

# 生物型纳米根管封闭剂的生物学性能研究\*

刘学勤<sup>1</sup>, 陈作良<sup>1</sup>, 冯祖德<sup>2</sup>, 陈小玲<sup>1</sup>, 黄文霞<sup>1</sup>, 危 薇<sup>1</sup>

(1. 福建医科大学口腔教学医院·厦门市口腔医院 福建 厦门 361003; 2. 厦门大学材料学院)

**[摘要]** 目的 对磷酸钙骨水泥为原料制备的生物型纳米根管封闭剂进行体外生物学性能研究, 为其临床应用提供依据。方法 致敏性实验: 依照 GB/T16886.10-2005 和 GB/T16886.12-2005 技术标准测定; 细胞毒性实验: 依照 GB/T16886.5-2003 技术标准, 采用琼脂扩散法测定; 鼠伤寒沙门氏杆菌回复突变试验 (Ames 试验): 依照 YY/T0127.10-2001 技术标准测定。结果 生物型纳米根管封闭剂无致敏性, 不导致染色体畸变, 具有轻度细胞毒性。结论: 生物型纳米根管封闭剂具有良好的生物学性能。

**[关键词]** 生物型纳米根管封闭剂; 生物学性能

**[中图分类号]** R783.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1003-1634(2008)08-0461-03

A study on the biological properties of a new bio-type root canal filling sealer in vitro. LIU Xue-qing, CHEN Zuo-liang, FENG Zu-de, CHEN Xiao-ling, HUANG Wen-xia, WEI Wei. Xiamen Stomatological Hospital, Fujian 361003, China

**[Abstract]** Objective: To assess the biological properties of a new root canal filling sealer produced by calcium acid phosphate bone cement in vitro, and provide the evidence for clinical trial. Method: This study is composed of three parts. Allergization test was conducted based on the standard technique of GB/T16886.10-2005 and GB/T16886.12-2005; Agar diffusion method was used for Cytotoxicity test according to the GB/T16886.5-2003. Salmonella typhimurium reverse mutation test (Ames test) was performed based on items of technique standard of YY/T0127.10-2001. Result: The bio-type root canal filling sealer has no feature of allergization with only slight cytotoxicity, and no chromosomal aberration was found in the Ames test cytotoxicity. Conclusion: The bio-type root canal filling sealer has excellent biological properties, and can be used in clinical trial safely.

**[Key words]** bio-type root canal filling sealer; biological properties

根管治疗的疗效和采用的根管充填材料息息相关。我们以磷酸钙骨水泥为原料研制出了生物型纳米根管封闭剂, 具有显影性好、流动性、可操作时间与凝结时间适合临床操作的特点, 并具有较好的抗菌作用<sup>[1]</sup>。本文着重研究该材料的致敏性、细胞毒性和致突变性, 明确该材料的生物学性质。

## 材料和方法

1 材料 生物型纳米根管封闭剂于 2005 年由我院和厦门大学纳米科技中心共同研制, 在厦门大学纳米科技中心完成物理化学性能试验, 在四川医疗器械生物材料和制品检验中心完成毒理学试验, 在国家食品药品监督管理局北大医疗器械质量监督检验中心重复了材料细胞毒性试验。

细胞: 小鼠成纤维细胞, 组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌。

实验动物: 白化豚鼠 20 只, 体重 320 g~480 g, 雌雄各半, 清洁级。

## 2 方法

2.1 实验材料浸提液制备 生物型纳米根管封闭剂为粉末 1 g 加 0.38 ml 的液体进行均匀调和, 室温固化 2 h。称取固样

\* 基金项目: 厦门科技局科技发展课题资助(2002-60-5)

\*\* 通讯作者: 陈作良, Tel: 13600910252

E-mail: xindyjiu71@sduhu.com

品按 0.2 g/ml 的比例加生理盐水 5 ml, 121 ℃, 1 h 浸提。浸提液澄清透明。

2.2 细胞毒性试验 根据国家标准 GB/T16886.5-2003<sup>[2]</sup> 采用滤膜扩散法。试验分 3 组。

实验组: 生物型根管封闭剂;

阳性对照: 浸泡 20% 苯酚溶液;

