

# 牙科铸造合金诱发慢性毒副作用细胞机制的研究进展

赵飞综述 王革审校

(口腔基础医学省部共建国家重点实验室培育基地和口腔生物医学教育部重点实验室, 武汉大学口腔医学院 武汉 430079)

[摘要] 牙科铸造合金在口腔临床中被广泛应用,而合金修复后在长期使用过程中,由于口腔内复杂微环境的影响,合金在口腔中的腐蚀会引起金属离子析出。大量的研究发现:这些析出的金属离子会对邻近的组织和细胞带来不同程度的慢性毒副作用,主要包括局部不良反应和全身不良反应。由于全身不良反应的发生率较低,相关的数据报道也比较有限,所以对合金中析出的金属离子引起的口腔局部不良反应成为国内外学者研究的热点。本文就铸造合金析出的金属离子对组织和细胞的毒副作用的研究现状及相应的细胞调控机制作一综述。

[关键词] 牙科铸造合金; 离子析出; 细胞毒性; 免疫反应; 氧化应激

[中图分类号] R 783.1 [文献标志码] A [doi] 10.3969/j.issn.1673-5749.2012.02.031

**Research progress on the cell regulation mechanisms of chronic toxicity of dental casting alloys** Zhao Fei, Wang Ge. [The State Key Laboratory Breeding Base of Basic Science of Stomatology(Hubei-MOST) & Key Laboratory of Oral Biomedicine Ministry of Education, School and Hospital of Stomatology, Wuhan University, Wuhan 430079, China]

[Abstract] Dental casting alloys have been widely used in dental restorations. Due to the complex microenvironment in the mouth, the corrosion of dental casting alloys leads to the release of elements from alloys for prolonged time. Previous studies have shown that the release of ions from alloys is directly related to chronic adverse biological effects on the surrounding tissues and cells. The adverse effects contain local undesirable reactions and systemic symptoms, however, the dates available about the incidence of systemic symptoms are regarded as scarce, so the local adverse reactions of metal ions released from alloys have become the focus extensively investigated. This article addressed the toxic effects of metallic ions released from casting alloys as well as the cell regulation mechanisms are reviewed.

[Key words] dental casting alloy; ion releasing; cytotoxicity; immunoreaction; oxidative stress

铸造合金材料因其良好的生物学性能在现代口腔临床中得到广泛应用,尽管这些合金材料在投放市场之前都经过了严格的毒性检验并符合国家标准,但其含有的镍、铬、钴等重金属元素会随着合金的腐蚀缓慢释放到口腔内,引起局部或全身的不良反应。对牙科铸造合金金属离子的析出及其对机体影响的研究,也成为国内外学者研究的热点领域。基于这些重金属离子毒副作用的临床事实,明确其相应的调控机制对于临床上预防和治疗铸造金属合金所致的牙龈组织的毒副作

用具有非常重要的指导意义。

## 1 铸造合金的分类及应用

目前,牙科铸造合金材料按其组成合金的主要元素价值分类,可分为以下3类:1)高贵金属合金(贵金属金、铂、钯的质量分数 $\geq 60\%$ ,其中金的质量分数 $\geq 40\%$ );2)贵金属合金(贵金属金、铂、钯的质量分数 $\geq 25\%$ );3)非贵金属合金(贵金属金的质量分数 $< 25\%$ )<sup>[1]</sup>。

当今欧美等发达国家因贵金属合金如金合金具有稳定的物理化学性能、良好的生物相容性和耐腐蚀性,已将其作为首选的牙科合金材料<sup>[2]</sup>,统计显示:这些国家高贵金属合金、贵金属合金与非贵金属合金三者的消费比例为40:40:20;非贵金属合金使用后具有潜在的不良反应,在临床

[收稿日期] 2011-05-18; [修回日期] 2011-11-07

[基金项目] 湖北省卫生厅基金资助项目(JX4D05);中央高校基本科研业务费专项基金资助项目(3081017)

