

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.11.028

View this article at: <https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.11.028>

· 综述 ·

口腔用复合树脂细胞毒性的研究进展

张静怡 综述 李丹薇, 雷雅燕 审校

(昆明医科大学附属口腔医院牙体牙髓病科, 昆明 650106)

[摘要] 复合树脂具有良好的修复效果, 临床上应用广泛。研究表明树脂基材料中未完全反应的残留单体具有严重的细胞毒性和遗传毒性, 造成细胞功能不可逆性损伤。但由于复合树脂生物相容性和粘接性良好、美观性好、操作性强、修复时间短, 且树脂弹性模量接近牙本质, 用树脂充填后, 牙齿具有极好的抗折裂性, 因此研究其对细胞的生物相容性具有很重要的临床意义, 可为其临床应用提供科学依据, 并为树脂材料的发展奠定基础。

[关键词] 复合树脂; 残留单体; 细胞毒性; 基因毒性

Research progress in cytotoxicity of oral composite resins

ZHANG Jingyi, LI Danwei, LEI Yayan

(Department of Endodontics, Affiliated Stomatological Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650106, China)

Abstract Composite resins have been widely used clinically because of their good repair effects. Studies have shown that incompletely reacted residual monomers in resin-based materials can cause serious cytotoxicity and genotoxicity, and cause irreversible damage to cell functions. However, composite resin has good biocompatibility and adhesion, good aesthetics, strong operability, and short repair time, and its elastic modulus is close to dentin. After being filled with resin, the teeth have excellent resistance to bending. Therefore, the study of its biocompatibility to cells has important clinical significance, which can provide scientific basis for its clinical application and lay a foundation for the development of resin materials.

Keywords composite resin; residual monomer; cytotoxicity; genotoxicity

复合树脂在固化过程中部分基质固化不全会导致单体残留, 残留单体主要有双酚A双甲基丙烯酸缩水甘油酯(bisphenol A diglycidyl methacrylate, Bis-GMA)、双甲基丙烯酸二缩三乙二醇酯(triethyleneglycoldimethacrylate, TEGDMA)、氨基甲酸酯双甲基丙烯酸酯(urethane

dimethacrylate, UDMA)和甲基丙烯酸2-羟乙酯(2hydroxyethyl methacrylate, HEMA)等, 这些单体分子是造成树脂材料在临床应用过程中产生聚合收缩、微渗漏等多种缺陷的主要原因, 未反应的残余单体进入口腔、牙本质、根尖组织后可通过释放自由基或直接损伤组织^[1]。复合树脂单体

收稿日期 (Date of reception): 2020-07-30

通信作者 (Corresponding author): 李丹薇, Email: 89402424@qq.com

基金项目 (Foundation item): 云南省教育厅科学研究基金 (2018JS234)。This work was supported by the Scientific Research Fund Project of Yunnan Provincial Education Department, China (2018JS234).

主要通过干扰细胞的氧化还原系统的平衡、抑制磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)和蛋白酶-B信号通路、激活促丝裂原激活蛋白(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路、诱导炎症因子表达和促进炎症反应、细胞周期关卡调控抑制细胞周期等方式对牙髓、牙周组织造成不同程度的损伤^[2]。有学者^[3]早期研究发现:复合树脂单体对牙龈成纤维细胞具有多种毒性作用,在体外可改变人牙龈成纤维细胞线粒体脱氢酶(mitochondrial dehydrogenase)和乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)的活性;研究^[4-5]证明这些单体可产生细胞毒性和基因毒性;而Styllou等^[6]发现这些残余单体可诱导成纤维细胞DNA损伤及改变细胞核的形态。

然而近年来,随着无机填料颗粒大小的改进及颗粒在树脂中体积的增加,复合树脂的物理性能明显改善,机械强度和耐磨性增加,并具有良好的生物相容性^[7],如果使用恰当,其细胞毒性可随之减小甚至消失^[8]。研究^[9]表明:复合树脂 Filtek Z350在预孵育48 h后具有细胞毒性,但是在生物培养基中预孵育7 d后该毒性消失。随后,黄晓晶等^[10]也做了复合树脂Z350生物相容性的相关研究,实验显示术后第7天牙髓有轻度炎症反应,而术后30 d牙髓组织炎症反应消失,其对人牙髓细胞的毒性等级为0级。汪莉等^[11]用3种穿髓孔修复材料来研究对人牙周膜成纤维细胞影响,结果显示 Filtek™Z350能够促进细胞碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)mRNA的表达,对细胞骨钙素(osteocalcin, OC) mRNA的表达基本无抑制。并且临床数据显示 Filtek Z350对牙髓的刺激远低于牙体预备和边缘微渗漏,对于中龋和深龋患牙,用其修复后敏感发生率较低,有学者^[12-13]提出控制修复体边缘微渗漏才是降低术后敏感发生率的关键,因此复合树脂修复后的抛光非常必要。临床试验^[14]也证明:经复合树脂修复牙齿的患者,其颊黏膜上皮细胞并不会出现长期的遗传学损伤。

