

· 综 述 ·

# 定量光敏荧光技术用于釉质脱矿与再矿化的研究进展

李新高 综述, 赵 今 审校

(新疆医科大学第一附属医院口腔科, 乌鲁木齐 830054)

关键词: 定量光敏荧光技术; 釉质; 矿化

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.24.064

中图分类号: R781.101

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)24-3435-03

近年来,一种可以定量监测牙釉质脱矿与再矿化仪器-光敏荧光仪,引起了国内外学者的关注<sup>[1]</sup>。国外有研究中心已使用该仪器进行了牙齿矿化方面的研究。国内此项研究报道很少,本文就该技术应用于釉质脱矿与再矿化研究进展作一综述。

## 1 釉质脱矿与再矿化研究的意义

龋病是世界一种最常见的慢性感染性疾病<sup>[2]</sup>。其主要发病机制是菌斑下的致龋菌在代谢过程中产酸,造成局部微环境的 pH 值下降,导致硬组织脱矿,羟磷灰石晶体溶解破坏,无机钙、磷移出所致。该过程是一个动态的过程<sup>[3]</sup>,是由混杂因素决定的<sup>[4]</sup>。现代观念认为,不管临床上是否可见,此过程都是无数次脱矿和再矿化积累的结果<sup>[5]</sup>。再矿化是部分溶解的晶体被来源于溶液中的钙磷离子沉积诱导而增长的过程,因此,再矿化是对抗致龋因素攻击的一个很重要的自然修复过程,它不但可以维持牙齿硬组织矿物质丢失与获得之间的平衡而且还可导致龋损的修复。对于早期龋损,如何抑制脱矿、促进再矿化,推动龋病早期防治,显得尤为重要。基于对该病的认识,大量学者进行了研究。在研究中,如何对全过程进行监测并量化矿化过程是难点。定量光敏荧光技术(quantitative light-induced fluorescence,QLF)的诞生,可以解决这一问题,引起了国内外学者的兴趣。

## 2 QLF

**2.1 QLF 的原理(图 1)及发展史** QLF 是以牙齿自荧光现象为基本原理,用高强度蓝光照射牙齿,光线穿过透明的瓷釉层,除少部分被吸收外,大部分都被捕获,健康牙齿发出绿色光谱段的荧光<sup>[6]</sup>,龋损区呈黑色。该技术可以对早期釉质龋定量评价,也可对病损区脱矿和再矿化过程进行动态监测。是目前已被临床研究验证的定量探测早期龋损的光学方法。

早在 1911 年,Stübel 等<sup>[7]</sup>发现了荧光现象,之后的研究者证实了荧光是无害的方法。直到 20 世纪 90 年代,荧光图像仅仅通过肉眼评估。随后,研究者逐渐聚焦在量化龋病过程,通过改进 QLF 相机而提升了系统。同时弧灯光源( $\lambda=488\text{ nm}$ )和黄色的滤过器( $\lambda\geq 520\text{ nm}$ )依然适合系统,病损区荧光图像可以由 CCD 相机获得并储存,因而每一个病损都可以量化分析。QLF 系统再一次改进是变更光源为蓝色的波谱范围( $\lambda=370\text{ nm}$ )和使用滤光器(Hoya 0~52, $\lambda\geq 520\text{ nm}$ )。改进使得图像上的干扰因素得以避免。目前,大多数改进主要是软件的更新。

**2.2 QLF 仪器组成** 该系统由光源,口腔内部设备、计算机 3 部分组成,光源选用的是 35 W 氙弧灯,它发出的白光通过 1 个蓝光带通滤波器带宽 80 nm,产生的高强度蓝紫光,通过充液光导传输,棱镜使光线发生全反射,照明牙齿,到达牙面上的光线最大波长为  $\lambda=410\text{ nm}$ <sup>[8]</sup>。激发产生的荧光通过黄光滤

波器,用 1 台彩色 CCD 拍摄并存入计算机中,然后用 QLF 软件处理、分析、判断不同脱矿阶段的矿物含量变化<sup>[9]</sup>。QLF 软件测量的参数有:(1)荧光损失  $\Delta F(\%)$ ;(2)病损区域 A ( $\text{mm}^2$ );(3)综合荧光变化  $\Delta Q(\%\text{mm}^2)$  ( $\Delta Q = \Delta F \times A$ )<sup>[10]</sup>。荧光的减少通过计算实际和重构的荧光表面的百分比差别来确定<sup>[11]</sup>。荧光降幅超过 5% 的任何区域都认为是病变区。