[作者简介] 赵飞(1986—),女,山东人,硕士

[通讯作者] 王革, Tel: 027-87686221

中的应用已明显减少,尤其是镍基合金、铜基合金等,但在中国这样的发展中国家,由于经济条件的限制,目前其仍然是口腔修复中最常用的合金材料。虽然这些合金在使用前经过了一系列的测试,但由于口腔内复杂的微环境的影响及机体的个体差异性,患者在长期使用中仍可能会发生局部或全身慢性的不良反应<sup>[3-5]</sup>。

## 2 铸造合金的腐蚀及金属离子的析出

牙科铸造合金在临床使用中由于口腔中的潮湿环境、食物的降解、温度、氧压、菌斑附着和pH值的变化等因素的影响非常容易发生腐蚀<sup>[6]</sup>。几乎所有合金在口腔内的长期使用中都会发生腐蚀,这种腐蚀主要是一种长期缓慢的电化学腐蚀,在这个过程中合金中的元素离子化,使原来不带电的元素失去电子,变为阳离子并释放到唾液中。大量的研究<sup>[3,6-8]</sup>表明:牙科铸造合金在口腔内的毒副反应几乎都是因合金腐蚀导致金属离子析出而引起的,戴用铸造合金的患者的唾液中<sup>[7-8]</sup>和牙龈中都能检测到合金的腐蚀产物。当合金的腐蚀导致金属离子的析出量超过生理耐受量时,就可能导致机体局部或全身的伤害。

## 3 金属离子的毒性作用

长期使用铸造金属材料后,金属离子会过量沉积在牙龈和其他口腔黏膜上皮中,并对局部和全身产生慢性毒副作用。Ortengren等<sup>[9]</sup>报道了139例对底层金属合金出现不良反应的病例,出现肘、膝、腰等处全身症状的有33例,而存在炎症、着色等局部症状的则多达99例。

金属离子释放到口腔后,可经消化道上皮、牙龈或其他口腔组织进入人体内(汞还可以通过肺进入机体),引起全身性的不良反应,主要表现为:基因突变、致癌性、过敏性等。如流行病学调查显示:口腔科技师长期接触镍、铬、钴,会致其淋巴细胞和鼻黏膜细胞的基因损伤<sup>[10]</sup>。学者们还证明:镍、铬、钴及其衍生物都有潜在的致癌性<sup>[11]</sup>。也有研究表明:普通人群中约有15%对镍过敏,8%对钴过敏,8%对铬过敏<sup>[12]</sup>。但总的看来,于全身性影响的相关研究还比较有限,关于元素的摄入量占释放量的比重,在体内通过何种途径代谢、排泄等问题,目前还缺少相关研究。

相对于全身反应,局部反应在临床上较常见,这也是学者们所研究的热点领域。在口腔

中,牙科铸造合金与牙龈、口腔黏膜等局部组织密切接触,可引起局部毒性反应,在临床上主要表现为:口干症、唇炎、牙龈炎、金属味苔藓样变、口腔黏膜腐蚀、“龈灰线”等慢性毒副作用的症状<sup>[13]</sup>。

## 4 金属离子诱发慢性毒副作用的细胞机制

关于铸造合金析出的金属离子引起机体出现上述不良反应的机制,目前已有大量深入细胞水平的研究,综合其细胞调控机制主要包括:修复体引起直接的机械刺激、金属离子介导的免疫反应、合金析出液的细胞毒性、金属离子诱导的氧化应激反应等,现分别进行综述。

### 4.1 修复体引起直接的机械刺激

合金戴入后,长期与牙龈组织密切接触,改变了局部的微环境。武红艳等<sup>[14]</sup>的研究显示:修复体与患牙的密合度和牙龈炎的发生有密切的关系。合金全冠修复后,由于冠边缘存在微渗漏、边缘适合性欠佳,或形态不良的冠边缘位于龈下刺激牙龈,或通过食物的积存形成菌斑和牙结石,引起牙周微生态环境的变化,破坏起屏障作用的上皮附着,而使牙周组织和牙龈产生不同程度的炎症反应<sup>[15]</sup>。另一种观点认为:无论冠边缘与牙龈缘的关系如何,不密合的冠边缘本身就是产生牙龈炎的直接机械刺激因素。Iijima<sup>[16]</sup>在扫描电子显微镜下观察镍铬合金烤瓷冠周围变色的牙龈,结果发现有大量吞噬细胞聚集并内含强阳性染色颗粒,通过分析,这些颗粒不发射金属谱线,证实并非金属物质;所以他们认为是由于组织细胞通过吞噬作用,携带碎屑进入细胞内,并聚集在邻近组织引起牙龈及牙周炎症反应,并非合金的金属元素。

