditional syringe technique. *N Y State Dent J*, 1997, 63(7): 24-29.
 - 16 Fadi S, Saloum, DDS, MSD, J. Craig Baumgartner, DDS, PhD, Gordon Marshall, DMD, and James Tinkle, DMD, Portland, Ore. A clinical comparison of pain perception to the wand and a traditional syringe. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2000, 89(6):691-695.
 - 17 Brown CR. Computer-regulated anesthetic delivery. *Pract Periodont Anesthet Dent*, 1998, 10:638.
 - 18 Reitz J, Reader A, Nist R, et al. Anesthetic efficacy of the intraosseous injection of 0.9ml of 2% lidocaine (1 : 100000epinephrine) to augment an inferior alveolar nerve block. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 1998, 86(5): 516-523.
 - 19 Nusstein J, Reader A, Nist R, et al. Anesthetic efficacy of the supplemental intraosseous injection of 2% lidocaine with 1: 100000epinephrine in irreversible pulpitis. *J Endod*, 1998, 24(7): 487-491.
 - 20 Cannell M, Cannon PD. Intraosseous injection of lignocaine local anesthetics. *Br Dent J*, 1976, 141:48-50.
 - 21 Dunbar D, Reader A, Nist R, et al. The anesthetic efficacy of the intraosseous injection after an inferior alveolar nerve block. *J Endod*, 1996, 22(9):481-486.
- (收稿日期:2005-01-19 修回日期:2005-03-01)
-
- (上接第 145 页)
- factor from a sandwich membrane. *Tissue Eng*, 2003, 9(1):153-162.
 - 20 Pal A.K, Pal T.K, Mukherjee K, et al. Animal experimentation with tooth derived calcium hydroxyapatite based composites as bone-graft substitute biomaterials. *Biomed.Sci.Instum*, 1997, 33: 561-566.
 - 21 Ito M. In vitro properties of chitosan-bonded hydroxyapatite bone-filling paste. *Biomaterials*, 1991, 12:41-45.
 - 22 Xu HH, Quinn JB, Takagi S, et al. Processing and properties of strong and non-rigid calcium phosphate cement. *J Dent Res*, 2002, 81(3):219-224.
 - 23 Olsen R, Schwartzmiller D, Weppner W, et al. Biomedical applications of chitin and its antioxidant agent in fenestration defects 82nd Annual meeting of NOF, Naantali-Finland, Abstract Book, 1999, #83.
 - 24 谭葆春. 壳聚糖口腔复合药膜的研制及实验研究. 昆明医学院硕士研究生学位论文, 2003, 6.
 - 25 Tarsi R, Muzzarelli RA, Guzman CA, et al. Inhibition of *Streptococcus mutans* adsorption to hydroxyapatite by low-molecular-weight chitosans. *J Dent Res*, 1997, 76(2):665-672.
 - 26 Sano H, Shibasaki, Matsukubo T, et al. Effect of chitosan rinsing on reduction of dental plaque formation. *Bull Takya Dent Coll*, 2003, 44(1):9-16.
 - 27 Tsai GJ, Su WH. Antibacterial activity of shrimp chitosan against *Escherichia coli*. *J Food Prot*, 1999, 62(3):239-248.
 - 28 Muzzarelli R, Tarsi R, Filippini O, et al. Antimicrobial properties of N-carboxybutyl chitosan. *Antimicrob Agents chemother*, 1990, 34(10):2019-2023.
 - 29 刘瑾, 唐梓进. 羧甲基壳聚糖对口腔链球菌和口腔乳酸杆菌的抑制作用. *南京师大学报*, 1999, 22(4):73-76.
 - 30 Mattioli Belmonte M, De Benedittis A, Mongiorgi R, et al. Bioactivity of chitosan in dentistry. Preliminary data on chitosan-based cements. *Minerva Stomatol*, 1999, 48(12):567-576.
- (收稿日期:2004-12-17 修回日期:2005-01-21)