

# 低温等离子体在口腔颌面部疾病治疗的机制研究

Mechanisms of cold atmospheric plasma in dental research: Insights from biomedicine

邓浩<sup>1,2</sup>, 阿丽米热·阿里甫<sup>1</sup>, 张昊<sup>1</sup>, 孙小钦<sup>3</sup>, 刘卓<sup>4</sup>, 杨秀秀<sup>2</sup>, 韩琪<sup>1</sup>, 陈宇<sup>1△</sup>

DENG Hao, ALIFU Alimir, ZHANG Hao, SUN Xiao-qin, LIU Zhuo, YANG Xiu-xiu, HAN Qi, CHEN Yu

1. 口腔疾病研究国家重点实验室, 国家口腔疾病临床医学研究中心, 四川大学华西口腔医院, 四川 成都 610041; 2. 四川省资阳市中心医院, 口腔诊疗中心, 四川 资阳 641300; 3. 四川护理职业学院附属医院, 四川省第三人民医院, 四川 成都 610100; 4. 湖北民族大学智能科学与工程学院, 湖北 恩施 445000

**【摘要】** 低温等离子体技术作为等离子体医学的核心, 凭借其富含的活性氧与活性氮成分及常温应用特性, 在口腔医学领域展现出广泛应用潜力。低温等离子体不仅可用于改性牙科材料及牙体硬组织, 还能有效调节口腔菌群、减轻口腔黏膜炎症、抑制头颈部肿瘤生长及调控头颈免疫微环境。但是, 人体颌面部结构复杂, 特别是牙列与口腔微生物种群的多样性增加了低温等离子体治疗机制的复杂性。本文全面总结了低温等离子体在口腔医学的应用现状, 探讨其作用机制及当前面临的挑战。

**【关键词】** 大气常压低温等离子体; 口腔鳞状细胞癌; 创面愈合; 牙科材料; 口腔微生物

**【中图分类号】** R780.1

**【文献标志码】** B

**【文章编号】** 1672-6170(2025)02-0201-05

低温等离子体(cold atmospheric plasma, CAP)技术作为等离子体医学的核心, 凭借其富含的活性氧氮成分及常温应用特性, 在口腔医学领域展现出广泛应用潜力<sup>[1]</sup>。随着相关装置的持续更新, CAP在口腔环境中的应用也日益广泛, 为口腔医学带来了新的研究视角和治疗手段<sup>[2]</sup>。CAP不仅可用于改性牙科材料及牙体硬组织, 还能有效调节口腔菌群、减轻口腔黏膜炎症、抑制头颈部肿瘤生长及调控头颈免疫微环境<sup>[3]</sup>。但是, 人体颌面部结构复杂, 特别是牙列的存在、口腔微生物种群的多样性、微环境的动态变化都增加了CAP治疗机制的复杂性<sup>[4]</sup>。因此, 本文综述了CAP在口腔医学领域的多种应用实例, 旨在为CAP技术的进一步研究和应用提供参考。

## 1 CAP提高牙科材料粘接性能

CAP含有气化的活性化学集团, 可以在不影响陶瓷修复体的表面结构及机械性能的前提下改变陶瓷表面的化学性能, 如增加表面自由能, 减小水接触角, 增强老化稳定性, 从而增强粘接强度。此外, CAP对界面微生物膜有抑制作用, 为粘接提供可靠的远期稳定性<sup>[5]</sup>。

## 2 CAP参与改性牙体硬组织

**2.1 CAP改性牙本质** 等离子体可以增强酸蚀后的冠方牙本质与粘接材料的粘接强度, 其中一个可能原因当龋坏的皮革样牙本质(牙本质龋的脱矿层及再矿化层)经等离子体处理后, 有助于暴露原本被堵塞的牙本质小管, 增加粘接面积, 可使即刻粘

接强度提高到或接近正常牙本质相同的水平<sup>[6]</sup>。等离子体对粘接难度更大的根方牙本质的粘接改善也具有明确作用, 并且可以提高根充材料封闭性。等离子体处理后可增加根充材料与根管壁亲密度, 包括牙胶、根管封闭剂、粘接剂等<sup>[7]</sup>。而且, 等离子体具有提高协同牙科材料的性能, 如增强再矿化药物的渗透性和自由能。

