DOI:10.16016/j.2097-0927.202312108

牙釉基质衍生物促进人工根面牙本质龋的再矿化

陈 进[1,2], 梁静鸥[3,5], 张凌琳[4,5] 401120 重庆,重庆医科大学附属口腔医院附三院门诊部[1];401147 重庆,重庆市口腔疾病与生物医学重点实验室,重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室[2];610041,成都,四川大学华西口腔医院:儿童口腔科[3],牙体牙髓科[4],口腔疾病防治全国重点实验室,国家口腔医学中心,国家口腔疾病临床医学研究中心[5]

[摘要] **目的** 探讨牙釉基质衍生物(enamel matrix derivative, EMD)对人工根面牙本质龋再矿化作用的影响。**方法** 将牛牙根面牙本质样本放置在脱矿溶液中,形成人工龋损样本,采用简单随机抽样法分为 EMD 组(30 g/L EMD,实验组)、氟化钠(sodium fluoride, NaF)组(1 g/L NaF,阳性对照组)和去离子水(distilled and deionised water, DDW)组(阴性对照组),进行 pH 循环处理 8 d,每天 6 次。使用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)及偏振光显微镜(polarized light microscopy, PLM)观察各组处理前后龋损形态学的变化情况,并使用横断显微照相技术(transverse microradiography, TMR)检测处理前后矿物质丢失量、龋损深度和矿物含量的变化情况。**结果** pH 循环处理后,SEM 的表面形态学图像和 PLM 的垂直形态学图像均显示,EMD 组和 NaF 组人工根面牙本质龋的矿物质沉积增加,而 DDW 组无矿物质沉积。同时,TMR 结果显示,与 DDW 组相比,EMD 组矿物丢失较低,龋损深度较浅,矿物含量较高($P<0.05$)。**结论** 釉基质衍生物能促进根面牙本质龋的再矿化,具有成为一种有效的根面无创防龋制剂的潜力。

[关键词] 牙釉基质衍生物;根面龋;根面牙本质;再矿化

[中图法分类号] R780.2;R781.1;R977.6 [文献标志码] A

Enamel matrix derivative improves remineralization of artificial root dentin caries *in vitro*

CHEN Jin[1,2], LIANG Jing'ou[3,5], ZHANG Linglin[4,5] [1]Outpatient Department of Third Affiliated Hospital, College of Stomatology, Chongqing Medical University, Chongqing, 401120; [2]Chongqing Key Laboratory of Oral Diseases and Biomedical Sciences, Chongqing Municipal Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Higher Education, Chongqing, 401147; [3]Department of Pediatric Dentistry, [4]Department of Dentistry and Endodontics, [5]State Key Laboratory of Oral Diseases & National Center for Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu, Sichuan Province, 610041, China

[**Abstract**] Objective To determine the effect of enamel matrix derivative (EMD) on remineralization of artificial root dentin caries. Methods Bovine root dentin blocks were placed in a demineralization solution to create artificial root dentin carious lesions. The lesions were then randomly divided into EMD group (30 g/L EMD, the experimental group), sodium fluoride (NaF) aqueous solution group (1 g/L NaF, the positive control group) and distilled and deionised water (DDW) group (the negative control group), and all the lesions were pH-cycled at 6 cycles per day for 8 d. Morphology of the lesions were observed by scanning electron microscopy (SEM) and polarized light microscopy (PLM). Transverse microradiography (TMR) was used to examine mineral loss, lesion depth and mineral content. Results After

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81271128)

[通信作者] 张凌琳,E-mail:zhll_sc@163.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

pH-cycling, the surface morphology by SEM and the vertical morphology by PLM suggested that EMD and NaF treatment, but not DDW, caused mineral accumulation of artificial root dentin caries. Meanwhile, TMR revealed significantly lower mineral loss, shallower lesion depth and more mineral content in the EMD group than the DDW group ($P < 0.05$) after pH-cycling. **Conclusion** EMD can significantly promote remineralization of root dentin caries *in vitro*, and is a promising agent for non-invasive root caries therapy.

[**Key words**] enamel matrix derivative; root caries; root dentin; remineralization

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81271128). Corresponding author: ZHANG Linglin, E-mail: zhll_sc@163.com

根面龋是中老年人群中常见的口腔疾病之一,严重影响患者的口腔和全身健康[1]。由于牙根部牙骨质非常薄(20~50 μm)或先天缺失、细菌等多因素的作用,使根面龋容易发展为根面牙本质龋。牙本质含有20%的有机基质(主要是胶原蛋白),远高于牙釉质。当牙本质龋形成时,胶原纤维很容易暴露和降解,导致牙本质龋迅速进展。目前临床上常用的再矿化治疗方式,如氟化物[2]、酪蛋白磷酸多肽钙磷复合体(casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate, CPP-ACP)[3-4]等,均存在一定的缺陷。考虑到牙本质有机基质的破坏过程是脱矿的结果,寻找一种基于保护牙本质基质初始降解的新策略,来改善根面牙本质龋的治疗效果,是必要和有意义的[5]。