### 4.2 金属离子介导的免疫反应

合金腐蚀释放的金属离子进入龈沟液,改变了牙周的微生态环境,使牙龈和牙周组织细胞内的炎症介质如白细胞介素(interleukin, IL)-1、6及肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- $\alpha$ 的分泌量增加,通过免疫反应,引起局部的炎症。

大量的体内外研究均证实:铸造合金释放的金属离子引起细胞内炎症因子的释放增加。如一些学者<sup>[17-18]</sup>通过上皮细胞、巨噬细胞与牙科合金材料共同培养后发现:氯化镍、氯化钴和其他合金溶液可导致细胞的炎症介质IL-6、IL-1 $\beta$ 的分泌量明显增加, TNF- $\alpha$ 的水平明显升高。此外,

研究者们还发现：除了上述的炎性介质外，牙科铸造合金对其他细胞因子如细胞前列腺素E2 (prostaglandin E2, PGE2)、弹性蛋白酶(elastase, EA)等也有影响，会使其分泌量增加，而这些也与牙龈及牙周炎症密切相关。

#### 4.3 合金析出液的细胞毒性

大量关于牙科铸造合金细胞毒性的研究表明：合金释放出的金属离子对细胞的毒副作用主要是降低细胞的代谢能力，抑制细胞的增殖，引起DNA的损伤<sup>[19]</sup>，诱导细胞凋亡。体内外的研究<sup>[20]</sup>也表明：低浓度的镍( $15\sim 30\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )可影响葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的活性，减少DNA、RNA和蛋白质的合成，抑制其转录与复制，还可抑制体外成纤维细胞的生长。张勇等<sup>[21]</sup>还检测了3种牙科合金材料的细胞毒性等级，结果显示：镍铬合金对小鼠牙龈成纤维细胞DNA损伤的等级为重度损伤，而钴铬合金和金合金组的DNA损伤等级分别为中度和轻度损伤。

#### 4.4 金属离子诱导的氧化应激反应

现有的研究<sup>[22-23]</sup>显示：金属离子可形成细胞内氧化压力源，使细胞产生氧化应激反应，如诱导过氧化物和超氧化物等活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生，引起蛋白质、脂类、核酸等生物大分子的氧化从而导致其生物活性丧失，介导DNA损伤<sup>[24-25]</sup>，促使细胞凋亡。

一些学者<sup>[26-27]</sup>对铬和镉离子毒性的氧化机制进行了研究，结果发现：铬离子和镉离子分别通过氧化还原反应、诱导ROS的产生这2种不同的氧化机制来引起细胞内的氧化应激反应，并导致生物大分子的氧化破坏。Wataha等<sup>[28]</sup>将人单核细胞暴露于从牙科材料中释放的镍、钴、铜等金属离子中，结果发现：这些离子可诱导细胞内的氧化应激反应。此外，学者们还对金属诱导肿瘤、突变等疾病的化学过程进行了研究，结果发现：机制涉及不同的ROS、脂质过氧化和来源于金属催化的自由基如 $\text{O}^{2-}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、其他的氨基酸、多肽和蛋白质等的氧化还原反应及DNA的氧化损伤，这些发现都支持了金属离子通过引起氧化应激反应，可带来一系列的病理损害这一事实。

## 5 结语

综上，关于牙科铸造合金金属离子的析出及对机体慢性毒副作用影响的研究已非常的广泛，然而对其毒副作用机制的研究还较多的局限于细

胞水平上，而深入的分子机制还有待进一步的探索，明确这些作用机制对临床上预防和治疗铸造金属合金所致的牙龈组织的毒副作用以及开发用于解毒的生物学物质具有非常重要的指导意义。