等离子体能引入自由基或过氧化物等活化位点、破坏碳质材料的键结构、降解聚合物基质、开放牙本质小管等方式, 从而提高粘接系统对牙本质的润湿性、渗透性和粘合力。等离子体通过破坏碳质材料的C-H键和C-C键, 使其失去碳原子, 增加表面氧极性部分, 使其变为超亲水表面, 降低牙本质表面的接触角, 并将牙本质表面的聚合物基质降解为低分子量氧化物质、松散结合的低聚物, 甚至挥发性物质, 导致牙本质小管的开放<sup>[8]</sup>。同时, 当强原子或等离子体离子轰击牙本质表面时, 会导致键断裂并产生活性表面, 从而引发粘合剂单体的聚合, 并通过共价化学键将树脂粘接剂嫁接到胶原纤维上。此外, 等离子体处理还能增加牙本质胶原蛋白的硬度, 降解胶原纤维, 促进钙磷酸根离子在牙本质胶原上的吸附, 增加钙磷含量, 从而强化牙本质的薄弱混合层, 进一步提升粘接强度。值得注意的是, 等离子体处理增强粘接的效果还取决于处理时间、距离以及玷污层去除等因素<sup>[9]</sup>。Kermanshah等利用能谱仪分析, 发现CAP处理后增加了牙本质中钙和磷的含量, 增加了氢氧化钙、三氧矿物聚合物(MTA)、生物陶瓷等再矿化药物在牙本质小管内的渗透性, 提高了牙本质再矿化作用<sup>[10]</sup>。

**【基金项目】** 四川省重点研发项目(编号:2024YFFK0215)

△通讯作者

**2.2 CAP 改性牙釉质** 目前,等离子体改善釉质粘接领域研究主要集中于正畸托槽的粘接材料,更多的牙科材料学者希望能通过对等离子体研究,提供一种更为温和的处理方式来替代传统的酸蚀处理<sup>[11]</sup>。利用等离子水冲洗去除脱落的污染物,能增强粘接剂渗透,同时可有效预防正畸过程中托槽周围牙釉质的脱矿。

此外,牙齿漂白过程中,等离子体具有更好的功效与应用安全性。由于 CAP 有助于产生更多活性氧及保持低稳态温度,能够引起更显著且持久的颜色变化,同时避免热损伤。等离子体与传统漂白剂过氧化氢的协同作用,能增加釉质表面能,有助于降低过氧化氢的浓度及缩短漂白的的时间,且不会产生牙釉质不可逆的损伤。而且,等离子体产生的表面能量的增加有助于增加钙和磷离子,利于减少传统漂白中的釉质脱矿。在龋病预防方面,等离子体技术同样有益,CAP 与氟化物联合使用,F<sup>-</sup>取代 OH<sup>-</sup>形成氟羟基磷灰石,增加了牙釉质硬度,提高了晶体的稳定性和对低 pH 值的耐受性<sup>[12]</sup>。

### 3 CAP 抑制口腔微生物

**3.1 CAP 活性分子干扰细菌活性** 协调牙菌斑生物膜生态系统平衡、抑制致病菌成为优势菌是治疗口腔细菌感染性疾病的主要方法,等离子体能够产生多种活性氧氮物质(RONS)来干扰细菌或菌斑代谢活力以发挥抗菌作用<sup>[13]</sup>。CAP 可抑制多种菌斑生物膜,如大肠杆菌、金黄色葡萄球菌及假铜绿单胞菌等致病菌。体外实验证实,CAP 处理可通过降低细菌存活率和菌斑形成速度,减少生物膜的集落数量,并改变唾液生物膜的菌群组成。有研究证实,CAP 在降低口腔微生物膜的代谢能力比 0.12% 的氯己定更有效<sup>[14]</sup>。