随着口腔医学的发展,复合树脂在临床上的应用越来越广泛,尽管目前对于复合树脂的细胞毒性争议较大,但其操作性强、修复时间短、美观性好,被广泛应用于前牙美学修复,患者满意度显著高于烤瓷全冠修复^[15]。且树脂弹性模量接近牙本质,充填后牙齿具有极好的抗折裂性。三维有限元分析^[16]显示:用复合树脂修复根管治疗后的磨牙,可恢复其应力状态。因此研究其对细胞的生物相容性具有很重要的临床意义,可为其临床应用提供科学依据,并为树脂材料的发展奠定基础。

1 复合树脂细胞毒性的影响因素

未固化的复合树脂单体是导致细胞毒性的主要原因,目前认为复合树脂是否进行光固化、光照强度以及充填方式是影响复合树脂固化的主要因素。

1.1 是否进行光固化

光固化是复合树脂充填术中的重要一步,Andreza等^[17]发现已固化的复合树脂对成牙本质细胞样细胞MDPC-23基本无毒性作用;然而,当复合树脂未进行光固化时,将会对MDPC-23发生强烈的细胞毒性作用。据文献^[18-19]报道,未固化的复合树脂在0.007和0.013 g/mL浓度下会导致不同程度的细胞损伤、凋亡和坏死,完全固化后的复合树脂则不会导致细胞毒性和基因毒性。此外, Lee等^[20]证实去除固化树脂表面的氧化抑制层即未反应层会减弱细胞毒性作用,提示光固化树脂修复牙体缺损后可通过阻氧剂和再固化立即去除树脂表面氧化抑制层,提高修复体的生物相容性。

1.2 光照强度

光固化灯的输出强度也可影响树脂的固化,到达树脂内的光输出强度越高,单体转化率越高,细胞毒性也就越低^[21]。这是由于高强度的光照在初期就能使聚合物实现高度交联,进而降低可溶性残留单体的数量,以此降低复合树脂对于细胞的毒性作用^[22]。研究^[23]表明:与投照距离为0 mm相比,投照距离为2 mm时,光固化灯到达树脂表面的能量仅为61%;而投照距离为6 mm时,表面能量则降为23%。投照越接近树脂表面,越有利于树脂固化。在光照距离相同的情况下,光照时间越长,固化程度越高。但当照射时间超过60 s时,由于自由基的移动受到限制,固化程度不会出现明显差异^[24]。此外,不同的光固化灯所产生的光照强度也有所不同。目前临床上应用的光固化灯主要有发光二极管(light-emitting diode, LED)和石英-钨-卤素(quartz tungsten halogen, QTH)灯。在常规固化条件下,LED灯固化效果优于QTH灯,因其具有固化时间短、功率大、输出光稳定性好、光谱分布广(438~501 nm)、无绳设计等优势,且其光谱分布峰与常用光引发剂樟脑醌(camphorquinone, CQ)的吸收分布峰值相匹配,因此更利于CQ的活化^[25-27]。

1.3 充填方式

目前,分层充填是复合树脂充填最常用的

方式, 因为分层充填能降低层与层之间的聚合收缩。从理论上讲, 如果对树脂无限分层, 聚合收缩量将微不足道。与整体充填相比, 分层充填可有效降低聚合收缩应力^[28]。分层充填时复合树脂每层厚度一般不能超过2 mm, 有研究^[29]表明: 当充填厚度不超过2 mm时, 可以在不损害复合材料力学性能的情况下尽可能减少残余收缩应力的负面影响。且Rothmund等^[30]也发现与充填厚度为2 mm时相比, 4 mm或更厚的充填厚度可导致洗脱单体的增加, 从而导致更强的细胞毒性。

2 主要残留单体及其毒性机制

2.1 HEMA

HEMA是一种亲水性单体, 残留的HEMA可通过完整的牙本质层扩散到牙髓, 从而产生细胞毒性, 导致细胞活力降低、抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡、以及影响免疫系统的调节^[31]。这些现象与氧化应激和抗氧化剂谷胱甘肽(glutathione, GSH)浓度降低有关。随着GSH浓度的降低, 细胞内的活性氧(reactive oxygen species, ROS)的形成增加^[32]。ROS可调节炎症反应, 上调白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-8水平, 增加肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、环氧合酶(cyclooxygenase, COX)-2基因的表达和前列腺素(prostaglandin E₂, PGE₂)的释放^[33-34]。在HEMA暴露的培养物中, 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD1)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathion peroxidase, GPx1/2)和过氧化氢酶受到差异调节, 说明细胞内发生氧化应激反应。氧化应激会进一步导致与凋亡相关的半胱天冬酶(casepase)-8、-9和-3的活化, 并活化促丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、细胞外信号调节激酶(extracellular regulatory kinase, ERK)、p38MAPK信号通路等, 从而引起细胞凋亡的发生^[35]。HEMA还可通过其他途径诱导细胞凋亡, 实验证明: 在暴露于HEMA(6~8 mmol/L)24 h后, 线粒体超氧阴离子增加2倍, 同时线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)显著降低。p53调节细胞凋亡的转录依赖性和转录非依赖性机制被激活, 并且p53从细胞质转运至线粒体^[32,36]。另外, HEMA可增加自噬泡和自噬生物标志物(Beclin1, Atg5和LC3)的表达, 与自噬抑制剂(3-甲基腺嘌呤和氯喹)预孵育可显著预防HEMA诱导的细胞凋亡。HEMA还启动了核因子- κ B(NF- κ B)的表达和

