

[文章编号] 1004-0609(2002)03-0534-05

α -TCP/TTCP 牙根管充填材料^①

戴红莲¹, 闫玉华¹, 王友法¹, 李世普¹, 周学东¹, 朱友家², 董维理²

(1. 武汉理工大学 生物材料与工程研究中心, 武汉 430070; 2. 武汉大学 中南医院, 武汉 430072)

[摘 要] α -TCP/TTCP 骨水泥具有良好的水化硬化特性, 符合临床需要的凝结时间和抗压强度, 其水化产物主要为羟基磷灰石(HAP)。以 α -TCP/TTCP 骨水泥作为牙根管充填材料, 通过体外实验、动物实验, 结合组织形态学及扫描电镜观察, 检测 α -TCP/TTCP 牙根管充填材料的组织相容性, 并动态观察根尖闭合情况及根尖周组织修复过程。结果表明, 材料具有优良的生物相容性, 在牙根管内可继续水化硬化, 而且能引导根尖钙化组织沉积, 封闭根尖孔, 形成骨性结合, 并促进根尖周组织愈合。

[关键词] α -TCP/TTCP; 牙根管充填; 组织相容性; 根尖孔闭合

[中图分类号] R 318.08

[文献标识码] A

在牙根管发育完成之前, 因外伤、牙髓炎等症导致牙髓坏死或牙根尖周病变时, 牙根就停止发育, 造成根端开放。临床上对这类牙的治疗还存在困难, 且愈后效果较差。目前常用的根管充填材料有牙胶、银胶、碘仿糊剂、酚醛树脂、根管糊剂、CCQ 糊剂等^[1, 2]。这些常规的充填材料难以保证牙根末端的良好封闭, 若不慎超出根尖外, 则形成长期异物刺激, 其中, 有些材料对软组织有刺激作用和腐蚀性, 使牙体染上颜色。现临床上采用 Hermann 倡导的 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 诱导根尖形成, 但 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 充填诱导根尖形成很不理想。 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 形成的钙化组织多为蜂窝状的牙骨质, 不能完全封闭根尖孔^[3], 患者需定期复诊或重新换置材料。而以羟基磷灰石(HA)和 HA 复合胶原等作为根尖屏障, 由于常用的 HA 属于非吸收性陶瓷, 很难随牙根的生理性吸收而被吸收^[4~6]。因此, 有必要研制成分与牙骨质组织相近、与软组织有良好的生物相容性、性质稳定、操作方便、能自行固化、形成良好封闭且一次就诊成功的牙根管充填材料。20 世纪 80 年代以来, Brown 和 Chow 开始研制磷酸钙水门汀(Calcium Phosphate Cement, 简称 CPC)^[7, 8]。该材料操作方便, 可采用注射方式充填, 能自行固化。但未见有根尖形成的实验报道。本研究开发 α -TCP/TTCP 作为牙根管充填材料, 利用其自硬化性能和良好的生物相容性及生物活性解决以上存在的问题, 以拓宽钙磷化合物在口腔医学领域的应用

范围, 为临床提供新型根充材料。

1 实验材料和方法

1.1 材料

将分析纯的 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 与 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 按一定比例混合, 经共沉淀反应后再与超细 CaCO_3 按 Ca 与 P 摩尔比为 2:1 的比例充分混合, 然后于 1 500 °C 下反应 5 h, 得到磷酸四钙($\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$, TTCP); 又将分析纯 $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 与 CaCO_3 按 Ca 与 P 摩尔比为 1.5:1 的比例充分混合, 然后于 1 200 °C 下反应 2 h, 得到 α -磷酸三钙($\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, α -TCP)。将 α -TCP 与 TTCP 按一定比例混匀, 即得 α -TCP/TTCP 复合骨水泥粉末。将 α -TCP/TTCP(比表面积为 $0.7185 \text{ m}^2/\text{g}$) 与固化液(含 3 个羧酸根基团的物质)按固液比 1.25 g/mL 调匀后固化, 凝结时间为 10 min(凝结时间可根据固化液浓度调节)。于 37 °C, 100% 湿度环境中固化 24 h 后, 抗压强度达 45.36 MPa, 抗折强度 7.11 MPa^[9]。对水化 24 h 后的硬化体做 X 射线衍射分析和扫描电镜观察。