对细菌细胞膜的破坏是 CAP 杀伤细菌的主要方式。一方面,活性自由基渗透细胞膜,裂解脂质,降低膜厚度,增加流动性和渗透性。形成的离子和电子在细胞上聚集,产生电场,中和负电荷,对膜造成压力,破坏结构完整性,形成临时性、可恢复性微小孔隙。另一方面,等离子体作用的活性氧等也会产生一定的抗菌作用。有研究利用接地网来阻隔气体等离子中的带电粒子,进而排除带电粒子的作用,进而让氧自由基作用于细菌生物膜发挥抗菌作用,验证了等离子体的抗菌作用是通过活性氧和带电粒子一起发挥作用的。

### 3.2 CAP 抑制口腔感染性疾病

**3.2.1 继发龋** CAP 可以抑制充填界面产酸菌降低继发龋发病。在龋病发生发展过程中,唾液生物膜的微生物组成一般会由弱致龋性质向强致龋性

质转变,其中变异链球菌和乳杆菌相较于唾液生物膜中其他菌属,产酸能力更强且更为耐酸,是产酸的主要菌属。等离子体对乳酸杆菌和变异链球菌有明确的抗菌效果,提示其在抑制龋病相关微生物方面的应用潜能。等离子体可以直接损伤致龋菌的细胞壁,及细胞内物质如脂质、蛋白质和 DNA,导致其变形损坏及释放<sup>[15]</sup>。研究证实,充填树脂表面培养的变异链球菌在等离子体处理一定时间后,其活力和代谢均受到抑制,DNA 部分受损,且随着时间的延长,损伤效果增强。

研究证实,等离子体活性分子能够进入牙体硬组织界面的微小孔隙,能够对微小结构中的细菌进行杀灭,有效杀灭隐藏在牙本质小管或充填界面微裂隙中的细菌<sup>[16]</sup>。等离子体可以作用在非创伤性修复治疗去龋后的窝洞内,由于对窝洞内龋病微生物的消毒作用,减少龋病的发展,展现了等离子体在窝洞预备后消毒中有应用潜能<sup>[17]</sup>。

**3.2.2 难治性根管和根管再治疗** 清除微生物感染是根管治疗的核心目标和关键因素。高通量 16S rRNA 微生物组测序检测发现,粪肠球菌与难治性根尖周感染和根管治疗后再感染密切相关。体外研究证实,等离子体对粪肠球菌具有显著的抑制作用,甚至可以与传统的根管消毒剂次氯酸钠冲洗的效果相当。体内实验也表明,等离子体确实可以促进根尖复杂炎症的愈合<sup>[18]</sup>。

等离子体对粪肠球菌生物膜的杀灭作用,可能归功于其产生的活性氧和激活态的氦气等物质对细菌的失活作用。同时,在根管治疗中,等离子体能够进入微小孔隙中,为更深处细菌的杀灭提供了条件。尽管等离子体对细菌的杀灭效果没有超过 2% 氯己定、次氯酸钠等常规冲洗方式,但得益于其进入微小孔隙的能力,等离子体在实际体内实验中显示出优于冲洗治疗的根尖周病变愈合效果<sup>[18]</sup>。

此外,等离子体处理对根管内牙本质表面的浸润性有积极的影响,这可能影响到对根管封闭剂、牙胶和粘接剂结合程度。在处理活髓时,等离子体可能具有保存牙髓组织活性的能力。这些特性使得等离子体在牙科治疗中具有多方面的应用价值。

**3.2.3 感染性黏膜病** 口腔念珠菌为条件致病菌,在免疫力低下的人群中发病率较高,头颈部肿瘤放疗患者中发病率约 52%,干燥综合征发病率甚至高达 80%。体外研发证实,CAP 可以抑制白色念珠菌生物膜在培养孔板上的存活率,且增加其对抗生素的敏感性。

CAP 抑制口腔念珠菌的机制与传统抗菌药物的相似。CAP 通过产生活性氧,能破坏真菌细胞

壁,影响真菌细胞活性,干扰胞内核酸与细胞器生理过程,如 DNA、蛋白质和脂质,导致细胞代谢紊乱和线粒体氧化损伤。等离子体不仅可以用于治疗单纯的真菌感染,也可以在系统性疾病的口腔并发症的治疗中发挥作用,如糖尿病创口合并真菌感染,等离子体处理可以减轻感染,促进皮肤再生,加速真皮内的胶原沉积和新血管形成<sup>[19]</sup>。CAP 对口腔黏膜癌前病变也有作用,利用等离子体体外处理口腔扁平苔癣黏膜组织样本,样本中淋巴细胞浸润能够减少<sup>[20]</sup>。