阴性对照: 浸泡 D-Hank's 溶液。

为了比较该材料与临床使用材料的细胞毒性, 在国家食品药品监督管理局北大医疗器械质量监督检验中心对该材料进行重复试验, 同时以碧兰永久性根管充填材料及上海二医张江生物材料有限公司生产的以氢氧化钙和碘仿为主要原料的非凝固型根管糊剂(以下简称糊剂)作对照试验。

2.3 迟发型超敏试验 根据国家标准 GB/T16886.10-2005<sup>[3]</sup> 和 GB/T16886.12-2005<sup>[4]</sup>, 采用豚鼠最大剂量试验(GPM T)。试验分 3 组。实验组: 生物型根管封闭剂浸提液。阳性对照: 2,4-二硝基氟苯丙酮溶液。阴性对照: 无菌生理盐水。实验动物为白化豚鼠, 试验组 10 只, 阴性对照组 5 只, 阳性对照组 5 只。试验前 24 h, 脱毛剂脱去动物颈肩部被毛, 试验时作 3 对 6 点皮内注射, 每注射点注射 0.1 ml。在皮内诱导后 7 d, 按上述方法重新制备新鲜的样品浸提液, 再次除去注射区皮肤被毛, 分别将载有试验液或对照液的约 8 cm<sup>2</sup> 的拭镜纸或滤纸, 敷贴覆盖诱导注射点, 封闭包扎固定敷贴片(48 ± 2)h。除去包扎带和敷贴片。局部诱导后 14 d, 激发敷贴前 24 h, 按上述方法重新制备新鲜的

样品浸提液,并分别在动物一侧腹部脱毛,75%酒精清洁皮肤。24 h 后,将载有试验液或对照液的敷贴片敷贴在侧腹部脱毛区,封闭包扎 24 h。除去敷贴片后 24 h 和 48 h 观察试验组和对照组动物激发部位皮肤的红斑和水肿情况,并对红斑和水肿记分。

皮肤反应程度分 5 级:0 分:无红斑;1 分:极轻微红斑(勉强可见);2 分:清晰红斑;3 分:中度红斑;4 分:重度红斑(紫红色)至焦痂形成;5 分:无水肿;1 分:极轻微水肿(勉强可见);2 分:清晰水肿(肿起,不超出区域边缘);3 分:中度水肿(肿起约 1 mm);4 分:重度水肿(肿起约 1 mm,并超出接触区)。

2.4 Ames 试验:根据 YY/T0127.10-2001<sup>[5]</sup>,采用标准平板渗入法。试验分 3 组。实验组:生物型根管封闭剂浸提液。阳性对照:2,4-二硝基氟苯丙酮溶液。阴性对照:无菌生理盐水。本试验采用鼠伤寒沙门氏菌 TA97、TA98、TA100 和 TA102 四个菌株。用 0.9% NaCl 按 2:8 将生物型根管封闭剂浸提液稀释成 5 个不同剂量工作液。培养菌液浓度达 O.D=0.4 左右。于系列试管内加菌液 0.1 ml、PBS 0.5 ml,不同剂量的试验工作液 0.1 ml,上层琼脂培养基 2 ml。迅速混匀,倾注于底层琼脂基上,室温固化。于另一系列试管内,进行加 S9 条件试验。翻转平皿。置 37 温箱内培养 48-72 h,计数每皿的菌落数。同时设立阳性及阴性对照。

2.5 主要观测指标:细胞毒性试验结果。迟发型超敏试验结果。鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验(Ames 试验)结果。

3 统计学分析 用 SPSS 12.0 软件对实验数据进行独立样本方差分析,组间两两比较,并进行统计学显著性差异分析。

### 结 果

#### 1 细胞毒性试验结果

1.1 四川医疗器械生物材料和制品检验中心的检测结果:染色后,生物型根管封闭剂样品下的滤膜上出现与试样大小一致的脱色区,镜下观察,区域内细胞大部分溶解,细胞均不着色。阴性对照下的滤膜被染色为蓝色,与其周围染色一致。镜下观察,细胞生长良好,形态正常,均被染色为蓝色。阳性对照下的滤膜上出现直径 8-10 mm 的脱色区。镜下观察,区域内细胞不着色,并且大部分溶解。空白对照的滤膜不着色。生物型根管封闭剂组细胞毒性为 2 级,具有轻度细胞毒性。

1.2 国家食品药品监督管理局北大医疗器械质量监督检验中心的重复检测结果:生物型根管封闭剂组与碧兰组及糊剂组毒性相同。

2 迟发型超敏试验结果 试验组和阴性对照组动物均未见皮肤红斑和水肿,记分均为 0 分,阳性对照组动物出现明显红斑水肿,部分动物伴有出血和焦痂形成,致敏率为 100%。