1.2 生物相容性实验

采用 α -TCP/TTCP 骨水泥的硬化体粉末或硬化体, 对健康 SD 大鼠及正常人血液做急性毒性试

① [基金项目] 湖北省自然科学基金资助项目(2000J033)

[收稿日期] 2001-07-13; [修订日期] 2001-08-28

[作者简介] 戴红莲(1970-), 女, 助理研究员, 硕士。

验、亚急性毒性试验、肌肉刺激试验、热源试验、溶血试验、凝血试验和骨内埋植试验。

1.3 皮下埋植实验

取小鼠 6 只, 按 35 mg/kg 腹腔注射 1.25% 的戊巴比妥钠溶液麻醉, 在无菌条件下将直径为 5 mm, 厚为 1.5 mm, 固化 24 h 后的 α -TCP/TTCP 硬化体圆片植入小鼠一侧背部。分别于术后 1, 4 和 12 周处死, 将植入物及其 10 mm × 10 mm 范围内组织取出后经相应处理, 做 5 μ m 厚切片, 常规 HE 染色, 观察材料周围组织的反应。

1.4 根尖闭合实验

每只实验狗在相同的牙列区选择相对应的切牙及前磨牙作为实验用牙, 每只狗实验根管 9 例。在麻醉和无菌条件下, 对狗牙颌面开髓、拔髓, 用根管挫人为造成根端开放及根尖周组织创伤, 并使各实验根管的根尖大小一致。将 α -TCP/TTCP 与固化液按固液比 1.25 g/mL 调匀后, 用光滑髓针导入根管。根充后, 将狗于 4, 12 和 20 周分别处死。做牙根及根尖周联合切片, 常规 HE 染色, 用生物光学显微镜观察根尖及其周围组织的变化。用扫描电镜观察材料在根管内的分布及根尖闭合的表面形貌。

2 实验结果

图 1 为 24 h 固化体的 X 射线衍射图谱。可以看出, α -TCP/TTCP 固化 24 h 后的水化产物主要为 HAP。图 2 所示为断面的 SEM 形貌, 可看到水化产物互相交错攀附, 重叠搭接, 形成坚强的结晶主体, 胶凝又填充于晶体骨架的空隙, 形成较为致密的结构。

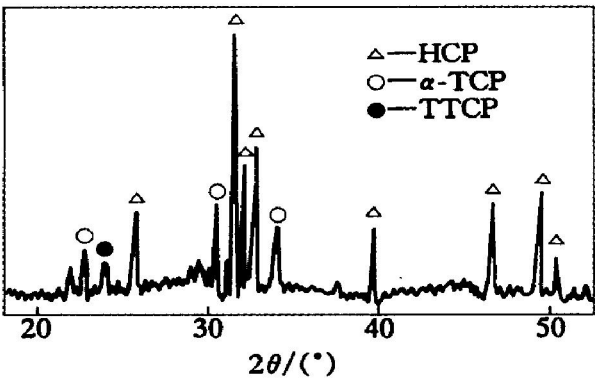


图 1 24 h 后固化体的 X 射线衍射图谱
Fig.1 XRD pattern of α -TCP/TTCP hardened for 24 h

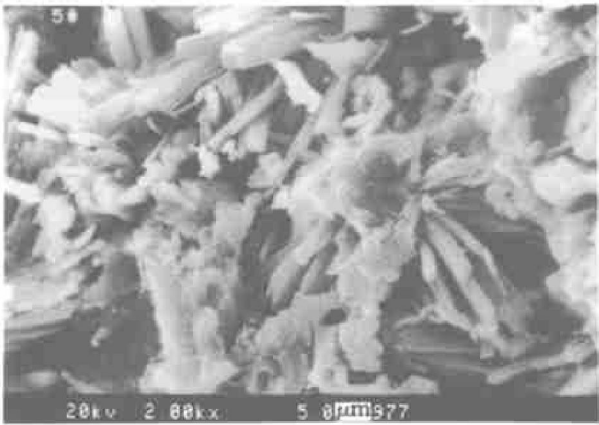


图 2 硬化体断面的扫描电镜照片
Fig.2 SEM photograph of fracture surface of α -TCP/TTCP hardened for 24 h