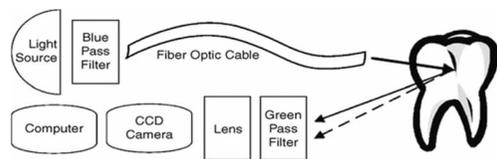


图 1 QLF 技术原理图

**2.3 QLF 特点** (1)能够早期探测到釉质脱矿和动态监测疾病发展过程<sup>[12]</sup>。(2)图像清晰度高,QLF 图像拍摄呈黄绿色荧光,避免了反射,视觉效果好,可以准确鉴别龋病。(3)增强患者的依从性。QLF 可以检测龋病的早期阶段,可以使患者直观地看到病情,更好地配合医务人员治疗<sup>[8]</sup>。(4)QLF 是一种无害、无破坏性的方法。(5)高度敏感性和结果可重复性。研究显示 QLF 有较高的敏感性,相关系数在 0.77~0.93<sup>[13]</sup>。

## 3 QLF 在釉质矿化研究中的应用

**3.1 QLF 在口腔研究中主要应用领域** QLF 仪器主要用于检测、量化及监测平滑面龋。因量化变得可行,已可以对疾病不同阶段进行归类。研究还显示:结果具有较高的重现性并证实了荧光量的改变是随着病损变化而变化,它可以对早期牙齿表面病损脱矿再矿化过程进行临床评估。可在 24 h 内发现脱矿现象<sup>[14]</sup>。有研究认为它也可检测乳牙<sup>[15-16]</sup>。

**3.2 QLF 仪器操作注意事项** 要使 QLF 图像清晰、质量高,应严格按照以下要求操作<sup>[12]</sup>:(1)牙齿必须干燥,或者棉卷隔湿,空气吹干。(2)牙菌斑必须清除,它可以产生红色荧光<sup>[6]</sup>,影响结果。(3)外在的着色必须去除,它将会影响到牙面的荧光<sup>[17]</sup>。(4)为避免其他光线干扰,周围的光线尽可能地降低。

**3.3 QLF 与其他主要研究方法的比较** (1)横断显微照相术(TMR)是目前被广泛接受的评估牙齿硬组织脱矿与再矿化的方法,是研究早期龋损的“金标准”。它需要将牙体硬组织切割,属于破坏性方法。(2)横断显微硬度测试法(CSMH)应用于抛光的半切牙齿的切平面。CSMH 能够提供矿物质损失与获得的间接证据,其结果与釉质标本测试区下方的矿物含量明显相关。它能够间接定量测定矿物含量和估价矿物质损失与获得量,并能够获得矿物的分布轮廓。(3)共聚焦激光扫描显微镜(CLSM)已广泛应用于龋病的研究。测试标本不需制成薄的切片,可以是牙切片,也可以是牙块,可以进行定量研究,是一种无创的方法。但所测得的参数与矿物含量的关系不像

TMR 测得参数那样直接,故其应用范围仍不确切。(4)QLF 它是被临床研究验证的定量探测早期龋损的光学方法,应用 QLF 定量测定矿物损失量,并与 TMR 比较,两种方法的结果高度相关,而 QLF 具有较低的判别域值<sup>[18]</sup>。应用 QLF 原位定量检测氟化物对早期釉质龋损的再矿化作用,所测得再矿化的量 TMR 测得的结果高度相关( $r=0.76$ )<sup>[19]</sup>。

**3.4 QLF 技术目前存在的问题** (1)研究证实,QLF 荧光的敏感性与牙齿组织的脱水程度有相关作用。短时间内检测,影响不大,但若长时间动态监测,则考虑到牙齿表面水合作用影响。(2)QLF 仪器的摄像头应与牙面垂直,若存在多处病损,有些区域图像是不能获得的<sup>[8]</sup>。(3)QLF 准确性优于视诊,但操作不方便、耗时、价位较高,限制了门诊应用<sup>[20]</sup>。(4)QLF 对光滑面龋敏感性及特异性较高<sup>[12]</sup>,对咬合面龋还有待提高。(5)有学者认为 QLF 有时也提供错误的信息,对于未形成洞形的早期龋,没有专业的干预,多数也可自行改善,花费如此高成本是否值得<sup>[21]</sup>。

