

Er,Cr:YSGG 激光加速牙本质矿化的研究

陈百顺, 夏荣, 余金兰

摘要 目的 研究 Er,Cr:YSGG 激光对牙本质胶原纤维矿化的影响, 加快矿化过程缩短矿化时间。方法 选取人类健康第三磨牙, 除去牙釉质留下殆面的牙本质, 将牙本质脱矿, 留下牙本质胶原纤维网, 将脱矿后的胶原纤维放置于配置的再矿化液中, 用 Er,Cr:YSGG 照射, 将试验前后的牙齿标本使用扫描电子显微镜 (SEM) 分析其表面形态, 能谱仪 (EDS) 分析钙磷元素的分布, 维氏硬度仪检测牙本质标本表面显微硬度。结果 经 Er,Cr:YSGG 激光照射后的牙本质标本牙本质小管中有新的矿物质生成, 覆盖于牙本质小管内壁上, 钙磷元素在牙本质小管内壁上富集, 牙本质硬度提高。结论 Er,Cr:YSGG 激光能辅助牙本质胶原纤维在矿化液中矿化, 形成新的矿物质, 并能缩短牙本质胶原纤维在矿化液中的矿化时间。

关键词 Er,Cr:YSGG; 牙本质; 胶原纤维; 矿化

中图分类号 R 781.3

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)02-0270-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.02.017

目前临床上治疗牙体缺损的最常用方法是树脂粘接术, 然而大量的实验室和临床证据表明, 树脂粘接术的长期疗效不佳, 出现充填体着色、微渗漏继发

龋和充填体脱落。牙本质主要由无机矿物质羟基磷灰石 (HA) 和有机质 I 型胶原纤维 (占有有机物的 90%) 组成^[1], 牙本质胶原纤维的再矿化为解决粘接界面的问题提供了一种新的途径。除了牙体缺损, 牙本质敏感症也是临床上常见的口腔疾病, 其主要是由于牙釉质缺损, 牙本质暴露, 当牙齿受到外界刺激时会产生短暂而尖锐的疼痛^[2], 封闭牙本质小管阻断此过程将会是治疗牙本质过敏症的有效方法, 牙本质胶原纤维的再矿化也为其提供了新的治疗方法^[3]。目前牙本质胶原纤维矿化过程需要几周至几个月, 这大大限制了这项技术应用于临床。该研究基于已有的胶原纤维矿化方法, 使用 Er,Cr:YSGG 激光辅助, 观察对矿化时间的影响, 为这项技术应用于临床提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料 人类健康第三恒磨牙由安徽医科大学第二附属医院口腔科提供 (经安徽医科大学第二附属医院伦理委员会批准)。

1.2 主要试剂 氯化钙 (CaCl₂)、磷酸氢二钠 (Na₂HPO₄)、氢氧化钠 (NaOH)、盐酸 (HCl)、聚天冬氨酸 (polyaspartic acid, PASP)、乙二胺四乙酸 (ED-TA)、叠氮钠 (NaN₃)、胃蛋白酶均购自上海索莱宝生物科技有限公司。

1.3 主要仪器 Sartorius 电子天平 (BSA124S, 德国

2022-12-26 接收

基金项目: 国家重点研发计划 (编号: 2018YFB0407204)

作者单位: 安徽医科大学第二附属医院口腔科, 合肥 230601

作者简介: 陈百顺, 男, 硕士研究生;

夏荣, 男, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: xiarongqh@aliyun.com

ment was divided into control group, pertussis toxin (PTX) group, ESI-09 group, JuA group and positive drug group. The effect of different concentrations of JuA on the survival rate of NG2 cells was detected by CCK-8 method, and the expression of IL-1 β , TNF- α , BDNF, cAMP, Epac, Rap1 mRNA and protein in each group was detected by RT-PCR and Western blot. **Results** Compared with the control group, the PTX group decreased the expression of IL-1 β and TNF- α mRNA and protein ($P < 0.01$) and increased the expression of cAMP and BDNF mRNA and protein ($P < 0.01$); the ESI-09 group increased the expression of IL-1 β and TNF- α mRNA and protein ($P < 0.05$) and decreased the expression of BDNF, Epac and Rap1 mRNA and protein expression ($P < 0.01$); the JuA group and positive drug group increased IL-1 β , TNF- α , BDNF, cAMP, Epac, Rap1 mRNA and protein expression ($P < 0.01$). **Conclusion** The cAMP/Epac/Rap1 signaling pathway is involved in the secretion of IL-1 β , TNF- α , and BDNF by NG2 cells. JuA may act on cAMP/Epac/Rap1 signaling pathway to affect the secretion of BDNF by NG2 cells.