此外，口腔铸造合金慢性毒副作用的发生存在着很大的个体差异，从个性化治疗的角度，如何选择合适的修复材料；从新材料的研发角度，能否用其他价格低廉、生物相容性更好、不良反应较小的合金材料来替代镍铬合金等材料，还需进一步的研究。鉴于目前铸造合金戴用后引起局部和全身的不良反应，对这些患者的诊断和治疗还需要口腔科、皮肤科、内科等多学科医生的共同合作和综合评估，以求达到更好的治疗效果。

## 6 参考文献

- [1] 薛森. 牙科贵金属合金的过去和现状(三)[J]. 口腔材料器械杂志, 2005, 14(1): 44-47.
- [2] Elshahawy WM, Watanabe I, Kramer P. *In vitro* cytotoxicity evaluation of elemental ions released from different prosthodontic materials[J]. Dent Mater, 2009, 25(12): 1551-1555.
- [3] Schmalz G, Garhammer P. Biological interactions of dental cast alloys with oral tissues[J]. Dent Mater, 2002, 18(5): 396-406.
- [4] Hornez JC, Lefèvre A, Joly D, et al. Multiple parameter cytotoxicity index on dental alloys and pure metals[J]. Biomol Eng, 2002, 19(2/3/4/5/6): 103-117.
- [5] Hosoki M, Bando E, Asaoka K, et al. Assessment of allergic hypersensitivity to dental materials[J]. Biomed Mater Eng, 2009, 19(1): 53-61.
- [6] Can G, Akpınar G, Aydın A. The release of elements from dental casting alloy into cell-culture medium and artificial saliva[J]. Eur J Dent, 2007, 1(2): 86-90.
- [7] Garhammer P, Hiller KA, Reitingger T, et al. Metal content of saliva of patients with and without metal restorations[J]. Clin Oral Investig, 2004, 8(4): 238-242.
- [8] 殷丽华, 余占海, 马昕, 等. 口腔医用镍钛合金高级氧化法改性的离子析出量研究[J]. 口腔医学研究, 2011, 27(1): 23-25.
- [9] Ortengren U, Andreasson H, Karlsson S, et al. Prevalence of self-reported hand eczema and skin symptoms associated with dental materials among Swedish dentists[J]. Eur J Oral Sci, 1999, 107(6): 496-505.
- [10] Burgaz S, Demircigil GC, Yilmazer M, et al. Assessment of cytogenetic damage in lymphocytes and in exfoliated nasal cells of dental laboratory technicians exposed to chromium, cobalt, and nickel[J]. Mutat Res, 2002, 521(1/2): 47-56.
- [11] Faccioni F, Franceschetti P, Cerpelloni M, et al. *In vivo* study on metal release from fixed orthodontic appliances