核转位, NF- κ B信号在HEMA诱导自噬的上游起作用, 并且证明NF- κ B-自噬轴的激活就是HEMA诱导细胞凋亡的原因^[37-38]。

2.2 TEGDMA

TEGDMA除可通过清除细胞内GSH, 引起细胞内ROS的增加, 产生氧化应激反应, 导致细胞死亡外, 还可产生基因毒性。一方面, TEGDMA含有2个 α , β -不饱和 β 羰基, 可以通过迈克尔加成反应与DNA双链上的亲核位点结合, 导致链内脱氧核糖核酸的交叉链接; 另一方面, ROS是内源性DNA损伤的主要诱导剂, ROS可以与脂肪、蛋白质, 尤其是DNA的某些位点反应, 最终导致DNA链断裂、DNA点突变、DNA双链畸变和原癌基因与肿瘤抑制基因突变等形式的DNA损伤^[38-39]。Eckhardt等^[40]研究表明: 1 mmol/L的TEGDMA可导致小鼠巨噬细胞RAW264.7和牙髓细胞的G₁期延长。另一项研究^[41]表明: TEGDMA主要抑制RAW264.7细胞的细胞周期sub-G₀/G₁阶段; 同时, TEGDMA还可使多种细胞的G₂期受到抑制。此外TEGDMA还可引起多种细胞凋亡。Batarseh等^[42]通过乳酸盐脱氢酶检测了0.25 mmol/L的TEGDMA对牙髓细胞促凋亡蛋白和抑制凋亡蛋白表达的影响, 发现TEGDMA可以同时活化内源性和外源性细胞凋亡通路, 引起细胞凋亡。并且TEGDMA还可诱导细胞TRAIL-R 1~4和Fas/Fas-L等肿瘤坏死因子受体以及促凋亡蛋白Bax增加, 进而引起细胞凋亡^[43-44]。

2.3 Bis-GMA

Bis-GMA为树脂基质的主要成分, 占整个基质体系的70%~75%, 被认为是引起复合树脂细胞毒性的主要原因。Bis-GMA可以刺激细胞外信号, 调节激酶磷酸化作用和ROS水平, 诱导TNF- α 和PGE₂产生以及COX-2 mRNA和蛋白质表达, 从而导致牙髓发炎或坏死^[1,45-46]。有研究^[47]指出: Bis-GMA可减少G₁期、S期和G₂/M期的牙髓细胞数量, 增加sub-G₁期细胞数量, 提示有因其基因毒性而引起的细胞凋亡的发生。Bis-GMA以剂量依赖方式显著诱导Caspase-3、Caspase-8和Caspase-9活性, 随着Bis-GMA浓度的升高, 微核和DNA断裂数量增加, 细胞死亡方式从凋亡变成坏死^[48]。Bis-GMA还可诱导线粒体膜电位耗尽, Bax/Bcl-2比值增加以及细胞周期相关蛋白表达改变(p21、PCNA、cyclinD1), 并可抑制蛋白激酶Akt的磷酸化, 从而抑制PI3K/Akt信号通路, 抑制细胞增殖, 促进细胞凋亡^[49]。

2.4 UDMA

UDMA是主要的树脂单体,也是从各种牙科树脂材料中释放的主要组分。UDMA的细胞毒性与ROS产生、GSH耗竭、细胞周期紊乱和细胞凋亡/坏死有关。研究^[50]表明:0.1 mmol/L UDMA可诱导S期细胞周期停滞和ROS积累。当UDMA浓度为0.25 mmol/L时,细胞凋亡和坏死变得显著。在用0.25 mmol/L UDMA处理的细胞中发生GSH耗竭,这是一种高细胞毒性浓度,此时无数细胞处于凋亡或坏死状态。因此,GSH消耗对于细胞的死亡可能至关重要。

3 复合树脂体外细胞毒性评价及检测方法

体外细胞毒性实验是生物学评价体系中最常用的检测指标之一,它是在离体状态下模拟生物生长环境,检测材料接触机体组织后生物学反应的体外实验。目前广泛用于口腔材料细胞毒性实验的标准方法有3种:浸提液法、直接接触法及间接接触法(琼脂扩散法和滤膜扩散法)。研究^[51]表明:此3种方法对于细胞毒性的检测结果具有一致性。

3.1 浸提液法

为评估复合树脂单体的洗脱,通常在无菌条件下将光固化复合树脂放入浸提介质中进行萃取。萃取出的树脂浸提液中可检测出多达12种的树脂单体,这些残余单体对细胞表现出不同程度的细胞毒性(BisGMA > UDMA > TEGDMA > HEMA)^[52],可导致细胞生存能力降低,染色质浓缩,DNA双链断裂,并诱导细胞凋亡^[6,18,53-54]。实验^[55]表明:所有时间段皆可从固化后的复合树脂中洗脱出残余单体,并且洗脱单体的量随时间增加而增加,某些单体(如BisGMA、HEMA和UDMA)直至浸渍52周后还可被洗脱出^[56]。但是Fujioka-Kobayashi等^[57]发现:复合树脂浸提液对细胞的毒性作用主要存在于前3 d,第10天的复合树脂浸提液对细胞基本无毒性作用。另外,与浸渍7 d相比,浸渍30 d不会导致更多的单体释放^[58]。此实验方法适合检测复合树脂溶出物毒性,但是对浸提液浓度的控制无法有效地模拟临床^[59],因此有学者^[53]认为运用人工唾液作为浸提介质能更好地模拟体内环境。