在牙胚发育过程中,上皮根鞘分泌一组蛋白质,即牙釉质基质蛋白(enamel matrix proteins, EMPs),主要由釉原蛋白和非釉原蛋白组成。1975年,SCHONFELD[6]首次证明EMPs可以在牙根形成过程中促进无细胞牙骨质的形成,随后的研究也充分证明了EMPs在调节牙釉质生物矿化中起着至关重要的作用[7-8]。釉基质衍生物(enamel matrix derivative, EMD)是一种从6个月的猪牙胚中提取出来的疏水性EMPs,含有约95%的釉原蛋白[9]。据报道,釉原蛋白能参与牙齿的形成,并分泌一些促进矿化的生长因子,如转化生长因子β1(transforming growth factor β1, TGF-β1)和胰岛素样生长因子[10]。Emdogain(EMDgel)则是由EMD溶解在海藻酸丙二醇载体(propylene glycol alginate carrier, PGA)中形成的一种已经商品化的凝胶类结合物,基于EMD的生物学效应,以及凝胶制剂良好的黏附性能等优势,目前已经应用于口腔多个领域,如刺激牙周组织再生[11]、增加种植体的骨结合[12],以及进行活髓保存治疗等[13]。

目前,关于EMD与牙本质龋的研究较少[14],尚缺乏在体外pH循环条件下的探索。因此,本实验探索了EMD是否能在体外pH循环条件下促进根部牙本质龋的再矿化。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

醋酸、KH_2PO_4、KCL(分析纯)为成都科龙化工试剂厂产品,聚甲基丙烯酸甲酯、麝香草酚、戊二醛、KH_2PO_2购自上海阿拉丁化学有限公司,$CaCl_2 \cdot 2H_2O$(分析纯)为天津塘沽邓中化工厂产品,NaF(分析纯)为西安化学试剂厂产品,HEPES购自美国ANRESCO公司,去离子水由Millipore纯化系统提供,指甲油由美国美宝莲公司生产。

主要仪器:硬组织切割机(Struers Minitom,丹麦)、抛光机(Struers Lobopol,丹麦)、碳化硅砂纸(Struers,丹麦)、磁力搅拌器(85-2型,上海司乐仪器有限公司)、恒温摇床(station SA 500,英国)、超声波清洗仪(KQ-50B型,昆山市超声仪器有限公司)、pH测量仪(710A,美国ORION公司)、体视显微镜(Nikon SMZ-1500,日本)、偏振光显微镜(Nikon ECLIPSE ME600L,日本)、扫描电子显微镜(Hitachi S-5000型,日本)、显微放射照相仪(飞利浦,荷兰)及显微放射照相标本载体(Inspektor Research Systems BV,荷兰)。

1.2 EMD的获取

Emdogain(Emdogain-Straumann, Biora, Sweden)是由EMD溶解在PGA中形成的商品化的凝胶制剂,1支注射器内含0.7 mL凝胶,其中EMD的浓度为30 g/L。本研究在pH循环过程中,先在根部牙本质龋上方注射1滴EMDgel凝胶,然后将其涂薄,覆盖在病损表面[15]。

1.3 样本制备

本研究实验样本为购自成都市百瑞农业有限公司的4岁牛门牙。60颗牙齿从颌骨中取出后,用手术刀从根部小心地清除残留的有机污染物,处理后的牛牙样本被储存在0.05%麝香草酚溶液中,4 ℃保存备用。从中选取根面完好、无裂缝或氟斑的牛门牙55颗,用硬组织切割机进行冠根分离,取釉牙骨质界下方牙根,制备5 mm×5 mm×5 mm的牙根组织块,置超声波清洗仪中清洗30 min,体视显微镜下选取无龋、无裂痕、无

缺隙的样本 100 例,置于去离子水中冲洗,自然干燥后,所有样本都表面朝下嵌入聚甲基丙烯酸甲酯中包埋,待材料凝固后,牙骨质面用碳化硅砂纸在流水下按 800 粒度到 5 000 粒度的顺序依次磨平,使用体视显微镜观察样本表层牙骨质被去除后[16],用 15 μm 的金刚石研磨膏手工抛光,在表面涂上 2 层耐酸指甲油,保留约 3 mm×4 mm 的开窗区。制备的样本如图 1。