**3.5 目前研究现状** 关于 QLF 改进一直在进行,重要的研究始于 Stookey<sup>[22]</sup>1998 年门诊研究,主要是视屏系统的改进,使得获取要求区域图像可以重现。已成为 QLF 系统的组成部分。

此外,图像分析和获取在口内显示较好的重复性,对比图像获取相关系数在 0.95~0.98,图像分析相关系数在 0.93~0.99 之间。为了使该技术更具操作性,应从以下 3 点进行改进:(1)QLF 仪器的版式用于门诊初始研究。(2)QLF 用于检查和监测早期龋病的能力适用于门诊。(3)新的测试系统设计应更具鉴别性和适用性,考虑将早期病损作为起点和可接受的合理量化评估,而不仅仅以龋洞形成作为最后结局<sup>[6]</sup>。

#### 4 总 结

口腔健康是全身健康的重要组成部分<sup>[23]</sup>,随着口腔保健意识的提升,龋病的预防引起了人们广泛重视,釉质矿化研究越来越热。QLF 作为一种可以对牙釉质早期脱矿进行诊断、监测,同时可以对再矿化过程进行评估,引起了很多研究机构的青睐。如果将 QLF 的特性与矿化研究有机地结合起来,那么将会推动矿化研究的步伐。虽然,QLF 本身还存在着一些问题,如门诊实际应用受限、价位较高等,相信随着科技的发展,问题将会迎刃而解。有理由相信,QLF 将会在今后的矿化研究中展现出强健的生命力。

#### 参考文献:

- [1] Mendes FM, de Olivera E, de Faria DL, et al. Ability of laser fluorescence device associated with fluorescent dyes in detecting and quantifying early smooth surface caries lesions[J]. J Biomed Opt, 2006, 11(2):24007.
- [2] Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, et al. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults[J]. J Clin Microbiol, 2008, 6(4):1407.
- [3] 冯岩,尹伟,胡德渝. 定量光导荧光技术评价光滑面早期龋损再矿化时间的临床研究[J]. 实用口腔医学杂志, 2008, 24(4):563.
- [4] Trairatvorakul C, Kladkaew S, Songsiripradaboon S. Active management of incipient caries and choice of materials [J]. J Dent Res, 2008;87(3):228.
- [5] Barbería E, Maroto M, Arenas M, et al. A clinical study of caries diagnosis with a laser fluorescence system[J]. J Am Dent Assoc, 2008, 139(5):572.
- [6] Zandoná AF, Zero DT. Diagnostic tools for early caries detection[J]. J Am Dent Assoc, 2006, 137:1675.
- [7] Kühnisch J, Heinrich-Weltzien R. Quantitative licht-induzierte Fluoreszenz(QLF)-ein Literaturüberblick[J]. Inter J Computerized dentistry, 2004, 7:325.
- [8] Adeyemi AA, Jarad FD, Pender N, et al. Comparison of quantitative light-induced fluorescence (QLF) and digital imaging applied for the detection and quantification of staining and stain removal on teeth[J]. J Dent, 2006, 34:460.
- [9] Rodrigues AJ, Hug L, Diniz MB, et al. Performance of Fluorescence Methods, Radiographic Examination and IC-DAS II on Occlusal Surfaces in vitro [J]. Caries Res, 2008, 42:297.
- [10] Heinrich-Weltzien R, Kühnisch J, Ifland S, et al. Detection of initial caries lesions on smooth surfaces by quantitative light-induced fluorescence and visual examination: an in vivo comparison[J]. Eur J Oral Sci, 2005, 113:494.
- [11] Pretty IA, Pender N, Edgar WM, et al. The in vitro detection of early enamel de- and re mineralization adjacent to bonded orthodontic cleats using quantitative light-induced fluorescence[J]. Eur J Orthod, 2003, 25(9):217.
- [12] Mattousch TJH, van der Veen MH, Zentner A. Caries lesions after orthodontic treatment followed by quantitative light-induced fluorescence: a 2-year follow-up[J]. Eur J Orthod, 2007, 29:294.
- [13] Tranaus SF, Shi XQ, Trollsas K, et al. In vivo quantification of natural caries lesions using the quantitative light-induced fluorescence method—a reproducibility study[J]. SPIE, 2000, 3910:235.
- [14] Pretty IA, Ellwood RP. Comparison of Paired Visual Assessment and Software Analyses of Changes in Caries Status over 6 Months from Fluorescence Images [J]. Caries Res, 2007, 41:115.
- [15] Pretty IA, Ellwood RP. Comparison of Paired Visual Assessment and Software Analyses of Changes in Caries Status over 6 Months from Fluorescence Images [J]. Caries Res, 2007, 41:115.
- [16] Pretty IA, Edgar WM, Higham SM, et al. Detection of in vitro demineralization of primary teeth using quantitative light-induced fluorescence(QLF)[J]. Int J Paediatr Dent, 2002, 12:158.
- [17] van der Veen MH, Thomas RZ. Red Autofluorescence of Dental Plaque Bacteria[J]. Caries Res, 2006, 40:542.
- [18] Lennon AM, Buchalla W, Brune L, et al. The ability of selected oral microorganisms to emit red fluorescence[J]. Caries Res, 2006, 40(1):2.
- [19] 楚金普. 牙齿硬组织脱矿与再矿化的研究方法[J]. 国外医学, 2006, 33(1):3.
- [20] Kühnisch J, Ifland S, Traneus S, et al. In vivo detection of non-cavitated caries lesions on occlusal surfaces by visual inspection and quantitative light-induced fluorescence[J]. Acta Odontol Scand, 2007, 65:183.