2.1 生物相容性实验

所有实验动物活动自如, 食欲正常, 7 项生物控制检测结果见表 1。可见 α -TCP/TTCP 对组织无毒、无刺激, 不含热源性物质、不致溶血、凝血, 不引起炎症和排斥反应等, 具有良好的生物相容性。

表 1 生物学检测结果

Table 1 Result of biological test

Test item	Result
Acute toxicity experiment	No bad response such as death, convulsion, and dyspnea or so
Subacute toxicity experiment	Blood routine and hematoblast had no difference compared with that of animals before injection (D > 0.05), no cell degeneration or necrosis in tissue
Muscle stimulation experiment	No stimulation, no distinct difference compared with the control group
Heat source experiment	Limulus polyphemus test was negative, no heat source substance
Cruor experiment	PT, APT, T, TT and fibrous protein belong to normal range, no effect on clotting function
Haemolysis experiment	Haemolysis ration was (3.3 $\pm$ 1.1) %, no hemolytic reaction
Implant in bone experiment	Materials were replaced by bone tissue, the materials combined with bone tissue as a whole after months

2.2 皮下埋植实验

材料植入后, 所有动物健康正常。术后 1 周, 切口愈合, 材料周围组织表现为以渗出为主的急性炎症反应, 血管扩张、充血, 以中性细胞为主的炎性细胞浸润。术后 4 周, 为轻微的慢性炎症反应, 可见小毛细血管及成纤维细胞增生, 伴有少量淋巴细胞、浆细胞和组织细胞浸润。术后 12 周, 无炎症反应, 材料周围形成薄层纤维性包裹(图 3)。



图 3 皮下埋植 12 周后形成的纤维包裹

Fig. 3 Fibre parcel formed after subcutaneous implantation for 12 weeks

2.3 根尖闭合实验

根充 4 周后, 有不同程度钙化组织形成。根尖孔处的材料周围有类骨质样物质沉积, 钙化不完全。牙骨质在根面沉积后向根管内延续, 平行于牙本质壁。新骨周围可见成牙骨质细胞和成纤维细胞。致密的纤维结缔组织向根管内生长, 炎性细胞少见。新的钙化组织、材料和结缔组织相互交织(图 4), 根尖部牙周膜增宽。



图 4 根充 4 周后根尖及其周围组织切片

Fig. 4 Histological sections of apical and periapical tissue after filled for 4 weeks

根充 12 周后, 根尖处形成钙化组织, 与材料结合在一起, 有封闭根尖孔的趋势。新生的钙化组织呈楔形, 在两侧根面外沉积后向根管内延续, 形成较厚的钙化屏障, 为均质的类骨质, 平行于根管壁。类骨质间还夹有致密的胶原纤维束, 交界处可见平行排列着一层牙骨质细胞和成纤维细胞(图 5)。根尖部牙周韧带恢复附着, 有较多的薄壁血管新生。部分标本, 根尖组织已基本恢复正常。

根充 20 周, 大部分根管的根尖完全被封闭, 钙化组织类似细胞性牙骨质, 结缔组织消失。牙周膜恢复正常厚度, 排列有序, 连接钙化屏障和新形成的硬骨板, 无炎症反应(图 6)。



图 5 根充 12 周后根尖及其周围组织切片

Fig. 5 Histological sections of apical and periapical tissue after filled for 12 weeks