**3.2.4 牙周病及种植体周围炎** CAP 处理可以有效协调微环境免疫稳态与牙周炎症,同时对牙周菌群的也有明确的调控作用。在牙周炎动物实验中,经 CAP 处理后的牙周组织,炎症得以缓解,组织出现修复,牙周袋深度有所改善,致病微生物比例下降<sup>[21]</sup>。等离子体的抑菌作用可能主要依赖于胞外活性氧物质对细菌 DNA 等细胞成分的破坏,同时它还能提高细菌生物膜对免疫反应的敏感性。此外,提高等离子体气体源中的氧含量能增强其抑菌力,提示氧活性物质在其中扮演关键角色。等离子体对牙周菌群的调控作用主要体现在对牙周炎红色菌斑复合体的作用,如牙龈卟啉单胞菌、伴放线聚集杆菌、福赛坦氏菌,尤其对牙周牙龈卟啉单胞菌具有显著的抑制效果。

种植体周围炎的致病机制与牙周炎相似。鉴于 CAP 在调控口腔微生物和促进骨缺损修复的双向作用,以及口腔种植微环境的特殊性,等离子体可能具有辅助治疗种植体周围炎和修复骨缺损的潜力。在比格犬的种植体周围炎治疗中,使用 CAP 辅助机械清创,发现植入物周围沟内的炎症代谢产物减少,从而抑制了炎症反应<sup>[22]</sup>。

**3.2.5 CAP 改性种植体材料表面** 等离子体通过促进成骨细胞的增殖、脂肪干细胞的黏附、骨髓干细胞的成骨定向分化等作用,有助于重建牙槽骨的骨缺损。此外,等离子体可促进人牙周膜细胞成骨分化和人牙龈成纤维细胞黏附功能,发挥骨缺损的修复功能。在体内实验中,经等离子体处理,牙周骨量丢失更少,新生牙槽骨增加,这表明等离子体能够在动物体内有效地保护牙周骨组织,并对骨缺损实现骨整合。经检测证实,等离子体可以促进牙周组织微环境碱性磷酸酶、骨钙素、骨连接蛋白和骨桥蛋白升高来实现骨缺损的骨整合。

等离子体促进成骨的作用,使其在牙种植领域受到广泛关注。对于种植牙的远期稳定性而言,牙种植体表面纯钛涂层的完整性至关重要。通过等离子体处理引入含氮官能团,不仅在不改变纯钛表面形貌的前提下提升了种植材料表面的亲水性,同

时也增强了细胞的黏附和增殖能力,有助于种植体植入后关键的初期骨整合,并积极促进成骨过程。研究表明,经过等离子体处理的纯钛种植材料表面能够显著增强大鼠骨髓间充质干细胞的黏附能力,并促进其向成骨细胞的分化。同时,等离子体处理还能显著提高成骨细胞标志物及成骨相关基因 mRNA 的表达水平,进一步证明了其对成骨过程的促进作用。

#### 4 CAP 抑制肿瘤的潜能

CAP 能够通过诱导鳞状细胞癌细胞凋亡和阻滞细胞周期诱导鳞状细胞癌细胞死亡。等离子体中的活性氧、活性氮等物质与鳞状细胞癌细胞的凋亡关系密切,鳞状细胞癌细胞的 DNA 频繁复制,使得 ROS 介导的一系列机制让 CAP 能够靶向作用于鳞状细胞癌细胞,进而引起选择性的鳞状细胞癌细胞内物质包括 DNA 等的损伤,引起鳞状细胞癌细胞的凋亡<sup>[23]</sup>。另外,等离子体诱导肿瘤细胞调节性死亡产生的活性分子促使暴露其中的鳞癌细胞发生免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death, ICD),濒死细胞产生的 ICD 趋化巨噬细胞或树突状细胞等其他抗原呈递细胞到鳞癌组织,启动免疫反应,释放包括表面的钙网蛋白(ecto-CRT)、三磷酸腺苷(ATP)、高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)、热休克蛋白(HSP70、HSP90)在内的免疫刺激因子(DAMPs)。ATP 和 HMGB1 趋化招募巨噬细胞和树突状细胞等抗原呈递细胞到 DAMPs 释放区域,ecto-CRT 促进抗原呈递细胞吞噬 DAMPs,活化的抗原呈递细胞将肿瘤相关抗原呈递给 T 细胞,产生和扩大对鳞癌细胞特异性免疫<sup>[24]</sup>。研究证实 CAP 增强了巨噬细胞、树突状细胞的抗原提呈作用,以及 T 细胞对鳞癌细胞的特异性免疫,激活微环境对鳞癌细胞生长的长期抑制功能<sup>[25]</sup>。见图 1。