[21] Nyvad B. Diagnosis versus detection of caries[J]. Caries Res, 2004, 38:192.

[22] Stookey GK. Optical methods quantitative light fluorescence[J]. J Dent Res, 2004, 83:C84.

[23] 李丛华, 杨霞, 吴亚菲. 牙周炎危险因素问卷调查报告[J]. 重庆医学, 2009, 38(20):2597.

(收稿日期:2010-06-23 修回日期:2010-08-13)

· 综 述 ·

## 抗磷脂抗体导致妊娠丢失动物模型研究进展

朱 姝<sup>1#</sup> 综述, 陆启滨<sup>2△</sup> 审校

(1. 南京中医药大学 2008 级中医妇科, 江苏南京 210029; 2. 江苏省中医院妇科, 南京 210029)

关键词: 复发性流产; 抗磷脂抗体; 动物模型

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.24.065

中图分类号: R714.21; R-332

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)24-3437-03

复发性流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)是临床上常见的疾病之一,其病因除与遗传、解剖、内分泌、感染有关外,相当比例的 RSA 与抗磷脂抗体(antiphospholipin antibodies, aPL)有关,是抗磷脂综合征(antiphospholipid syndrome, APS)主要的临床表现之一。aPL 导致流产的病因多认为与血栓形成有关,但具体机制不明,为了更好地研究 aPL 与妊娠丢失的关系,建立其动物模型显得尤为重要, aPL 导致妊娠丢失的动物模型方法不一,且用来诱导 aPL 产生的抗体或抗原的种类各异,现将近年来国内外对 aPL 导致妊娠丢失动物模型研究的概况综述如下。

### 1 采用自身免疫性疾病的动物模型

具有系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)倾向的小鼠逐渐出现类似于 SLE 患者的临床表现,可伴有血栓形成, aPL 浓度升高等表现,现被人们所认知的主要有两种小鼠类型,即 MRL/lpr 鼠和(NZW × BXSB) F1 鼠<sup>[1]</sup>。Gharavi 等<sup>[2]</sup>研究发现 MRL/lpr 雌鼠在 2 月龄时可呈现出抗心磷脂抗体(anticardiolipin antibodies, aCL)的活性,雄鼠是在 3 月龄时可呈现出 aCL 活性,且这类鼠表现出 aCL 的活性不依赖于作为辅因子参与的  $\beta_2$ -糖蛋白 I( $\beta_2$ -glycoprotein I,  $\beta_2$ -GPI),但是这类自身免疫性小鼠多用来研究 SLE 的发病机制,而单独作为妊娠丢失模型的研究较少。