3 Ames 试验结果 试样各剂量组,阴性对照和阳性对照的细菌回复菌落数见表 1。进行统计学分析后各组间无显著性差异。

表 1 Ames 试验细菌回复菌落数

浸提液 剂量(μg)	菌株 TA97		菌株 TA98		TA100		TA102	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
32	118.3±7.2	131.7±9.9	17.7±6.4	28.0±8.9	111.3±8.5	111.0±7.1	236.0±41.6	190.0±39.6
800	109.0±31.1	136.3±12.9	16.0±1.7	17.3±6.4	114.7±20.6	117.0±11.3	218.3±36.1	186.7±6.7
20000	118.3±7.2	134.3±17.1	17.7±8.5	13.3±0.6	135.5±4.9	93.3±26.3	218.7±31.2	199.3±20.1
阴性对照	105.0±6.1	108.0±1.7	17.7±4.0	24.7±1.2	106.0±12.1	111.7±10.7	207.0±4.0	212.7±38.8
阳性对照	727.3±29.5	671.7±21.2	786.3±4.2	777.7±79.5	844.3±47.3	691.3±6.8	793.7±49.9	747.7±10.5

### 讨 论

细胞毒性,致敏性及 Ames 实验是评价材料生物学性能的基本试验。

对根管充填材料细胞毒性的研究比较多。国外学者较早期的如 Geurtsen<sup>[6]</sup> 等用荧光色素 propidium iodide 进行根管封闭剂的细胞毒性研究,Gerosa<sup>[7]</sup> 等用 N-甲基-B-己糖胺酶比色反应对根管封闭剂的细胞毒性进行了研究,Osorio<sup>[8]</sup> 及 Kuo-Telli<sup>[9]</sup>、Wei-Tai<sup>[10]</sup>、Schwar<sup>[11]</sup> 等采用四唑盐(MTr)比色试验检测细胞存活率来研究根管封闭剂的细胞毒性,近期 Miletic<sup>[12]</sup> 用光学显微镜对细胞进行计数研究,国内学者朱亚琴等<sup>[13]</sup> 也采用细胞附着试验对临床上常用的根管封闭剂进行细胞毒性研究。以上研究表明,各种根管封闭剂都有一定的细胞毒性,其大小与组成成分相关。其中传统类型的封闭剂毒性相对较大,树脂类封闭剂亦有一定的细胞毒性。

氢氧化钙类封闭剂的生物性能相对好,但部分品牌中也含有丁香油或其他刺激性成分,也有一定的细胞毒性。新型的玻璃离子类封闭剂及一些其他类型封闭剂(如磷酸钙类封闭剂 SARCS 和聚二甲基硅氧烷类封闭剂 Roekoseal 等)的细胞毒性则相对较低。对于根管封闭剂的使用,原则上应该选择生物相容性好者。然而由于材料成本问题,一些较好的封闭剂在目前不能得到推广使用。本实验材料经两地医疗器械和材料权威检测机构进行测试,证明其细胞毒性低,且由于该材料可以国产化,故成本远低于国外同类产品。

本研究制备的生物型纳米根管封闭剂无皮肤致敏作用,无遗传毒性,低细胞毒性。前期试验表明该材料具有良好的理化性能,显影性能,抗菌性能,可望进一步进行临床试验,使其成为一种新型的根管填充材料。

### [参 考 文 献]

# 重庆地区正常殆儿童颅颌面结构特征的计算机头影测量分析

温兴涛<sup>1</sup>, 李晓智<sup>2</sup>, 林明锦<sup>3</sup>, 丁伟峰<sup>4</sup>

( 1.广州市荔湾区口腔医院口腔正畸科 广东 广州 510145; 2.重庆医科大学附属第一医院口腔科; 3.深圳市龙岗区平湖人民医院口腔科; 4.广东佛山市南海区人民医院口腔科)