3.2 直接接触法

直接接触法是将待测材料直接与细胞共培养,材料与细胞充分接触,是最直接的检测方

法^[60]。直接接触实验对材料的细胞毒性敏感性较高,相对于浸提液,直接接触时的细胞活力显著降低^[61]。但是扫描电镜观察发现,Filtek™Z350纳米复合树脂表面附着的细胞较多,细胞伸展良好,多个伪足样突起紧密黏附在材料表面,只有少量细胞胞体较正常者小,细胞皱缩^[62]。虽然直接接触法是最直观的方法,但在实际应用中,体外培养的细胞失去了体内神经体液的调节以及细胞间相互作用的影响,生活在缺乏动态平衡的环境中,因此直接接触法所得的结果并不能反映材料在口腔内实际的生物相容性。

3.3 间接接触法

3.3.1 琼脂扩散法

最典型的间接接触法就是琼脂扩散法,此法是将含有培养液的琼脂层平铺在有单层细胞的培养皿中,再在固化的琼脂层上放上待测材料进行细胞培养,琼脂在细胞和材料之间形成一屏障,可溶性毒性物质可扩散穿过琼脂。在该法中,被测试的材料试样可以是固化后的复合树脂,也可能是其浸提液,且浸提液作用后的细胞溶解指数上升,比固化后的树脂表现出更高的细胞毒性^[63]。但在此法中只有水溶性成分可以扩散通过琼脂层,作用于其下的细胞^[64],当溶出物分子质量小,易溶于水时,其毒性发现早且较强^[65],而复合树脂的主要成分是疏水性的甲基丙烯酸酯单体。因此评定该实验结果时,受主观因素影响较大^[66]。而有学者用不同方法检测复合树脂细胞毒性时,发现细胞在琼脂扩散法中的敏感程度大于直接接触法和浸提液法^[60,67]。

3.3.2 滤膜扩散法

为克服琼脂扩散法的缺点,Srivastava等^[68]提出了滤膜扩散法。该法是在单层细胞上覆盖一层丙烯盐制成的微孔滤膜,将待测材料放在滤膜上,使材料溶出物通过滤膜作用于其下的细胞。由于牙髓侧牙本质小管的直径达到3~4 μm,有学者采用微孔直径为3 μm的滤膜观察树脂材料对细胞的生物学作用,发现随着时间的增加细胞活力下降^[69]。此种方法虽可在一定程度上模拟临床中树脂材料对牙髓细胞的毒性作用,但单一的滤膜孔径还是无法代替结构复杂的牙本质小管。

3.4 牙本质屏障法

上述两种间接法所采用的琼脂和滤膜虽然都可将细胞与树脂分隔开,但是两种材料的渗透性与牙本质相比还是有很大的差别。牙本质屏障法

是用牙本质代替琼脂或滤膜作为屏障的体外细胞毒性实验^[70]。复合树脂中的残余单体会通过牙本质屏障进行扩散^[71], 且细胞毒性随着牙本质盘厚度的变化而变化, 牙本质盘厚度愈大, 细胞毒性愈小^[72-73], 而在没有牙本质屏障的情况下, 细胞DNA损伤显著增加^[74], 提示临床中牙髓组织损坏的程度取决于剩余健康牙本质的厚度。有学者^[75-76]发现: 牙本质屏障法中的细胞毒性明显低于滤膜扩散法, 这是因为牙本质小管的特殊结构使其拥有很大的内部表面积, 可使树脂中的毒性物质在通过小管的过程中被吸附, 导致其浓度逐渐降低,

且牙本质小管中的组织液也可中和残余单体的酸碱碱性, 从而减小对细胞的毒性作用。牙本质屏障法较好地模拟了临床实践, 但是该方法在实际应用中仍存在一些局限性, 即牙本质的渗透性因牙本质小管结构的个体差异而表现出显著的变化, 这将直接影响到细胞毒性物质的数量^[72]。

检测复合树脂体外细胞生物相容性方法较多, 亦各有其特点(表1)。各实验方法之间虽然存在一定的相关性, 但是很难达到完全一致性。此时需考虑实验的原理、可行性、灵敏性、可定量性、实验材料的适用性及其局限性等因素而进行选择。

表1 复合树脂体外细胞毒性评价方法

Table 1 Methods for cytotoxicity evaluation of composite resins in vitro

评价方法	优点	缺点
浸提液法	适合检测材料溶出物毒性	对浸提液浓度的控制无法有效地模拟临床
直接接触法	最直观, 敏感性较高	缺乏动态平衡的环境, 不能反映材料在口腔内实际的生物相容性
间接接触法		
琼脂扩散法	仅可检测水溶性物质	受主观影响较大
滤膜扩散法	可在一定程度上模拟临床	单一的滤膜孔径无法代替复杂的牙本质小管
牙本质屏障法	可较好地模拟临床	无法模拟复杂牙本质小管导致的牙本质渗透性