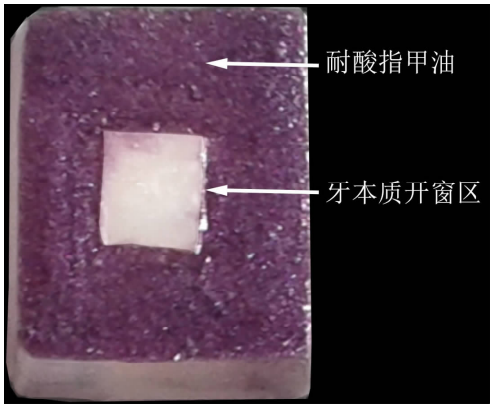


图 1 牛牙根部牙本质样本

1.4 病损的形成

将所有样本置于密闭玻璃容器内,加入脱矿液(2.2 mmol/L $CaCl_2 \cdot 2H_2O$,2.2 mmol/L KH_2PO_2,50 mmol/L 醋酸;pH=4.6),置于 37 ℃的恒温摇床中,使用磁力搅拌器 1.119×*g* 离心 4 d,形成根面牙本质龋[17]。将 2 层耐酸指甲油涂在标本开窗区的一半,只露出 3 mm×2 mm 的表面。

1.5 pH 循环实验

通过简单随机抽样的方法,将根面牙本质龋块按 pH 循环中处理试剂不同分为:EMD 组(30 g/L EMD,实验组)、NaF 组(1 g/L NaF,阳性对照组)和 DDW 组(阴性对照组),每组 20 个样本。实验溶液/凝胶处理 10 min,酸性缓冲液(50 mmol/L 醋酸,2.25 mmol/L $CaCl_2 \cdot 2H_2O$,1.35 mmol/L KH_2PO_4,130 mmol/L KCl;pH=5.0)处理 30 min,中性缓冲液(20 mmol/L HEPES,2.25 mmol/L $CaCl_2 \cdot 2H_2O$,1.35 mmol/L KH_2PO_4,130 mmol/L KCl;pH=7.0)处理 10 min。每天重复循环 6 次,共 8 d。

1.6 扫描电子显微镜(scanning electron microscope,SEM)观察

pH 循环后,为了检查样本表面的形态变化,各组随机抽取 5 个样本,放入 2.5%戊二醛液内,4 ℃下固定 24 h。干燥,镀金,分别在工作电压为 20 kV 的条件下,用扫描电子显微镜放大 2 000 倍和 10 000 倍,观察 pH 循环后样本表面形态。

1.7 偏振光显微镜(polarized light microscopy,PLM)观察

pH 循环后,各组随机抽取 5 个样本,于硬组织切割机上垂直于开窗区表面切片,每张切片包括 pH 循环前后 2 部分组织,切片厚约 300 μm,然后在抛光机流水下磨制成约 100 μm 厚的薄片,再经水浸渍后用偏振光显微镜观察,数码图像由系统专用软件(Nikon ACT-1 for L-1,Nikon,日本)获取。

1.8 横断显微照相(transverse microradiography,TMR)测量

pH 循环后,各组随机抽取 6 个样本,将样本固定在显微放射照相标本载体上,然后通过单色 CuK 的 X 射线源,在 20 kV 和 20 mA 的条件下,曝光 30 s,显微放射照相仪检测,通过显微放射照相结果分析软件 2006(Inspektor 研究系统,阿姆斯特丹,荷兰)分析矿物质丢失、龋损深度和选定深度的矿物质含量。该软件可以获得从牙本质表面到矿物质含量达到正常牙本质 87%的各层矿物质丢失量和龋损深度数据。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件,各组内 pH 循环前后的矿物质丢失量、龋损深度以及表层和病损体部的矿物质含量采用配对 *t* 检验,各组间 pH 循环前以及 pH 循环后的矿物质丢失量、龋损深度以及表层和病损体部的矿物质含量采用单因素方差分析和两两比较,$P<0.05$ 被认为差异有统计学意义。