### 2 采用被动诱导法造模

此种方法多通过给不同种类的孕鼠注射单克隆或多克隆的 aPL,或注射  $\beta_2$ -GPI 来诱导模型产生,观察 aPL 对妊娠丢失的直接作用。

#### 2.1 用单克隆或多克隆的 aPL 来造模

**2.1.1 用单克隆或多克隆的 aCL-IgG 或 aCL-IgM 来诱导模型产生** Blank 等<sup>[3]</sup>用 ICR 小鼠来造模,待小鼠受孕后通过尾静脉注射单克隆的 aCL-IgG 或多克隆的 aCL-IgG/IgM,结果出现很低的胚胎成活率以及胎鼠宫内发育迟缓。Fishman 等<sup>[4]</sup>同样用 ICR 小鼠造模,在 ICR 雌鼠妊娠第 1 天时通过尾静脉注射 10  $\mu$ g 的 aCL 单克隆抗体,妊娠第 15 天时处死孕鼠,发现胚胎吸收率在 32%左右。Ikematsu 等<sup>[5]</sup>用单克隆的 aCL-IgG 注入 BALB/c 孕鼠体内,结果出现了胚胎吸收,胎鼠体质量及胎盘质量显著下降,而且胎盘中有 aCL-IgG 沉积,胎盘病理组织切片显示栓塞及坏死。Stoeger 等<sup>[6]</sup>在胚胎植入前给 BALB/c 孕鼠注射鼠单克隆 aCL-IgM 后,出现了不良的妊娠结

局。而在植入后注射单克隆 aCL-IgM 则不影响妊娠结果,提示 aCL-IgM 主要是通过干扰胚胎植入而影响妊娠结局的。

**2.1.2 从 APS 患者的血清中提取抗体来造模** 卫爱武等<sup>[7]</sup>通过收集 aCL 阳性(定量检测为中、高度)RSA 或具有胚胎停育病史患者的血清及狼疮抗凝物(lupus anticoagulant, LA)阳性患者的血清,经二次盐析法蛋白液提纯后,在 SD 大鼠孕第 8、12 天时通过背部多部位皮下注射 aCL 纯化蛋白液、LA 纯化蛋白液,动物于孕第 15 天处死,结果产生了高浓度的 aCL,胚胎吸收率增加,胚胎质量明显减轻等表现。

Holers 等<sup>[8]</sup>通过收集 APS 患者(临床表现为 RSA、SLE、网状青斑等,且含有高浓度 aPL-IgG, aPL-IgG > 145 GPL U)的血清,利用亲和层析法分离 aPL-IgG,在 BALB/c 孕鼠妊娠第 8、12 天腹腔注射 10 mg 的 aPL-IgG,在妊娠第 15 天处死孕鼠,结果出现了胚胎吸收率增加,胚胎体质量下降,胎盘组织病理切片显示炎性细胞浸润,母胎界面补体 C3 及 aPL 沉积。Berman 等<sup>[9]</sup>用同样的方法造模,发现与未受孕的 BALB/c 小鼠相比,注射 aPL-IgG 的孕鼠外周血中 aPL 的水平明显降低,并且循环中的 TNF- $\alpha$  升高,而蜕膜中显示有大量的 aPL 沉积,未受孕的 BALB/c 小鼠子宫内膜中却无 aPL 沉积,循环中的 TNF- $\alpha$  也未升高,未受孕与受孕小鼠的心、肝、肾、肺中都没有 aPL 沉积,提示 aPL 能特异地与蜕膜组织中的磷脂结合,引起母胎界面上一些促炎因子释放,补体激活,组织损伤,最终导致胚胎丢失。

**2.1.3 用抗纤维蛋白溶酶抗体来造模** Chen 等<sup>[10]</sup>用多克隆的抗纤维蛋白溶酶抗体(anti-plasmin Ab)注入 BALB/c 孕鼠体内来诱导模型产生,在 BALB/c 孕鼠妊娠第 8 天及第 12 天时通过腹腔注射 500  $\mu$ g 的 anti-plasmin Ab,在妊娠第 15 天时处死孕鼠,与对照组相比,模型组出现了明显的胚胎吸收,胎盘病理组织切片有大量的 C3b/C3c 及 aCL 沉积。

**2.1.4 用抗  $\beta_2$ -GPI 抗体来造模** Blank 等<sup>[11]</sup>用抗  $\beta_2$ -GPI 抗体,在 BALB/c 雌鼠与雄鼠交配后形成阴栓时通过尾静脉注射 20 mg/200 mL 的抗  $\beta_2$ -GPI 抗体,在孕鼠妊娠第 16 天时处死,出现了妊娠丢失。

**2.1.5 用抗磷脂酰丝氨酸抗体来造模** 还有人用其他的 APA 来造模,例如将抗磷脂酰丝氨酸抗体(anti-phosphatidylserine antibodies, aPS)分别注入 BALB/c、CD-1 和 ICR 孕鼠体内,也出现了妊娠丢失<sup>[12-13]</sup>。

# 南京中医药大学 2008 级博士研究生。 △ 通讯作者, E-mail: zswater@sian.com。