除了上述直接对鳞癌细胞产生的直接作用外,CAP 还可以诱导抗原呈递细胞影响鳞状细胞癌生长。在不同微环境信号的引导下,巨噬细胞存在经典活化巨噬细胞(M1)和交替活化巨噬细胞(M2)两型。M1 型通过释放促炎细胞因子如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-12(IL-12),并参与 Th1 细胞反应来抑制肿瘤生长,而 M2 型则通过表达抗炎细胞因子如转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )和白细胞介素-10(IL-10)来促进肿瘤发展。鳞癌肿瘤微环境中的 M2 型巨噬细胞会促使鳞癌细胞的生长和迁移,甚至阻止其他免疫细胞攻击鳞癌细胞,CAP 能够下调巨噬细胞 M2 型活化,减弱鳞癌微环境中的 M2 型巨噬细胞促进鳞癌细胞的影响作用。在肿瘤形成的早期,CAP 促使 M1 型巨噬细胞分泌 TNF- $\alpha$  等细胞因子诱导抗鳞状细胞癌的免疫反应<sup>[26]</sup>。

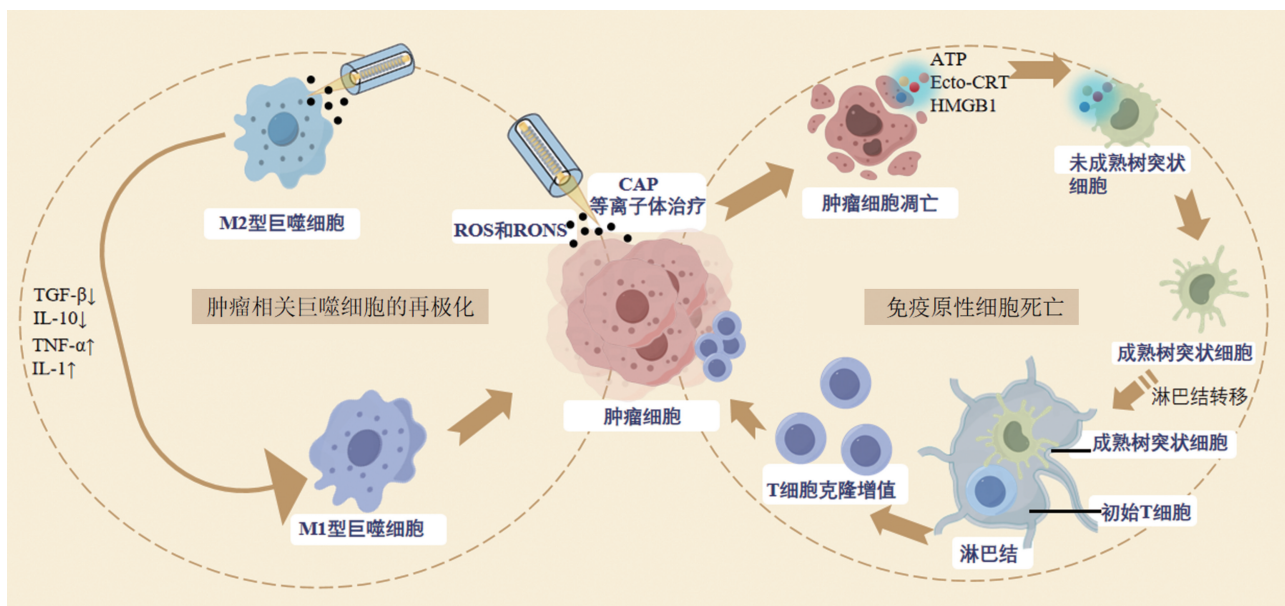


图 1 CAP 治疗口腔鳞状细胞癌的作用机制

## 5 CAP 促进口腔颌面部创面愈合

等离子体处理小鼠烧伤创面,降低了创面中 IL-6、TNF- $\alpha$  等炎症相关的组织细胞因子,促进了烧伤创面的愈合。对于复杂的慢性感染创面,可以缩短愈合时间。对于黏膜创面也有良好效果,如促进鼻黏膜的快速恢复。口腔内部环境虽然不同于皮肤环境,湿度大,微生物多样,血供复杂且丰富,但是创面愈合过程与皮肤组织有相似性。越来越多的研究开始关注 CAP 的浓度和作用的时间在不同环境创面愈合中的作用。长时间应用 CAP 可能产生细胞毒性化合物  $H_2O_2$ 。CAP 处理牙龈细胞超过 60 秒会导致凋亡基因在 mRNA 水平上的增加,导致上皮的损伤。等离子体在处理皮肤或黏膜创面时,可以发挥抑菌效果、促进凝血、血管生成,增加成纤维细胞和角质形成细胞增殖,并刺激免疫呈递及免疫反应,达到创伤治疗的效果<sup>[27]</sup>。