4 结语

虽然树脂基材料中未完全反应的单体可引起严重的细胞毒性和遗传毒性, 造成细胞功能不可逆性损伤, 但只要临床操作规范, 充分进行光固化、分层充填时每层厚度不超过2 mm, 就可显著降低其残余单体导致的细胞毒性。目前, 有关复合树脂材料生物相容性的研究也逐渐从细胞水平深入到分子水平, 其评价方法较多, 各种方法之间也存在一定的敏感差异, 因此在选择试验方案时要遵循“最接近应用状况”原则, 合理地选择评价方式。对于复合树脂生物安全性而言, 其还有进一步的提升空间, 如何降低其残余单体的渗出是未来复合树脂发展的关键。复合树脂作为非植入型材料, 由于其弹性模量接近牙本质, 用复合树脂充填后, 牙齿具有极好的抗折裂性, 所以被广泛用于牙冠修复, 但王捍国教授曾在根尖倒充填洞型浅无良好固位形时, 用粘接性良好的复合树脂代替MTA进行后续治疗, 临床效果良好^[77], 然而其在体内的组织毒性研究未见报导, 复合树脂能否像MTA等植入型材料用于体内

还需进一步的研究。

参考文献

1. 陈秀春, 张志民, 张雅琪, 等. 复合树脂类牙科材料细胞毒性研究[J]. 中国实用口腔科杂志, 2017, 10(2): 117-121.
CHEN Xiuchun, ZHANG Zhimin, ZHANG Yaqi, et al. Research on cytotoxicity of composite resin dental materials[J]. Chinese Journal of Practical Stomatology, 2017, 10(2): 117-121.
2. 杨静, 杨杨. 复合树脂单体对细胞的毒性作用机制及评价方法[J]. 临床口腔医学杂志, 2015, 32(10): 627-628.
YANG Jing, YANG Yang. Mechanism and evaluation methods of cytotoxicity of composite resin monomer on cells[J]. Journal of Clinical Stomatology, 2015, 32(10): 627-628.
3. Issa Y, Watts DC, Brunton PA, et al. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro[J]. Dent Mater, 2004, 20(1): 12-20.
4. Wisniewska-Jarosinska M, Poplawski T, Chojnacki CJ, et al. Independent and combined cytotoxicity and genotoxicity of triethylene glycol dimethacrylate and urethane dimethacrylate[J]. Mol Biol Rep,

