

# 离体年轻恒牙片短期应用酪蛋白磷酸多肽钙磷复合体再矿化的实验研究

陈 燕, 周 嫣, 黎石坚, 李民冬, 蒋榕林, 杨剑少

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目课题(编号:桂科攻 1355005-3-8); 广西医疗卫生重点科研课题(编号:重 2010039)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院口腔科

作者简介: 陈 燕(1974-), 女, 大学本科, 学士学位, 副主任医师, 研究方向: 牙体牙髓牙周医学的临床及基础研究。E-mail: cicy1333@sina.com

通讯作者: 周 嫣(1960-), 女, 医学硕士, 主任医师, 研究方向: 口腔科学尤其是口腔正畸医学的临床及基础研究。E-mail: zhouyan\_8517@163.com

**[摘要]** 目的 评价短期应用 10% 酪蛋白磷酸多肽钙磷复合体(CPP-ACP; 商品名: Tooth Mousse 护牙素)离体牙釉质再矿化的效果。方法 将离体前磨牙制成牙釉质牙片作为标本, 天平称重后用 37.5% 磷酸酸蚀浸泡 2 min, 吹干 5 min 后用天平称重。再将酸蚀后的牙片用 Tooth Mousse 护牙素涂擦牙面 30 min, 在蒸馏水中浸泡 1 h, 吹干 5 min 后用天平称重。依据作用时间的不同分为 A~L 等 12 个组。统计分析各实验组与酸蚀组浸泡后重量与时间的关系。结果 经统计分析各组浸泡后的平均重量与对照组之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 各组组间比较差异也无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 Tooth Mousse 护牙素的再矿化作用不是直线上升的而是呈曲线上升。

**[关键词]** 酪蛋白磷酸多肽钙磷复合体; 釉质; 脱矿; 再矿化

**[中图分类号]** R 783.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2015)05-0391-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2015.05.02

**Experiment research on the effects of complex of casein phosphopeptide and amorphous calcium phosphate in enamel remineralization** CHEN Yan, ZHOU Yan, LI Shi-Jian, et al. Department of Oral Medicine, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the effect of complex of casein phosphopeptide and amorphous calcium phosphate(trade name: GC Tooth Mousse) application in enamel remineralization in vitro. **Methods** The in vitro premolars enamel blocks were made as specimens. After weighing, the specimens were soaked with 37.5% phosphoric acid for 2 minutes. At 5 min after the dry the specimens were weighed with a balance. Then after acid etching Tooth Mousse was used to coat the surface of acid etching tooth blocks for 30 min, immersed in distilled water for 1 hours, weighing at 5 min after the dry. According to different time the specimens were divided into the A~L of 12 groups. Statistical analysis was performed in the relation between the weight and the soaking time of each experimental group and the acid etching group. **Results** The statistical analysis showed there was no statistical difference between the groups after soaking and the control group in average weight( $P > 0.05$ ), and between the experimental groups there was no a statistically significant difference( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The remineralization effect of Tooth Mousse is not straight up but a curve.

**[Key words]** Complex of casein phosphopeptide and amorphous calcium phosphate; Enamel; Demineralization; Remineralization

Tooth Mousse 护牙素是从牛奶中提取出来的一种生物活性肽-酪蛋白磷酸多肽(CPP-ACP), 内含生物活性钙离子和磷酸离子, 可以不断渗入牙齿表面

补充早期龋脱矿牙釉质丢失的矿物质, 促进牙釉质的再矿化<sup>[1]</sup>。我们的前期研究显示, Tooth Mousse 护牙素在体外实验短期(7 d)能使离体牙釉质在蒸