**5.1 CAP 促进创面组织愈合** 体外实验证实,利用 CAP 处理的细胞活化液短期培养人脐静脉内皮细胞,可以促进人血管内皮细胞的血管生成,同时提高组织血红蛋白和水分指数。新生的血管为组织愈合提供良好的氧供和营养支持,这为创口的纤维修复提供基础条件。其潜在机制可能是 RONS 诱导内皮一氧化氮合酶(NOS)磷酸化和激活,从而增加内皮细胞中内源性一氧化氮的水平,改变 GF-VEGFR-2 相关信号通路。等离子体处理有利于诱导角质形成细胞和成纤维细胞生成。

**5.2 CAP 调节氧化还原控制** 值得提出的是,等离子体促进急慢性伤口愈合再生的机制可能不同。在急性创面中,等离子体处理通过活性氧等途径促进了血液的溶血,破裂的红细胞释放 DAMPs,导致

血小板的活化和止血机制的发挥,同时 DAMPs 可能进一步激活免疫细胞,导致血小板活化的自发放大<sup>[28]</sup>。CAP 处理慢性创面时,尤其是难以愈合或处于愈合停滞状态的创面,适当规模的等离子体能够引起氧化损伤,进而诱导细胞凋亡,使慢性创面转化为活动状态,其中创面愈合受氧化还原信号控制<sup>[29]</sup>。暴露于活性分子中的组织细胞 RONS 产出增加,会导致组织细胞增殖、抗氧化核转录因子(Nrf2)和过氧化氢酶表达的升高,而持续对 Nrf2 产生刺激作用,促进创面愈合<sup>[30]</sup>。一个可以验证的假设是,CAP 诱导巨噬细胞激活 Nrf2,从而导致抗炎细胞因子(IL-10 等)的释放、通过激活血管内皮生长因子促进血管生成以及激活成纤维细胞促进细胞外基质的重塑,最终促进创面愈合。上述的氧化还原通路和巨噬细胞通路共同作用,加速了血管生成、组织形成和基质重塑,最终促进慢性创面愈合的进程。

## 6 总结与展望

等离子体在口腔医学中的应用,特别是其与口腔组织和牙科材料的相互作用,标志着现代医学的一大突破。本综述揭示了基于 CAP 治疗技术和生物学应用的广阔前景,如改性牙科材料及牙体硬组织、调控口腔菌群、减轻口腔黏膜炎症、抑制头颈部肿瘤以及调控头颈免疫微环境等。尽管 CAP 在口腔医学领域展现出巨大潜力,但目前其应用仍处于研究阶段,具体作用机制及关键有效成分尚待明确<sup>[31]</sup>。此外,开发低成本、便携式的等离子体源及手持设备,是未来技术创新的关键,将推动 CAP 技术在口腔医学中的广泛应用。