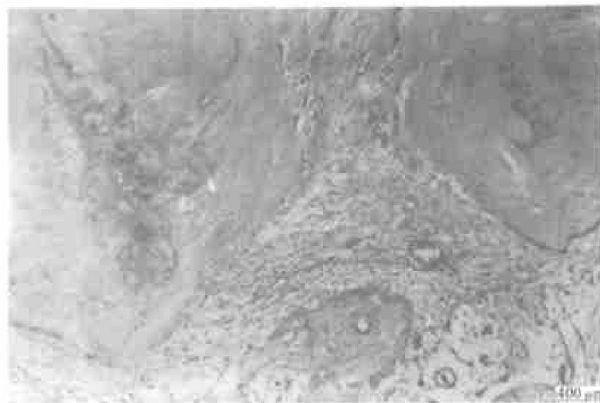


图 6 根充 20 周后根尖及其周围组织切片

Fig. 6 Histological sections of apical and periapical tissue after filled for 20 weeks

扫描电镜观察显示, α -TCP/TTCP 在根管内分布均匀, 整体结构致密, 材料与牙本质壁间均有良好的粘附, 能渗透入牙本质小管(图 7)。根充 4 周, 根尖有少量呈蜂窝状的硬组织形成, 与根面牙骨质连接; 12 周后, 根尖孔有硬组织沉积, 使根尖孔缩小; 20 周后, 根尖孔被硬组织完全封闭, 可见钙盐颗粒沉积在胶原纤维上, 材料被骨组织和牙骨质所取代(图 8)。

3 讨论

α -TCP/TTCP 根充材料由 α -TCP, TTCP 和其水化产物(主要是 HAP) 组成, 其中主要成分为 Ca,

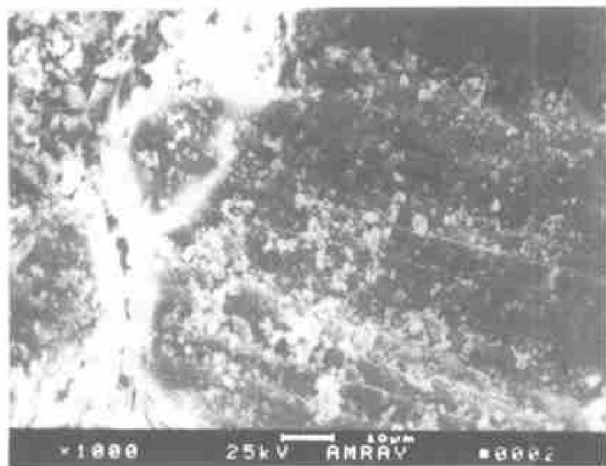


图 7 充填后 α -TCP/TTCP 与根管壁的界面形貌

Fig. 7 SEM morphology of interface between α -TCP/TTCP (left) and canal wall (right)

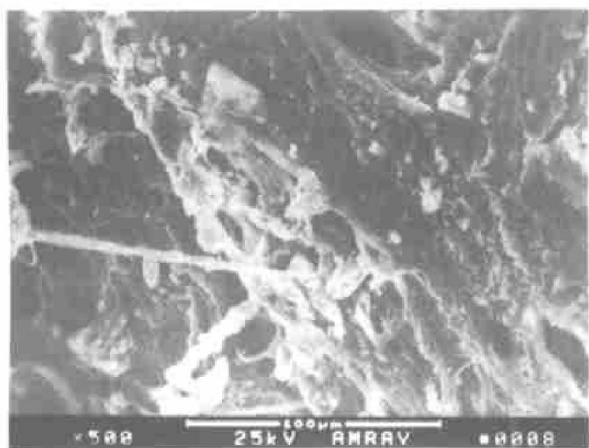


图 8 根充 20 周后根尖孔的表面形貌

Fig. 8 SEM morphology of surface of apex after filled for 20 weeks

P 元素, 二者含量比值为 1.6, 其化学成分及晶体结构与牙骨质中无机成分相似, 所用的固化液也是人体内必不可少的生命物质^[10], 因此, 7 项生物控制检测指标显示它不会产生全身或局部毒性反应, 对肌肉无刺激, 不致溶血、凝血, 不引起炎症和排斥反应等, 有利于骨组织长入并与材料直接紧密接触, 与硬组织具有良好的生物相容性。皮下埋植实验的结果显示炎症反应是由于手术创伤所致。皮下组织对埋植材料的反应不敏感, 充分说明材料与软组织有良好的相容性。