馏水环境中抑制脱矿和促进再矿化,长期使用护牙素(28 d)可以加强脱矿的牙釉质再矿化的功效<sup>[2]</sup>。而在临床中患者无法 24 h 都使用护牙素,如何使用护牙素才能发挥其较佳的效果,为此我们再次做了短期涂擦及浸泡护牙素的实验研究,结果显示,Tooth Mousse 护牙素体外实验在蒸馏水环境中每天 20 h 连续 5 d 浸泡离体牙釉质在减少脱矿和促进再矿化方面较分别浸泡时间为每天 1、5、10 h 连续 5 d 的组再矿化作用显著<sup>[3]</sup>。本次实验的目的是研究在蒸馏水环境中 1 组离体牙釉质片被持续涂擦及浸泡护牙素后再矿化与时间的变化情况,观察再矿化的变化是直线向上发展还是会有饱和的出现。

## 1 资料与方法

**1.1 离体牙制备** 因正畸需要拔出的离体年轻恒前磨牙,经患者知情同意清洁后置于生理盐水中,放于 4℃ 冰箱内保存。体视镜下挑选釉质表面光滑、颜色正常、无缺损、裂纹及脱矿的离体牙 10 颗,清水冲洗后备用。将每颗离体牙从冠根起一分为二成为 20 个牙釉质磨片,长宽高分别为 3 mm × 2 mm × 1 mm。

**1.2 材料和仪器** 护牙素(GC Tooth Mousse, GC 公司,日本);天平(METTLER AG285,瑞士),可精确到 0.01 mg。

**1.3 实验方法** 用数字随机表的方法随机选取牙釉质牙片 6 个,酸蚀前每个牙片给予天平称重为未酸蚀组。所有牙片用 37.5% 磷酸酸蚀浸泡 2 min 吹干 5 min 后用天平称重为酸蚀组。实验 A 组,将酸蚀后的牙片用 Tooth Mousse 护牙素涂擦牙面 30 min,在蒸馏水中浸泡 1 h,吹干 5 min 后用天平称重。实验 B ~ L 等 11 个组逐步递增护牙素涂擦及浸泡的次数,涂擦及浸泡的步骤同 A 组,但作用时间有所改变。其中 A ~ D、E ~ G、H ~ L 各实验组护牙素涂擦牙面时间分别是 30 min、5 h、10 h。所有实验组在蒸馏水浸泡 1 h 后吹干 5 min 再用天平称重。统计分析各实验组与酸蚀组浸泡后重量与时间的关系。

**1.4 统计学方法** 应用 SPSS17.0 统计软件对实验结果进行统计分析,计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组之间的比较采用单因素方差分析方法。检验水准取  $\alpha = 0.05$  (双侧)。

## 2 结果

不同的处理方法后牙釉质牙片重量(g)变化的测量结果:经单因素方差分析,实验组与酸蚀组间差异无统计学意义( $F = 0.0004, P > 0.05$ ),各实验组组间差异也无统计学意义( $F = 0.0002, P > 0.05$ )。见表 1。重量变化的趋势见图 1。从图 1 可见,酸蚀

组较未酸蚀组的重量呈明显下降的趋势,实验组较酸蚀组重量有上升的趋势,说明这是护牙素再矿化的结果。实验组再矿化的趋势图是呈弧形上升和下降的,说明护牙素的再矿化不是直线上升的,是呈曲线上升的。

表 1 不同的处理方法后牙釉质牙片重量变化的测量结果[ $(\bar{x} \pm s)$ , g]

| 处理方法           | 标本数 | $(\bar{x} \pm s)$ |
|----------------|-----|-------------------|
| 原重             | 6   | 0.25541 ± 0.04138 |
| 酸蚀             | 6   | 0.25335 ± 0.04116 |
| A:30 min + 1 h | 6   | 0.25360 ± 0.04113 |
| B:30 min + 1 h | 6   | 0.25372 ± 0.04115 |
| C:30 min + 1 h | 6   | 0.25393 ± 0.04095 |
| D:30 min + 1 h | 6   | 0.25382 ± 0.04111 |
| E:5 h + 1 h    | 6   | 0.25397 ± 0.04112 |
| F:5 h + 1 h    | 6   | 0.25408 ± 0.04123 |
| G:5 h + 1 h    | 6   | 0.25403 ± 0.04126 |
| H:10 h + 1 h   | 6   | 0.25417 ± 0.04122 |
| I:10 h + 1 h   | 6   | 0.25433 ± 0.04130 |
| J:10 h + 1 h   | 6   | 0.25425 ± 0.04125 |
| K:10 h + 1 h   | 6   | 0.25422 ± 0.04131 |
| L:10 h + 1 h   | 6   | 0.25425 ± 0.04129 |