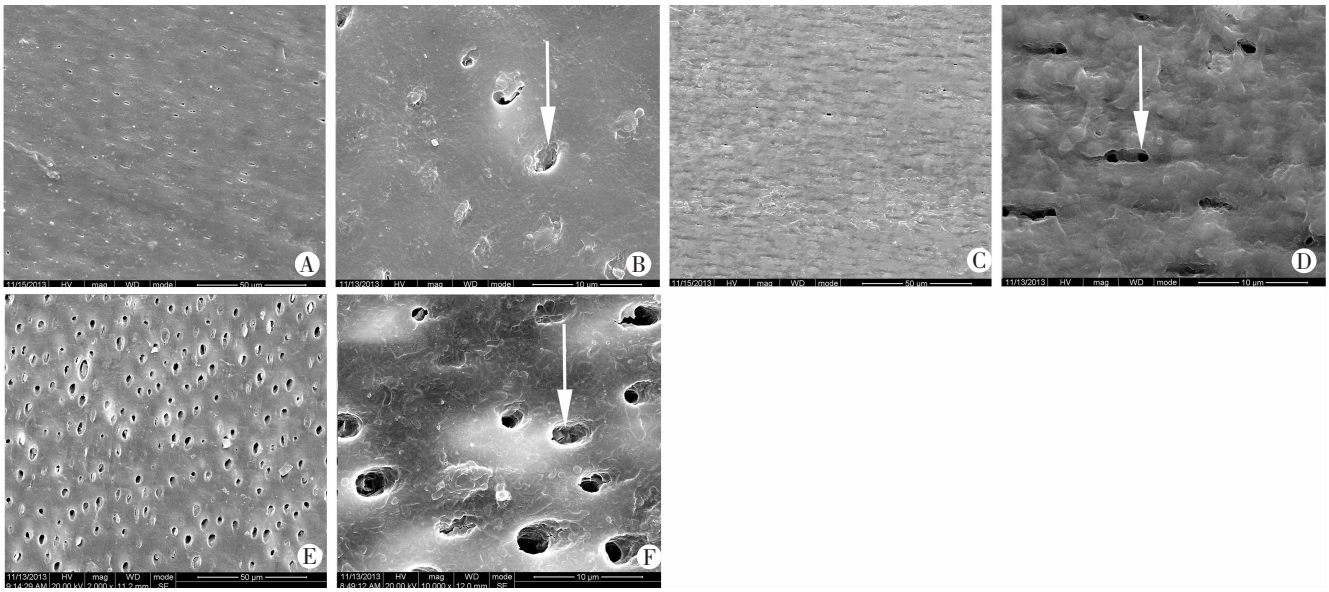
2 结果

2.1 扫描电子显微镜观察

扫描电子显微镜下观察到,pH 循环后,EMD 组样本表面有一层分布较为均匀的矿物质沉积,牙本质小管部分封闭(图 2A、B);NaF 组样本表面也有一层明显的矿物质沉积,且较 EMD 组多,牙本质小管基本完全封闭(图 2C、D);DDW 组样本管周和管间牙本质均发生了不同程度的脱矿,表面无再矿化层形成(图 2E、F)。这些结果表明,除 DDW 组外,EMD 和 NaF 组的样本均会在表面形成矿物质沉积。

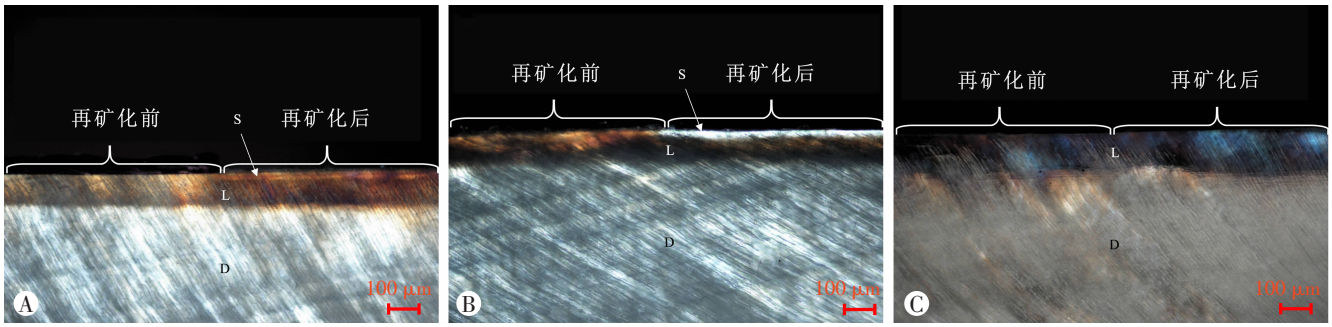
2.2 偏振光显微镜观察

如图 3 所示,在 pH 循环前,所有样本未出现明显的矿化表层,说明表面未发生明显再矿化。pH 循环后,EMD 组(图 3A)和 NaF 组(图 3B)牙本质表面沉积物清晰可见,而 DDW 组样本再矿化后无明显表层形成(图 3C)。EMD 组和 DDW 组龋损深度均增加,但 EMD 组深度与 DDW 组相比加深得较少,说明 EMD 可能具有抑制牙本质脱矿的作用。



A、B:EMD 组 pH 循环处理后根部牙本质表面放大 2 000、10 000 倍扫描电镜图　箭头:示部分封闭的牙本质小管;C、D:NaF 组 pH 循环后根部牙本质表面放大 2 000、10 000 倍扫描电镜图　箭头:示基本完全封闭的牙本质小管;E、F:DDW 组 pH 循环后根部牙本质表面放大 2 000、10 000 倍扫描电镜图　箭头:示开放的牙本质小管