当 α -TCP/TTCP 材料充填根管 4 周时, 周围有较多新骨形成, 且与材料紧密相连; 但植入皮下 12 周, 未观察到任何成骨现象。可见 α -TCP/TTCP 固化体无骨诱导作用, 只是具有良好的生物相容性, 起到适合于新骨沉积的生理支架作用, 即骨传

导作用。 α -TCP/TTCP 固化体由 α -TCP, TTCP 及其水化产物(主要是 HAP)等组成。材料充填到根尖, 未水化的 α -TCP, TTCP 及不定形的钙磷成分可溶解于组织液、血液中, 成为钙、磷离子, 增加了局部钙磷浓度, 并可逐渐被机体吸收参与局部骨基质的钙化或沉积在界面与钙化基质而形成骨性结合, 从而形成微孔结构, 微孔结构和存在着的高钙区域使材料与成牙骨质细胞存在高度亲和性^[11]。水化产物 HAP 是一种难以被吸收的化合物, 呈网状结构, 能有效地形成骨化中心, 起到吸附、聚集钙离子的作用, 并有利于成牙骨质细胞的附着, 为新生骨和纤维结缔组织的生长提供“框架”。它们都通过提供适合于新骨沉积的生理基质, 而引导骨组织长入植入区, 形成骨性结合, 对新骨的形成和骨结合能力有一定的促进作用。在光学显微镜下, 可见新骨、纤维结缔组织与材料相互交织、结合, 钙化屏障的生长均沿材料充填方向, 可见这种引导作用有利于形成类牙骨质和规则的钙化屏障。可以认为, α -TCP/TTCP 材料具有部分生物吸收和骨传导作用, 较单纯 HAP 或 α -TCP 陶瓷更有利于修复缺损, 并引导纤维结缔组织重新附着。

扫描电镜观察可见 α -TCP/TTCP 紧密地粘附于根管壁能渗透入牙本质小管, 部分与牙本质已结合成为整体, 形成了新骨, 发生骨性结合, 显示了材料与牙本质壁高度的亲和性和适合性。 α -TCP/TTCP 作为根充材料, 其水化后材料结构成分与牙本质接近, 充填时超出根尖孔, 也能与新生钙化组织相互融合, 使被破坏的根尖部牙周膜重新附着, 恢复健康状况, 不会成为异物, 有利于促进根尖周损伤的修复。 α -TCP/TTCP 根充材料促进根尖形成钙化屏障的生物学作用很明显, 表现在根尖钙化组织形成时间早, 而且封闭根尖完全。根充 4 周时, 即有大量的类骨质样物质形成。材料在根管内分布均匀、致密, 与根管粘附性好。20 周时, 根尖孔完全被封闭, 根尖周炎症完全消失, 成功地避免了细菌的感染, 这在很大程度上是由于 α -TCP/TTCP 良好的封闭性能。这种好的封闭性, 植入早期得益于 α -TCP/TTCP 水硬化特性, 后期得益于材料的生物可吸收性及其骨传导性能。经 20 周的观察, 实验组根尖孔闭合, 根尖周组织恢复正常, 无需换材料, 这说明 α -TCP/TTCP 作为根充材料治疗根端开放的无髓牙, 可引导新骨长入, 促进根尖孔闭合。