注:A-L 实验组与酸蚀组经单因素方差分析,  $F = 0.0004, P = 0.9999$ ; A-L 实验组组间经单因素方差分析,  $F = 0.0002, P = 0.9999$

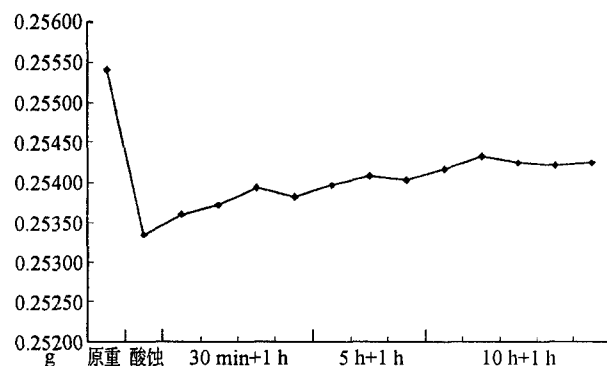


图 1 各组平均重量的趋势图

## 3 讨论

**3.1 Tooth Mousse 护牙素的主要成分为酪蛋白磷酸多肽钙磷复合体**,各项研究显示酪蛋白磷酸多肽钙磷复合体处于水溶状态下,能被牙面吸收。以钙离子桥作为中介,通过氢键和离子键力以及疏水基团的亲和力进入菌斑,抑制细菌黏附,产生间接抑菌、杀菌作用,并且缓冲菌斑酸性环境,抑制牙釉质

脱矿,增加牙釉质龋损再矿化速率,明显降低患龋率<sup>[4,5]</sup>。此结果在人磨牙釉质上用显微放射照相技术和显微光密度计得到证实<sup>[6]</sup>。李梅等<sup>[7]</sup>对含酪蛋白磷酸多肽牙膏研究发现,在 pH 相等、钙离子及磷酸根离子浓度一致条件下, CPP 浓度越大,再矿化能力越强。周春华等<sup>[8]</sup>研究不同浓度酪蛋白磷酸多肽-非结晶型磷酸钙(CPP-ACP)及其与氟联合应用对牙釉质表层下脱矿再矿化的影响发现, CPP-ACP 液可于体外使脱矿牙釉质发生再矿化,且矿化作用可被氟加强;再矿化作用与 CPP 稳定的钙磷浓度呈剂量-效应关系。刘兴容等<sup>[9]</sup>研究发现 CPP-ACP 具有抑制变形链球菌生长、黏附作用,随浓度升高抑制作用增强。进一步研究发现随着 CPP-ACP 浓度的升高,变形链球菌的产酸量降低,证实 CPP-ACP 对变形链球菌产酸具有抑制作用,且随 CPP-ACP 浓度的升高抑制作用增强。刘烨等<sup>[10]</sup>研究观察了基牙金属烤瓷全冠预备后实验组表面开窗区涂布护牙素后扫描电镜下的形态改变,扫描电镜下实验组牙面表面痕迹较浅,见密集钙质小团的沉积覆盖牙面。而对照组基牙表面条纹状痕迹明显,凹凸不平,牙面呈凌乱的疏松无定形状态,证实含氟酪蛋白磷酸肽-磷酸钙复合物可以提高酸蚀牙釉质的耐磨性。张力等<sup>[11]</sup>研究表明,将 A、B、C、D 组牙釉质片经过人工龋液浸泡和涂 0.6% 磷酸多肽两个步骤后,4 组经人工龋液浸泡时间依次为 1、2、12、15(h),涂磷酸多肽的时间依次为 10、20、120、150(min),显微硬度依次为 25.29、16.24、45.30、76.80(kPa/mm<sup>2</sup>)。结果显示,前两组的显微硬度与对照组比较差异无统计学意义,后两组的显微硬度与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),说明磷酸多肽随作用时间的延长对牙釉质的矿化作用更明显。