图 2　pH 循环后各组扫描电子显微镜下表面矿物质沉积情况



S:表层;L:病损体部;D:未脱矿牙本质
A:EMD 组;B:NaF 组;C:DDW 组

图 3　pH 循环前后各组偏振光显微镜下矿化表层及龋损深度变化情况

2.3　横断显微照相测量

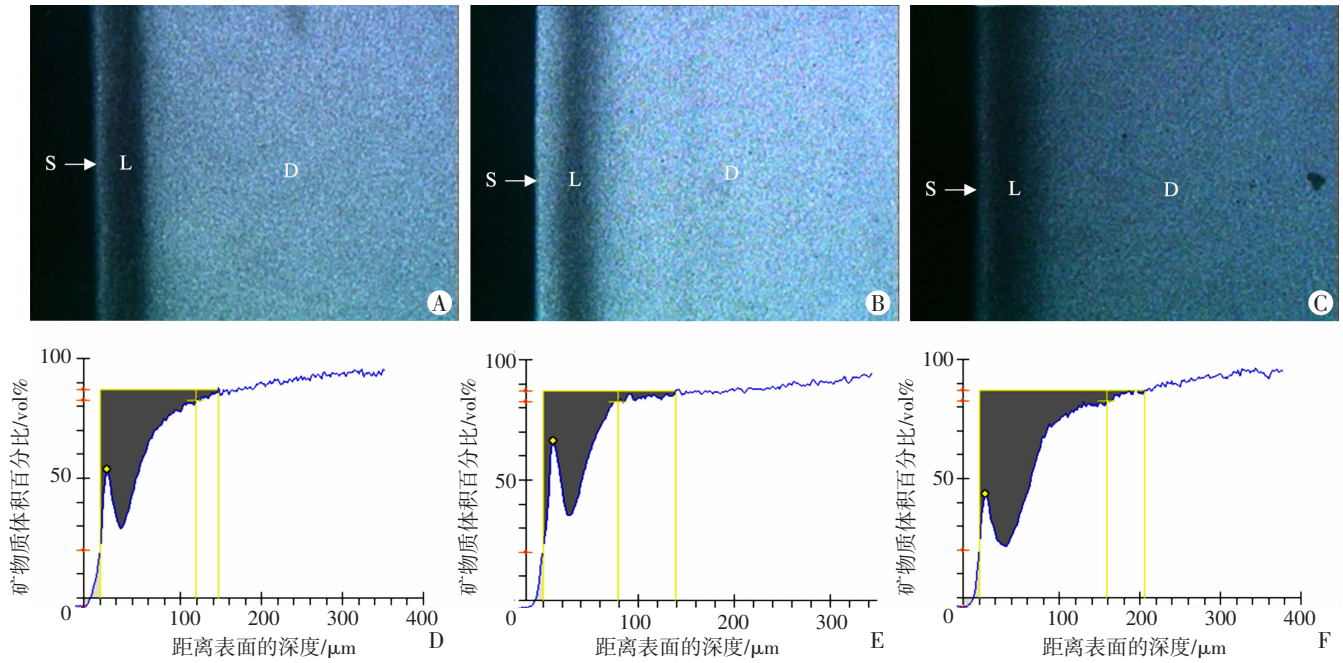
表 1 显示了各组 pH 循环前后矿物质丢失、龋损深度以及表层和病损体部矿物质含量的变化情况。结果显示,pH 循环前,各组基线数据比较差异无统计意义;pH 循环后,NaF 组与其他 2 组相比,矿物质丢失明显减少($P<0.05$),病损明显变浅($P<0.05$),矿物质沉积明显增多($P<0.05$),DDW 组与其他 2 组相比,在 pH 循环后表层和病损体部矿物质含量最低($P<0.05$)。值得关注的是,与 DDW 组相比,pH 循环后的 EMD 组矿物质丢失明显减少,病损深度更浅,矿物质含量更高($P<0.05$)。结果表明,EMD 对牙根部牙本质龋的再矿化有一定的促进作用。

pH 循环后 TMR 图像结果(图 4A~C)显示,各组存在不同的表层(不透光组织,即图中标注为 S 的区域)和病损体部(透光组织,即图中标注为 L 的区域)。NaF 组和 EMD 组表面的不透光射线带明显,NaF 组比 EMD 组更厚。而与 DDW 组相比,EMD 组的条带则更厚,实际上,这个不透光的射线带在 DDW 组中几乎看不出来。EMD 组和 DDW 组的放射透光区增加,后者在外观上更深。其中 NaF 组的表层最宽,病损体部最浅。pH 循环后各组矿物体积百分比的差异见图 4D~F。与 DDW 组相比,EMD 组在表层显示出更大的矿物体积百分比。在 3 组中,NaF 组在表层含有最多的矿物体积百分比。

表 1 pH 循环前后各组矿物质丢失量、龋损深度及表层和病损体部矿物质含量变化（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