- 2011, 38(7): 4603-4611.
5. Gupta SK, Saxena P, Pant VA, et al. Release and toxicity of dental resin composite[J]. *Toxicol Int*, 2012, 19(3): 225-234.
 6. Styllou M, Reichl FX, Styllou P, et al. Dental composite components induce DNA-damage and altered nuclear morphology in gingiva fibroblasts[J]. *Dent Mater*, 2015, 31(11): 1335-1344.
 7. 马福军, 王占红. 复合树脂充填材料修复牙体缺损的应用价值及临床评价[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(16): 2957-2960.
MA Fujun, WANG Zhanhong. Clinical value and evaluation of composite resin filling materials in dental defect repair[J]. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2011, 15(16): 2957-2960.
 8. 王跃岩, 许颖. 根尖倒充填材料的研究进展[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2006, 16(4): 240-242.
WANG Yueyan, XU Ying. A review of retrograde filling materials[J]. *Chinese Journal of Conservativa Dentistry*, 2016, 16(4): 240-242.
 9. Nalçacı A, Oztan MD, Yilmaz S. Cytotoxicity of composite resins polymerized with different curing methods[J]. *Int Endod J*, 2004, 37(2): 151-156.
 10. 黄晓晶, 雷丽珊, 钟声, 等. 纳米复合树脂(FiltekTM Z350)与犬牙髓组织的生物相容性[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(41): 8047-8050.
HUANG Xiaojing, LEI Lishan, ZHONG Sheng, et al. Biocompatibility of FiltekTM Z350 resin with dental pulp tissues of beagle dogs[J]. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2008, 12(41): 8047-8050.
 11. 汪莉, 尹仕海, 钟素兰, 等. 3种髓腔穿孔修复材料对人牙周膜成纤维细胞毒性的体外研究[J]. *华西口腔医学杂志*, 2009, 27(5): 479-482.
WANG Li, YIN Shihai, ZHONG Sulan, et al. Cytotoxicity evaluation of three kinds of perforation repair materials on human periodontal ligament fibroblasts in vitro[J]. *West China Journal of Stomatology*, 2009, 27(5): 479-482.
 12. 郑智蕴. 新型Z350纳米树脂充填材料与Z100复合树脂充填材料进行牙体充填术后的敏感性[J]. *全科口腔医学电子杂志*, 2018, 5(24): 90-91.
ZHENG Zhiyun. Sensitivity of new Z350 nano-resin filling material and Z100 composite resin filling material after tooth filling[J]. *The Department of Oral Medicine Electronic Magazine. Electronic Edition*, 2018, 5(24): 90-91.
 13. 蒋俊强, 王忠朝, 蒋军, 等. 3M-Z350纳米复合树脂充填材料与3M-Z100复合树脂充填材料用于活髓前牙美容修复: 敏感性及疼痛程度评价[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(3): 469-472.
JIANG Junqiang, WANG Zhongchao, JIANG Jun, et al. 3M-Z350 Nano-resin and 3M-Z100 composite resin for cosmetic restoration of anterior teeth with vital pulp: Evaluation on postoperative sensitivity and pain[J]. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2010, 14(3): 469-472.
 14. Tadin A, Galic N, Marovic D, et al. Cytogenetic damage in exfoliated oral buccal cells by dental composites[J]. *Am J Dent*, 2016, 29(4): 219-222.
 15. 李杰. 光固化复合树脂前牙微创美学修复的临床研究[J]. *全科口腔医学电子杂志*, 2016, 3(5): 80-81.
LI Jie. Clinical study on minimally invasive aesthetic repair of photocured composite anterior teeth[J]. *General Journal of Stomatology*, 2016, 3(5): 80-81.
 16. Rodrigues MP, Soares PBF, Gomes MAB, et al. Direct resin composite restoration of endodontically-treated permanent molars in adolescents: bite force and patient-specific finite element analysis[J]. *J Appl Oral Sci*, 2020, 28: e20190544.
 17. Aranha AM, Giro EM, Hebling J, et al. Effects of light-curing time on the cytotoxicity of a restorative composite resin on odontoblast-like cells[J]. *J Appl Oral Sci*, 2010, 18(5): 461-466.
 18. Brzović Rajić V, Želježić D, Malčić Ivanišević A, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of resin based dental materials in human lymphocytes in vitro[J]. *Acta Clin Croat*, 2018, 57(2): 278-285.
 19. Gociu M, Pătroi D, Prejmerean C, et al. Biology and cytotoxicity of dental materials: an in vitro study[J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2013, 54(2): 261-265.
 20. Lee MJ, Kim MJ, Kwon JS, et al. Cytotoxicity of light-cured dental materials according to different sample preparation methods[J]. *Materials*, 2017, 10(3): 288.
 21. 王爽, 高艳, 王晶, 等. 齿科复合树脂单体转化率的影响因素[J]. *生物医学工程学杂志*, 2015, 32(2): 493-496.
WANG Shuang, GAO Yan, WANG Jing, et al. Influence factors on monomer conversion of dental composite resin[J]. *Journal of Biomedical Engineering*, 2015, 32(2): 493-496.
 22. Sigusch BW, Völpel A, Braun I, et al. Influence of different light curing units on the cytotoxicity of various dental composites[J]. *Dent Mater*, 2007, 23(11): 1342-1348.
 23. Prati C, Chersoni S, Montebugnoli L, et al. Effect of air dentin and resin-based composite thickness on light intensity reduction[J]. *Am J Dent*, 1999, 12(5): 231-234.
 24. Feng L, Suh BI. The effect of curing modes on polymerization contraction stress of a dual cured composite[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2006, 76(1): 196-202.
 25. Cörekçi B, Irgin C, Halicioğlu K, et al. Effects of plasma-emulating light-emitting diode (LED) versus conventional LED on cytotoxic effects and polymerization capacity of orthodontic composites[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2014, 33(10): 1000-1007.
 26. Drost T, Reimann S, Frentzen M, et al. Effectiveness of photopolymerization in composite resins using a novel 445-nm diode