**3.2** 本研究结果显示,经统计学比较分析 A~L 实验组与酸蚀组间差异无统计学意义( $F = 0.0004, P > 0.05$ ), A~L 各实验组组间差异也无统计学意义( $F = 0.0002, P > 0.05$ ),可能与标本数量少、再矿化量微量有关。但护牙素的再矿化作用的变化不是直线上升的,而是呈曲线上升的。综合前一阶段的实验,我们分析总结认为,体外实验在蒸馏水环境中 Tooth

Mousse 护牙素每天 20 h 浸泡离体牙釉质,连续使用 5~7 d,能提高酪蛋白磷酸肽钙磷复合体的再矿化作用,如果能延长作用时间再矿化作用会更好。在患者临床使用的再矿化作用还受到牙釉质的矿化度、唾液的酸碱度、唾液的流量、口腔的菌群、口腔卫生维护的质量等诸多因素的影响,对于龋病易感人群的再矿化作用还有待进一步的研究。

**致谢** 本研究得到了广西大学材料科学与工程学院曾建民教授、顾红工程师和温静娴高级实验师的大力支持,在此表示深深的感谢

#### 参考文献

- 1 Rahiotis C, Vougiouklakis G. Effect of a CPP-ACP agent on the demineralization and remineralization of dentine in vitro[J]. J Dent, 2007, 35(8): 695-698.
- 2 陈燕,周嫣,黎石坚,等. 酪蛋白磷酸多肽钙磷复合体对牙釉质脱矿和再矿化作用的实验研究[J]. 中华口腔医学杂志, 2013, 48(1): 32-36.
- 3 陈燕,周嫣,李民冬,等. 离体牙短期应用酪蛋白磷酸多肽钙磷复合体再矿化的实验研究[J]. 中国美容医学, 2014, 23(17): 1441-1445.
- 4 赵琼芝,蔡璠. 酪蛋白磷酸多肽钙磷复合体对牙釉质缺损再矿化的实验研究[J]. 中华口腔医学杂志, 2001, 36(6): 421-423.
- 5 漆明,王强,阮梅生,等.  $\alpha$ -淀粉酶与致龋细菌的相关性研究[J]. 口腔医学, 2002, 22(2): 67-69.
- 6 Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions[J]. J Dent Res, 1997, 76(9): 1587-1595.
- 7 李梅,章锦才,许曼波,等. 酪蛋白磷酸多肽牙膏抑制牙釉质脱矿和促进釉质再矿化的实验研究[J]. 口腔医学, 2004, 24(4): 199-201.
- 8 周春华,孙新华,黄洋,等. CPP-ACP 与氟促进脱矿釉质再矿化的显微放射定量分析[J]. 吉林大学学报(医学版), 2008, 34(6): 1022-1026.
- 9 刘兴容,徐皓,李艳萍. 酪蛋白磷酸肽钙磷复合体对变形链球菌生长、产酸的影响[J]. 现代预防医学, 2006, 33(10): 1815-1817.
- 10 刘烨,陈溯,张振庭. 含氟酪蛋白磷酸肽-磷酸钙复合物对牙齿耐磨性的影响[J]. 北京口腔医学, 2012, 20(2): 74-76.
- 11 张力,李宗同,石玉琢,等. 磷酸多肽对牙齿再矿化的实验研究[J]. 现代口腔医学杂志, 1999, 13(1): 15-17.

[收稿日期 2014-11-27][本文编辑 刘京虹]