组别	矿物质丢失量/vol% μm		龋损深度/μm		表层矿物质含量/vol%		病损体部矿物质含量/vol%	
	pH 循环前	pH 循环后	pH 循环前	pH 循环后	pH 循环前	pH 循环后	pH 循环前	pH 循环后
EMD 组	3 071.7±613.6	3 936.7±535.5^{ab}	113.6±14.8	122.3±8.8^{ab}	6.5±0.5	29.7±6.6^{ab}	80.1±3.7	60.3±7.4^{ab}
NaF 组	3 515.0±398.0	2 461.7±372.9^{a}	116.3±13.1	97.9±18.2^{a}	7.1±0.9	46.7±8.0^{a}	78.0±7.2	93.3±6.2^{a}
DDW 组	3 123.3±531.1	4 970.0±245.4	118.1±7.0	145.2±23.2	6.9±1.0	18.9±3.5	79.8±2.0	46.0±6.2

a：$P<0.05$，与 DDW 组比较；b：$P<0.05$，与 NaF 组比较



S：表层；L：病损体部；D：未脱矿牙本质

A～C：分别为 EMD、NaF、DDW 组 pH 循环后 TMR 图像；D～F：分别为 EMD、NaF、DDW 组 pH 循环后相关病灶深度的矿物体积百分比

图 4 pH 循环后各组表层矿物质沉积、病损体部深度以矿物体积百分比情况

3 讨论

EMD 是从发育中的猪牙胚内提取的 EMPs 的衍生物，随着 EMDgel 的生产和使用，其逐渐被牙医作为一种新型的治疗选择。釉原蛋白是 EMPs 中含量最高（>95%）的一种成分，也是其主要的活性成分，在晶体形成和矿化中发挥着重要的作用[18-19]。牙本质中含有 20%的有机基质（主要是胶原蛋白），其含量远高于牙釉质，且Ⅰ型胶原纤维占了牙本质有机基质的 90%，当牙本质龋形成时，胶原纤维很容易暴露和降解，导致牙本质龋迅速进展，胶原纤维的存在对牙本质龋残留晶体的再生至关重要[20]，EMPs 则可以通过与Ⅰ型胶原纤维结合，并吸附在羟基磷灰石和胶原上形成多分子层，从而稳定暴露的胶原纤维，促进龋损的逆转[21]。由于 EMPs 的生物学功能特点以及牙本质龋的发生发展过程，EMD 作为一种有机基质，在抑制牙本质龋方面可能具有一定的优势。基于此，本实验研究了 EMD 是否可能成为预防或治疗根面牙本质龋的一种有前景的再矿化药物。

由于伦理约束、个体差异以及牙根体积的限制，单纯使用人牙很难满足实验需要。EDMUNDS 等[22]曾指出，牛牙的人工龋损与人牙的病变相似，近年，LIPPERT 等[23]的研究也表明，牛牙牙本质可以被认为是人牙牙本质合适的替代品，尽管两者之间仍然存在一些差异。因此，本实验选择了牛牙本质代替人牙本质。为了形成人工根面牙本质龋，本实验按照 XIE 等[17]的方法制备了标本。pH 循环过程则模拟了体内自然龋损的形成过程，包括 pH 值和矿物离子饱和度的动态变化[24]。氟化物作为一种有效的防龋制剂，得到了广泛的应用，其防龋效果肯定。因此，本实验选用了 NaF 作为阳性对照组来评价 EMD 的再矿化作用。然而，氟化物的进一步应用受到氟中毒或耐氟菌株等

因素的限制,新的防龋方法需要不断探索。此外,本实验也设立了 DDW 阴性对照组,以评价 EMD 的再矿化的作用。

本实验对样本进行了 SEM 和 PLM 的观察以及 TMR 分析。TMR 通常被认为是检测牙体硬组织脱矿和再矿化的金标准[25],SEM 和 PLM 则从不同维度的微观层面直观地验证实验结果。TMR 结果显示,与 DDW 组相比,pH 循环后 EMD 组的矿物质丢失量减少,龋损深度变浅,表层和病损体部矿物质含量变高;NaF 组的所有测量结果展示出了最佳的再矿化效果。结果表明,EMD 在体外可以促进根面牙本质龋的再矿化。但这与前期已有的关于 EMD 与根面牙本质龋之间的研究[14]结论并不一致。分析原因,本实验是通过 EMD 存在于凝胶中的形式多次作用于人工根面龋,使 EMD 呈现出较好的黏附力和作用时间,因此展现出了对根面牙本质龋良好的再矿化作用。SEM、PLM 和 TMR 的图像结果则进一步验证了 TMR 测量数据所得的实验结论。当然,EMD 对牙本质龋的作用效果还有待于进一步通过动物及临床试验验证。

本研究证实 EMD 在体外促进根面牙本质龋再矿化的潜力,但目前尚不清楚哪些成分可以被纯化或合成,以达到治疗或预防根面牙本质龋的最佳效果。因此需要进一步研究基于 EMPs 结构和功能的合成多肽,以增加牙本质龋的矿物质吸收和矿化。

参考文献:

[1] HARIYANI N, SETYOWATI D, SPENCER A J, *et al*. Root caries incidence and increment in the population: A systematic review, meta-analysis and meta-regression of longitudinal studies[J]. J Dent, 2018, 77: 1-7. DOI: 10.1016/j.jdent.2018.06.013.