- laser in comparison to LED and halogen bulb technology[J]. *Lasers Med Sci*, 2019, 34(4): 729-736.
27. Waclawczyk A, Postek-Stefańska L, Pietraszewska D, et al. TEGDMA and UDMA monomers released from composite dental material polymerized with diode and halogen lamps[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2018, 27(4): 469-476.
28. Correia AMO, Tribst JPM, Matos FS, et al. Polymerization shrinkage stresses in different restorative techniques for non-cariou cervical lesions[J]. *J Dent*, 2018, 76: 68-74.
29. Bicalho AA, Valdivia AD, Barreto BC, et al. Incremental filling technique and composite material—Part II- shrinkage and shrinkage stresses[J]. *Oper Dent*, 2014, 39(2): E83-E92.
30. Rothmund L, Reichl FX, Hickel R, et al. Effect of layer thickness on the elution of bulk-fill composite components[J]. *Dent Mater*, 2017, 33(1): 54-62.
31. Perduns R, Volk J, Schertl P, et al. HEMA modulates the transcription of genes related to oxidative defense, inflammatory response and organization of the ECM in human oral cells[J]. *Dent Mater*, 2019, 35(3): 501-510.
32. Krifka S, Hiller KA, Spagnuolo G, et al. The influence of glutathione on redox regulation by antioxidant proteins and apoptosis in macrophages exposed to 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA)[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(21): 5177-5186.
33. Di Nisio C, Zara S, Cataldi A, et al. 2-hydroxyethyl methacrylate inflammatory effects in human gingival fibroblasts[J]. *Int Endod J*, 2013, 46(5): 466-476.
34. Trubiani O, Cataldi A, DE Angelis F, et al. Overexpression of interleukin-6 and -8, cell growth inhibition and morphological changes in 2-hydroxyethyl methacrylate-treated human dental pulp mesenchymal stem cells[J]. *Int Endod J*, 2012, 45(1): 19-25.
35. Schweikl H, Hartmann A, Hiller KA, et al. Inhibition of TEGDMA and HEMA-induced genotoxicity and cell cycle arrest by N-acetylcysteine[J]. *Dent Mater*, 2007, 23(6): 688-695.
36. Schweikl H, Petzel C, Bolay C, et al. 2-hydroxyethyl methacrylate-induced apoptosis through the ATM- and p53-dependent intrinsic mitochondrial pathway[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(9): 2890-2904.
37. Yu JJ, Zhu LX, Zhang J, et al. From the cover: activation of NF- κ B-autophagy axis by 2-hydroxyethyl methacrylate commits dental mesenchymal cells to apoptosis[J]. *Toxicol Sci*, 2017, 157(1): 100-111.
38. Schweikl H, Spagnuolo G, Schmalz G. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers[J]. *J Dent Res*, 2006, 85(10): 870-877.
39. Scott TL, Rangaswamy S, Wicker CA, et al. Repair of oxidative DNA damage and cancer- recent progress in DNA base excision repair[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20(4): 708-726.
40. Eckhardt A, Müller P, Müller KA, et al. Influence of TEGDMA on the mammalian cell cycle in comparison with chemotherapeutic agents[J]. *Dent Mater*, 2010, 26(3): 232-241.
41. Huang FM, Kuan YH, Lee SS, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of triethyleneglycol-dimethacrylate in macrophages involved in DNA damage and caspases activation[J]. *Environ Toxicol*, 2015, 30(5): 581-588.
42. Batarseh G, Windsor LJ, Labban NY, et al. Triethylene glycol dimethacrylate induction of apoptotic proteins in pulp fibroblasts[J]. *Oper Dent*, 2014, 39(1): E1-E8.
43. Iwama K, Nakajo S, Aiuchi T, et al. Apoptosis induced by arsenic trioxide in leukemia U937 cells is dependent on activation of p38, inactivation of ERK and the Ca²⁺-dependent production of superoxide[J]. *Int J Cancer*, 2001, 92(4): 518-526.
44. Gallorini M, Sancilio S, Zara S, et al. Involvement of mitochondrial signalling pathway in HGFs/S. mitis coculture response to TEGDMA treatment[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2014, 102(11): 3931-3938.
45. Chang MC, Lin LD, Chuang FH, et al. Carboxylesterase expression in human dental pulp cells: Role in regulation of BisGMA-induced prostanoid production and cytotoxicity[J]. *Acta Biomater*, 2012, 8(3): 1380-1387.
46. Chang MC, Lin LD, Chan CP, et al. The effect of BisGMA on cyclooxygenase-2 expression, PGE2 production and cytotoxicity via reactive oxygen species- and MEK:ERK-dependent and -independent pathways[J]. *Biomaterials*, 2009, 30(25): 4070-4077.
47. Yano J, Kitamura C, Nishihara T, et al. Apoptosis and survivability of human dental pulp cells under exposure to Bis-GMA[J]. *J Appl Oral Sci*, 2011, 19(3): 218-222.
48. Li YC, Kuan YH, Huang FM, et al. The role of DNA damage and caspase activation in cytotoxicity and genotoxicity of macrophages induced by bisphenol-A-glycidyl dimethacrylate[J]. *Int Endod J*, 2012, 45(6): 499-507.
49. Zhu Y, Gu YX, Mo JJ, et al. N-acetyl cysteine protects human oral keratinocytes from Bis-GMA-induced apoptosis and cell cycle arrest by inhibiting reactive oxygen species-mediated mitochondrial dysfunction and the PI3K:Akt pathway[J]. *Toxicol In Vitro*, 2015, 29(8): 2089-2101.
50. Chang HH, Chang MC, Lin LD, et al. The mechanisms of cytotoxicity of urethane dimethacrylate to Chinese hamster ovary cells[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(27): 6917-6925.
51. Lim SM, Yap A, Loo C, et al. Comparison of cytotoxicity test models for evaluating resin-based composites[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2017, 36(4): 339-348.
52. Kraus D, Wolfgarten M, Enkling N, et al. In-vitro cytocompatibility of dental resin monomers on osteoblast-like cells[J]. *J Dent*, 2017, 65: 76-82.
53. Căndea Ciurea A, Șurlin P, Stratul ȘI, et al. Evaluation of the biocompatibility of resin composite-based dental materials with gingival mesenchymal stromal cells[J]. *Microsc Res Tech*, 2019, 82(10): 1768-1778.
54. Yang Y, Reichl FX, Shi J, et al. Cytotoxicity and DNA double-strand breaks in human gingival fibroblasts exposed to eluates of dental