- and DNA damage in oral mucosa cells[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2003, 124(6) :687-694.
- [12] Namikoshi T, Yoshimatsu T, Suga K, et al. The prevalence of sensitivity to constituents of dental alloys[J]. J Oral Rehabil, 1990, 17(4) :377-381.
- [13] Garhammer P, Schmalz G, Hiller KA, et al. Metal content of biopsies adjacent to dental cast alloys[J]. Clin Oral Investig, 2003, 7(2) :92-97.
- [14] 武红艳, 何惠明, 王忠义, 等. 两种冠边缘设计对龈沟液中IL-6和TNF- $\alpha$ 表达的影响[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2003, 13(12) :700-702.
- [15] 潘冬冬, 张修银. 金属烤瓷冠修复体对牙龈健康的影响因素[J]. 口腔材料器械杂志, 2005, 14(2) :83-85, 88, 92.
- [16] Iijima S. Histopathological study of the effect of pure metals to the periodontal tissues[J]. Nihon Shishubyo Gakkai Kaishi, 1989, 31(4) :997-1020.
- [17] Schmalz G, Schweikl H, Hiller KA. Release of prostaglandin E<sub>2</sub>, IL-6 and IL-8 from human oral epithelial culture models after exposure to compounds of dental materials[J]. Eur J Oral Sci, 2000, 108(5) :442-448.
- [18] Wataha JC, Ratanasathien S, Hanks CT, et al. *In vitro* IL-1 beta and TNF-alpha release from THP-1 monocytes in response to metal ions[J]. Dent Mater, 1996, 12(6) :322-327.
- [19] Contreras RG, Sakagami H, Nakajima H, et al. Type of cell death induced by various metal cations in cultured human gingival fibroblasts[J]. *In Vivo*, 2010, 24(4) :513-517.
- [20] Messer RL, Lucas LC. Cytotoxicity of nickel-chromium alloys :Bulk alloys compared to multiple ion salt solutions[J]. Dent Mater, 2000, 16(3) :207-212.
- [21] 张勇, 韦纪英. 烤瓷合金对机体细胞毒性的实验研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2010, 26(9) :929-930.
- [22] Czarna M, Jarmuszkiewicz W. Role of mitochondria in reactive oxygen species generation and removal; relevance to signaling and programmed cell death[J]. Postepy Biochem, 2006, 52(2) :145-156.
- [23] Matsui H, Oyama TM, Okano Y, et al. Low micromolar zinc exerts cytotoxic action under H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress :Excessive increase in intracellular Zn<sup>2+</sup> concentration[J]. Toxicology, 2010, 276(1) :27-32.
- [24] Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease[J]. Toxicology, 2011, 283(2/3) :65-87.
- [25] Saito C, Yan HM, Artigues A, et al. Mechanism of protection by metallothionein against acetaminophen hepatotoxicity[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2010, 242(2) :182-190.
- [26] Stohs SJ, Bagchi D, Hassoun E, et al. Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions[J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol, 2000, 19(3) :201-213.
- [27] Wolf MB, Baynes JW. Cadmium and mercury cause an oxidative stress-induced endothelial dysfunction[J]. Biometals, 2007, 20(1) :73-81.
- [28] Wataha JC, Lewis JB, Lockwood PE, et al. Effect of dental metal ions on glutathione levels in THP-1 human monocytes[J]. J Oral Rehabil, 2000, 27(6) :508-516.

(本文编辑 王姝)

(上接第243页)

- 128(1) :71-83.
- [12] Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, et al. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption[J]. J Bone Miner Res, 2000, 15(1) :2-12.
- [13] Wittrant Y, Theoleyre S, Couillaud S, et al. Relevance of an *in vitro* osteoclastogenesis system to study receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand and osteoprotegerin biological activities[J]. Exp Cell Res, 2004, 293(2) :292-301.
- [14] Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease[J]. J Periodontol, 2008, 79(Suppl 8) :1569-1576.
- [15] Nakamura H, Tsuji T, Hirata A, et al. Localization of osteoprotegerin(OPG) on bone surfaces and cement lines in rat tibia[J]. J Histochem Cytochem, 2002, 50(7) :945-953.
- [16] Shinoda K, Sugiyama E, Taki H, et al. Resting T cells negatively regulate osteoclast generation from peripheral blood monocytes[J]. Bone, 2003, 33(4) :711-720.
- [17] Zaiss MM, Axmann R, Zwerina J, et al. Treg cells suppress osteoclast formation :A new link between the immune system and bone[J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(12) :4104-4112.
- [18] Choi Y, Woo KM, Ko SH, et al. Osteoclastogenesis is enhanced by activated B cells but suppressed by activated CD8<sup>+</sup> T cells[J]. Eur J Immunol, 2001, 31(7) :2179-2188.
- [19] Kong YY, Feige U, Sarosi I, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand[J]. Nature, 1999, 402(6759) :304-309.
- [20] Gao Y, Grassi F, Ryan MR, et al. IFN-gamma stimulates osteoclast formation and bone loss *in vivo* via antigen-driven T cell activation[J]. J Clin Invest, 2007, 117(1) :122-132.
- [21] Takayanagi H, Ogasawara K, Hida S, et al. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling cross-talk between RANKL and IFN-gamma[J]. Nature, 2000, 408(6812) :600-605.

(本文编辑 刘世平)