[2] WIERICHS R J, MEYER-LUECKEL H. Systematic review on noninvasive treatment of root caries lesions[J]. J Dent Res, 2015, 94(2): 261-271. DOI: 10.1177/0022034514557330.

[3] DEWANI N, KASHYAP N, AVINASH A, *et al*. Effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate as a remineralizing agent: An *in vivo* study[J]. Indian J Dent Res, 2019, 30(6): 820-825. DOI: 10.4103/ijdr.IJDR_779_17.

[4] SANTHOSH B P, JETHMALANI P, SHASHIBHUSHAN K K, *et al*. Effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate containing chewing gum on salivary concentration of calcium and phosphorus: an *in-vivo* study[J]. J Indian Soc Pedod Prev Dent, 2012, 30(2): 146-150. DOI: 10.4103/0970-4388.99990.

[5] HEASMAN P A, RITCHIE M, ASUNI A, *et al*. Gingival recession and root caries in the ageing population: a critical evaluation of treatments[J]. J Clin Periodontol, 2017, 44(Suppl 18): S178-S193. DOI: 10.1111/jcpe.12676.

[6] SCHONFELD S E. Demonstration of an alloimmune response to embryonic enamel matrix proteins[J]. J Dent Res, 1975, 54 Spec no C: C72-C77. DOI: 10.1177/00220345750540308011.

[7] ROBINSON C, BROOKES S J, SHORE R C, *et al*. The developing enamel matrix: nature and function[J]. Eur J Oral Sci, 1998, 106(Suppl 1): 282-291. DOI: 10.1111/j.1600-0722.1998.tb02188.x.

[8] MORADIAN-OLDAK J, GEORGE A. Biomineralization of enamel and dentin mediated by matrix proteins[J]. J Dent Res, 2021, 100(10): 1020-1029. DOI: 10.1177/00220345211018405.

[9] HAMMARSTRÖM L. Enamel matrix, cementum development and regeneration[J]. J Clin Periodontol, 1997, 24(9 Pt 2): 658-668. DOI: 10.1111/j.1600-051x.1997.tb00247.x.

[10] WYGANOWSKA-SWIATKOWSKA M, URBANIAK P, NOHAWICA M M, *et al*. Enamel matrix proteins exhibit growth factor activity: a review of evidence at the cellular and molecular levels[J]. Exp Ther Med, 2015, 9(6): 2025-2033. DOI: 10.3892/etm.2015.2414.

[11] HOFFMANN T, AL-MACHOT E, MEYLE J, *et al*. Three-year results following regenerative periodontal surgery of advanced intrabony defects with enamel matrix derivative alone or combined with a synthetic bone graft[J]. Clin Oral Investig, 2016, 20(2): 357-364. DOI: 10.1007/s00784-015-1522-4.

[12] LIM H C, LEE J S, JUNG U W, *et al*. Bone regenerative potential of enamel matrix protein in the circumferential defect around a dental implant[J]. Implant Dent, 2016, 25(2): 179-185. DOI: 10.1097/ID.0000000000000383.

[13] AL-HEZAIMI K, JAVED F, AL-FOUZAN K, *et al*. Efficacy of the enamel matrix derivative in direct pulp capping procedures: a systematic review[J]. Aust Endod J, 2013, 39(3): 171-175. DOI: 10.1111/j.1747-4477.2012.00357.x.

[14] BÄCHLI K, SCHMIDLIN P R, WEGEHAUPT F, *et al*. Remineralization of artificial dentin caries using dentin and enamel matrix proteins[J]. Materials, 2019, 12(13): 2116. DOI: 10.3390/ma12132116.

[15] OLSSON H, DAVIES J R, HOLST K E, *et al*. Dental pulp capping: effect of Emdogain Gel on experimentally exposed human pulps[J]. Int Endod J, 2005, 38(3): 186-194. DOI: 10.1111/j.1365-2591.2004.00932.x.

[16] GUO B, QUE K H, YANG J, *et al*. Effect of Galla chinensis on the remineralization of two bovine root lesions morphous *in vitro*[J]. Int J Oral Sci, 2012, 4(3): 152-

156. DOI: 10.1038/ijos.2012.45.

[17] XIE Q, BEDRAN-RUSSO A K, WU C D. *In vitro* remineralization effects of grape seed extract on artificial root caries[J]. J Dent, 2008, 36(11): 900-906. DOI: 10.1016/j.jdent.2008.07.011.

[18] LYNGSTADAAS S P, WOHLFAHRT J C, BROOKES S J, *et al*. Enamel matrix proteins; old molecules for new applications[J]. Orthod Craniofac Res, 2009, 12(3): 243-253. DOI: 10.1111/j.1601-6343.2009.01459.x.