[摘要] 目的:建立重庆地区恒牙初期正常殆汉族儿童硬组织各项头影测量项目的正常值,研究其颅颌面结构特征。方法:55名重庆籍恒牙初期正常殆汉族儿童头颅X线侧位片扫描,用计算机定点,测出硬组织的各项指标,得出均值与标准差;对SNA、SNB、ANB、FMA、FMIA、IMPA进行相关分析,将测量值与国内外部分地区进行比较。结果:硬组织的各项正常值,重庆地区男女性别比较,部分测量值有显著性差异;与国内外部分地区比较有差异,SNA、SNB、ANB、FMA、FMIA、IMPA测量值受多方面因素的影响。结论:X线头影测量的正常值存在种族、地域及性别差异,各地区应当有相应的硬组织正常值标准。

[关键词] 正常殆;恒牙初期;正常值;计算机

[中图分类号] R783.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1003-1634(2008)08-0463-03

Cephalometric study of craniofacial morphology by computer on children with normal occlusion in chongqing. WEN Xing-tao, LI Xiao-zhi, LIN Ming-jing, DING Wei-feng. Liwan District Stomatological Hospital, Guangzhou, 510145, China

[Abstract] Objective: In order to establish the normal value of hard tissues of Chongqing and to reveal the regular patterns and characteristics concerning the craniofacial morphology. Method: 58 students, with early permanent dentition were selected as the samples. The cephalometric images were scanned into a computer and the images were imported into the program. The cephalometric analysis were automated by the computer. The cephalometric analytical on hard tissues features was used in this study. Correlational analysis for SNA, SNB, ANB, FMA, FMIA, IMPA were calculated. Result: The normal values of hard tissues for early permanent dentition on normal occlusal children of Chongqing were established and compared with that of other areas. Conclusion: We found that hard cephalometric measurement values are various in sexual and races and regional population.

[Key words] normal occlusion; permanent dentition; norms; computer

X线头影测量技术已广泛应用于临床对牙殆畸形的诊断与治疗。自上世纪60年代以来,我国学者对一些地区的正常殆进行了X线头影测量研究<sup>[1,2]</sup>。本研究

通过对重庆地区55名正常殆汉族儿童进行X线头影测量,得出其硬组织的各项值作为重庆地区正常殆儿童X线头影测量的正常值,探讨重庆地区汉族儿童的

[1] 陈作良,危薇,冯祖德,等.生物型纳米根管封闭剂的制作与性能研究[J].上海口腔医学,2007,10(5):530-533.

[2] GB/T16886.5-2003 医疗器械生物学评价第五部分:体外细胞毒性试验[M].北京:中国标准出版社,2005.

[3] GB/T16886.10-2005 医疗器械生物学评价第10部分:刺激与迟发型超敏反应试验[M].北京:中国标准出版社,2005.

[4] GB/T16886.12-2005 医疗器械生物学评价第12部分:样品制备与参照样[M].北京:中国标准出版社,2005.

[5] YY/T0127.10-2001 口腔材料生物学评价 第二单元—口腔材料生物试验方法:鼠伤寒沙门氏杆菌回复突变试验(Ames试验)[M].

[6] Geurtsen W, Leinenbach F, Krage T, et al. Cytotoxicity of four root canal sealers in permanent 3T3 cells and primary human periodontal ligament fibroblast cultures [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1998, 85: 592-597.

[7] Gerosa R, Menegazzi G, Bofin M, et al. Cytotoxicity evaluation of six root canal sealers [J]. J Endodon, 1995, 21: 446-448.

[8] Osorio RM, Hefti A, Vertucci FJ, et al. Cytotoxicity of endodontic materials [J]. J Endodon, 1998, 24: 91-96.

[9] Telli C, Serper A, Dogma AL, et al. Evaluation of the cytotoxicity of calcium phosphate root canal sealers by MTT assay [J]. J Endodon, 1999, 25: 811-813.

[10] Tai KW, Huatig FM, Chan g YC. Cytotoxic evaluation of root canal filling materials on primary human oral fibroblast culture and a permanent hamster cell line [J]. J Endodon, 2001, 27: 571-573.

[11] Schwarze T, Leyhausen G, Geurtsen W. Long-term cytocompatibility of various endodontic sealers using a new root canal model [J]. J Endodon, 2002, 28: 749-753.

[12] Mileti I, Ani I, Karlovi Z, et al. Cytotoxic effect of four root filling materials [J]. Endod Dent Traumatol, 2000, 16: 287-290.

[13] 朱亚琴, 王晓仪. 常用根管充填材料的生物相容性研究 [J]. 上海口腔医学, 1994(3): 78-81.

收稿日期: 2008-06-11

修回日期: 2008-07-28