- composites[J]. *Dent Mater*, 2018, 34(2): 201-208.
55. Cebe MA, Cebe F, Cengiz MF, et al. Elution of monomer from different bulk fill dental composite resins[J]. *Dent Mater*, 2015, 31(7): e141-e149.
 56. Putzeys E, Nys S, Cokic SM, et al. Long-term elution of monomers from resin-based dental composites[J]. *Dent Mater*, 2019, 35(3): 477-485.
 57. Fujioka-Kobayashi M, Miron RJ, Lussi A, et al. Effect of the degree of conversion of resin-based composites on cytotoxicity, cell attachment, and gene expression[J]. *Dent Mater*, 2019, 35(8): 1173-1193.
 58. Cokic SM, Duca RC, De Munck J, et al. Saturation reduces in-vitro leakage of monomers from composites[J]. *Dent Mater*, 2018, 34(4): 579-586.
 59. Salehi S, Gwinner F, Mitchell JC, et al. Cytotoxicity of resin composites containing bioactive glass fillers[J]. *Dent Mater*, 2015, 31(2): 195-203.
 60. Cao T, Saw TY, Heng BC, et al. Comparison of different test models for the assessment of cytotoxicity of composite resins[J]. *J Appl Toxicol*, 2005, 25(2): 101-108.
 61. Campaner M, Takamiya AS, Bitencourt SB, et al. Biocompatibility and inflammatory response of conventional and CAD:CAM provisional restorations[J]. *Archives of Oral Biology*, 2020, 3(111): 3-23.
 62. 汪莉, 钟素兰, 尹仕海. 三种髓腔穿孔修复材料对人牙周膜成纤维细胞黏附及形态影响的体外研究[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2015, 25(7): 408-411.
WANG Li, ZHONG Sulan, YIN Shihai. Effects of three perforation repair materials on the morphology and adhesion of human periodontal ligament fibroblasts: An in vitro study[J]. *Chinese Journal of Conservativa Dentistry*, 2015, 25(7): 408-411.
 63. 李晓鹏, 龚旭, 戴太强, 等. 材料受试形式对材料细胞毒性测试结果的影响[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2018, 28(1): 38-41.
LI Xiaopeng, GONG Xu, DAI Taiqiang, et al. The effects of the sample form of the dental materials on the cytotoxicity test results[J]. *Chinese Journal of Conservativa Dentistry*, 2018, 28(1): 38-41.
 64. Schmalz G, Galler KM. Biocompatibility of biomaterials—Lessons learned and considerations for the design of novel materials[J]. *Dent Mater*, 2017, 33(4): 382-393.
 65. 梁卫东, 石应康. 细胞培养法评价生物材料生物相容性研究进展[J]. *生物医学工程学杂志*, 1999, 16(1): 86-90.
LIANG Weidong, SHI Yingkang. The research of evaluation the compatibility of biotic material in cell-culturing method[J]. *Journal of Biomedical Engineering*, 1999, 16(1): 86-90.
 66. 郭晓伟, 严敏, 宫海环, 等. 复合树脂细胞毒性检测方法的进展[J]. *口腔医学*, 2016, 36(9): 845-848.
GUO Xiaowei, YAN Min, GONG Haihuan, et al. Progress of in vitro cytotoxicity tests of dental resin composites[J]. *Stomatology*, 2016, 36(9): 845-848.
 67. Saw TY, Cao T, Yap AU, et al. Tooth slice organ culture and established cell line culture models for cytotoxicity assessment of dental materials[J]. *Toxicol In Vitro*, 2005, 19(1): 145-154.
 68. Srivastava S, Gorham SD, Courtney JM. Screening of in vitro cytotoxicity by the adhesive test[J]. *Biomaterials*, 1990, 11(2): 133-137.
 69. Kamalak H, Kamalak A, Taghizadehghalehjoughi A, et al. Cytotoxic and biological effects of bulk fill composites on rat cortical neuron cells[J]. *Odontology*, 2018, 106(4): 377-388.
 70. Hume WR. A new technique for screening chemical toxicity to the pulp from dental restorative materials and procedures[J]. *J Dent Res*, 1985, 64(11): 1322-1325.
 71. Mahdhaoui K, Fournier B, Derbanne MA. Unbound monomers do diffuse through the dentin barrier[J]. *Dent Mater*, 2017, 33(6): 743-751.
 72. Jiang RD, Lin H, Zheng G, et al. In vitro dentin barrier cytotoxicity testing of some dental restorative materials[J]. *J Dent*, 2017, 58: 28-33.
 73. Lee BS, Jan YD, Huang GS, et al. Effect of dentin bonding agent diffusing through dentin slices on the reactive oxygen species production and apoptosis of pulpal cells[J]. *J Formos Med Assoc*, 2015, 114(4): 339-346.
 74. Quinlan CA, Zisterer DM, Tipton KE, et al. In vitro cytotoxicity of a composite resin and compomer[J]. *Int Endod J*, 2002, 35(1): 47-55.
 75. 蒋若丹, 林红, 郑刚, 等. 采用三维细胞培养的牙本质屏障细胞毒性试验研究[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2015, 47(2): 330-335.
JIANG Ruodan, LIN Hong, ZHENG Gang, et al. Dentin barrier cytotoxicity test with three-dimensional cell cultures[J]. *Journal of Peking University (Health Sciences)*, 2015, 47(2): 330-335.
 76. Ülker HE, Ülker M, Gümüş HÖ, et al. Cytotoxicity testing of temporary luting cements with two- and three-dimensional cultures of bovine dental pulp-derived cells[J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 910459.
 77. 王捍国. 显微根管外科彩色图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2016: 154.
WANG Hanguo. *Color atlas of endodontic microsurgery*[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2016: 154.

本文引用: 张静怡, 李丹薇, 雷雅燕. 口腔用复合树脂细胞毒性的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2021, 41(11): 2671-2678. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.11.028

Cite this article as: ZHANG Jingyi, LI Danwei, LEI Yayan. Research progress in cytotoxicity of oral composite resins[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2021, 41(11): 2671-2678. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.11.028