4 结论

α -TCP/TTCP 根充材料具有与软硬组织良好的生物相容性、生物活性和骨传导作用,能较早地引导根尖钙化组织沉积和新骨长入,完全封闭根尖孔,促进根尖周组织愈合,且在根管内均匀分布,紧密粘附于根管壁,形成骨性结合。 α -TCP/TTCP 作根充材料是可行的,适用于根端开放伴根尖周围组织有破坏的根管治疗,并可望提高疗效,缩短疗程,简化操作,具有临床使用价值。

[REFERENCES]

- [1] 邹 静,李少敏.乳牙根管充填材料[J].国外医学口腔医学分册,1999,26(5):265-267.
ZOU Jing, LI Shaomin. Root canal filling materials of deciduous teeth [J]. Foreign Medicine: Stomatology Fascicule, 1999, 26(5): 265-267.
- [2] 陈治清.最新口腔材料学[M].成都:四川科技大学出版社,1989.344-346.
CHEN Zhiqing. Current Oral Materials [M]. Chengdu: Sichuan University of Technology Press, 1989. 344-346.
- [3] Harbert H. One step apexification without calcium hydroxide [J]. J Endod, 1996, 22(12): 690-697.
- [4] Miyazaki K, Horibe T, Antonucci J M, et al. Polymeric calcium phosphate cements: analysis of reaction products and properties [J]. Dent Mater 1993, 9(1): 41-48.
- [5] Chow L C, Takagi S, Sugawara A, et al. X-ray diffraction and electron microscopic characterization of calcium phosphate cement setting reaction [J]. J Dent Res, 1987, 66: 190-197.
- [6] SONG Zhongwei. Stomatology [M]. Beijing: Beijing People's Health Press, 1992. 125-127.
- [7] Dickens Venz S H, Takagi S, Chow L C, et al. Physical and chemical properties of resin-reinforced calcium phosphate cements [J]. Dent Mater, 1994, 10(3): 100-106.
- [8] Fukase Y, Eanes E D, Takagi S, et al. Setting reactions and compressive strengths of calcium phosphate cement [J]. J Dent Res, 1990, 69(12): 1852-1858.
- [9] DAI Hong-lian, YAN Yuhua, WANG Youfa, et al. Properties of the cement materials in α -TCP-TTCP- $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ [J]. Bioceramics, 2000, 13: 821-824.
- [10] 顾汉卿,许国风.生物医学材料学[M].天津:天津科技翻译出版公司,1993.54-56.
GU Hanqing, XU Guofeng. Biomedical Materials [M]. Tianjin: Tianjin Publishing Translation Corporation of Science and Technology, 1993. 54-56.
- [11] DAI Hong-lian, YAN Yuhua, WANG Youfa, et al. Study on the biological properties of α -TCP/TTCP bone cement [A]. The 7th Chinese Biomaterials Symposium [C]. 2000, 10: 51-54.

α -TCP/TTCP root canal filling material

DAI Hong-lian¹, YAN Yuhua¹, WANG Youfa¹, LI Shipu¹,
ZHOU Xuedong¹, ZHU Youjia², DONG Weili²

- (1. Biomedical Materials and Engineering Center, Wuhan University of Technology,
Wuhan 430070, China;
2. Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

[Abstract] A root canal filling material was obtained by mixing α -tricalcium phosphate, tetracalcium phosphate and additives with an aqueous solution containing three carbonyl groups. Powder and liquid were mixed at ratio of 1.25 g/mL. This material has good hydration characteristic, appropriate setting time and compressive strength, which accords with the desire of clinic. The biocompatibility of this material was investigated primarily by in vitro test and animal experiments. The α -TCP/TTCP cement was used to fill adult dogs' root canal, the effects of the material on the apical closure, restoration of periapical tissues and adaptability to the dentinal surface were observed by histomorphology and SEM. The results show that α -TCP/TTCP composite cement has excellent biocompatibility with soft and hard tissues, it hydrates and hardens continually in root canal. Its osteoconductivity can promote the formation of calcific barriers and healing of periapical tissue. The apex can be closed completely.

[Key words] α -TCP/TTCP cement; root canal filling; histocompatibility; apical closure

(编辑 陈爱华)