[19] DELGADO S, GIRONDOT M, SIRE J Y. Molecular evolution of amelogenin in mammals[J]. J Mol Evol, 2005, 60(1): 12-30. DOI: 10.1007/s00239-003-0070-8.

[20] NARANI N, OWEN G R, HAKKINEN L, *et al*. Enamel matrix proteins bind to wound matrix proteins and regulate their cell-adhesive properties[J]. Eur J Oral Sci, 2007, 115(4): 288-295. DOI: 10.1111/j.1600-0722.2007.00467.x.

[21] ZHONG B, PENG C, WANG G H, *et al*. Contemporary research findings on dentine remineralization[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2015, 9(9): 1004-1016. DOI: 10.1002/term.1814.

[22] EDMUNDS D H, WHITTAKER D K, GREEN R M. Suitability of human, bovine, equine, and ovine tooth enamel for studies of artificial bacterial carious lesions[J]. Caries Res, 1988, 22(6): 327-336. DOI: 10.1159/000261132.

[23] LIPPERT F, CHURCHLEY D, LYNCH R J. Effect of lesion baseline severity and mineral distribution on remineralization and progression of human and bovine dentin caries lesions[J]. Caries Res, 2015, 49(5): 467-476. DOI: 10.1159/000431039.

[24] WHITE D J. The application of *in vitro* models to research on demineralization and remineralization of the teeth[J]. Adv Dent Res, 1995, 9(3): 175-193; discussion 194-197. DOI: 10.1177/08959374950090030101.

[25] BERG R A, SIMON J C, FRIED D, *et al*. Optical changes of dentin in the near-IR as a function of mineral content[J]. Proc SPIE Int Soc Opt Eng, 2017, 10044: 100440M. DOI: 10.1117/12.2256745.

(收稿:2023-12-21;修回:2024-04-09)

(编辑 刘秋池)

(上接1889页)

[16] 翟佳, 刘秋红, 姚永杰. 正加速度暴露对人体心率变异性的影响[J]. 陆军军医大学学报, 2024, 46(1): 33-38. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202309107.
ZHAI J, LIU Q H, YAO Y J. Effect of positive acceleration exposure on heart rate variability[J]. J Army Med Univ, 2024, 46(1): 33-38. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202309107.

[17] BURNS J W, PARNELL M J, BURTON R R. Hemodynamics of miniature swine during +Gz stress with and without anti-G support[J]. J Appl Physiol, 1986, 60(5): 1628-1637. DOI: 10.1152/jappl.1986.60.5.1628.

[18] GILLINGHAM KK, KRUTZ R W. Effects of the abnormal acceleratory environment of flight[J]. Aeromed Rev, 1974(10): 1-92.

[19] 王全, 李洁, 王海霞, 等. 歼击机飞行员抗荷生理训练情况调查[J]. 中华航空航天医学杂志, 2017, 28(3): 200-202. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-6239.2017.03.009.
WANG Q, LI J, WANG H X, *et al*. Investigation on physiological training of fighter pilots against load[J]. Chin J Aerosp Med, 2017, 28(3): 200-202. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-6239.2017.03.009.

[20] CAO X S, WANG Y C, XU L, *et al*. Visual symptoms and G-induced loss of consciousness in 594 Chinese Air Force aircrew: a questionnaire survey[J]. Mil Med, 2012, 177(2): 163-168. DOI: 10.7205/milmed-d-11-00003.

[21] COTE R, TRIPP L, JENNINGS T, *et al*. Effect of inspiratory volume on intrathoracic pressure generated by an L-1 maneuver[J]. Aviat Space Environ Med, 1986, 57(11): 1035-1038.

[22] 丁自海. 人体解剖学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
DING Z H. Human anatomy[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2010.

[23] 中国卫生信息与健康医疗大数据学会重症医学分会标准委员会, 北京肿瘤学会重症医学专业委员会, 中国重症肺电阻抗工作组. 肺电阻抗成像技术在重症呼吸管理中的临床应用中国专家共识[J]. 中华医学杂志, 2022, 102(9): 615-628. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20211201-02680.
Critical Care Medicine Branch of Chinese Standards Committee of Health Information and Big Data Association, Critical Care Medicine Committee of Beijing Association of Oncology, Severe Pulmonary Electrical Impedance Tomography Working Group in China. Clinical application of pulmonary electrical impedance tomography in severe respiratory management: consensus of experts in China[J]. Natl Med J China, 2022, 102(9): 615-628. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20211201-02680.

[24] JIMENEZ J V, WEIRAUCH A J, CULTER C A, *et al*. Electrical impedance tomography in acute respiratory distress syndrome management[J]. Crit Care Med, 2022, 50(8): 1210-1223. DOI: 10.1097/CCM.0000000000005582.

(收稿:2023-12-19;修回:2024-02-22)

(编辑 李 玥)