Key words NG2 cell; Jujuboside A; cAMP; Epac; Rap1

赛多利斯科学仪器有限公司), GeminiSEM500 扫描电子显微镜(德国卡尔·蔡司公司), 恒温磁力搅拌仪(JB-2010, 金坛市杰瑞尔电器有限公司), KH-100DB 超声波清洗仪(江苏昆山禾创仪器公司), pH 测试仪(TP110, 北京时代新维测控设备有限公司), Er, Cr: YSGG 激光(美国 Biolase 公司), CPD300CO2 临界点干燥仪(德国徕卡仪器有限公司), UNHT 纳米压痕仪(奥地利安东帕有限公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 牙本质样本的制备 选取刚拔出的人类健康第三恒磨牙, 除去附着的牙石、牙龈软组织、血液, 置于 100 ml 5.25% 次氯酸钠溶液中, 消毒 10 min, 生理盐水反复冲洗。使用牙科快速手机, 在水冷作用下, 磨除牙齿殆面牙釉质并继续磨除, 以确定完全磨除殆面牙釉质, 无釉质残留, 牙本质完全暴露, 在牙髓上方将其截断, 获取 1 mm 左右的薄片, 继续磨除四周邻面的牙釉质, 获得最终的 1 mm 厚度左右的牙本质薄片, 然后以此使用 800、1 000、1 500、2 000 目 SiC 抛光砂纸抛光, 使其形成相对平整的表面, 无明显高低凸起, 为随后的扫描电子显微镜观察做准备, 将来自于同一颗牙齿的牙本质切片平均切割成多个长条状牙本质样本, 分别作为空白对照组和实验组, 做好标记, 将牙本质切片置于去离子水超声波清洗仪中, 清洗 30 min, 放置在生理盐水中, 加入 NaN_3 抑制细菌, 密封置于 4 °C 冰箱保存。

1.4.2 制备脱矿标本 称取 EDTA(相对分子质量 292.24), 加入去离子水中, NaOH 调节 pH 至 8.0, 制备出 0.5 mol/L (pH = 8) 的脱矿液, 将牙本质切片浸泡其中 30 min, 取出后用无菌生理盐水反复冲洗, 胃蛋白酶消化。将 0.05% (w/v) 胃蛋白酶溶于 0.5 mol/L 乙酸溶液制成消化液, 将牙本质切片放入消化液中 37 °C 消化 48 h, 去离子水清洗, 5.25% 次氯酸钠消毒, 生理盐水冲洗, 置于无菌生理盐水中 4 °C 保存, 加入 NaN_3 防止细菌滋生。

1.4.3 制备矿化液 取无水 CaCl_2 配制 500 ml 20 mmol/L 的钙离子溶液, 加入 0.8 mg PASP; 取 Na_2HPO_4 配制出 500 ml 12 mmol/L 的含磷溶液; 向磷溶液中缓慢滴定钙溶液, 磁力搅拌器 37 °C 恒温匀速搅拌, 防止沉淀, 滴定完成后, Tris 调节 pH 值至 6.5 ~ 7.0, 滤膜过滤, 得到钙离子浓度为 10 mmol/L, 磷离子浓度为 6 mmol/L 矿化溶液, 加入 NaN_3 防止细菌滋生, 密封储存。

1.4.4 使用来自同一个牙齿的牙本质切片分组

实验组 A: 使用来自同一颗牙齿的牙本质切片, 浸泡

于矿化液中 10 min, 不使用 Er, Cr: YSGG 照射。实验组 B: 构造一个激光辅助矿化的装置, 将牙本质切片置于矿化液中, 浸没于水面下约 1 mm, Er, Cr: YSGG 使用硬组织模式, MZ4 光纤头, 垂直于牙本质切片照射 1 min, 冷却 1 min, 更换新的矿化液, 继续此过程, 一共照射 5 次, 激光处理与冷却浸泡共计处理 10 min。空白对照组 C: 脱矿的牙本质标本。预实验组 D: 使用来自同一颗牙齿的牙本质切片, 将牙本质切片置于生理盐水, 浸没于水面下约 1 mm, Er, Cr: YSGG 使用硬组织模式, MZ4 光纤头, 垂直于牙本质切片照射 1 min, 冷却 1 min, 更换新的生理盐水, 继续此过程, 一共照射 5 次, 激光处理与冷却浸泡共计处理 10 min。

1.4.5 SEM 电镜检测与 EDSX 射线能谱分析 牙本质切片用电镜固定液固定 2 h, 去离子水反复冲洗, 梯度乙醇溶液处理, 结束后使用 CO_2 临界点干燥仪干燥。将干燥后的标本密封保存。选取几组标本, 利用液氮使其脆断后获取纵剖的牙本质切片标本, 挑选出横截面与纵剖面比较平缓无明显高低落差的标本, 真空喷金。

1.4.6 维氏显微硬度检测牙本质标本表面显微硬度 来源于同一颗牙齿的标本选取 2 个, 其中一个在脱矿实验后直接进行硬度测试, 其作为对照组, 结果记为 H0, 另一个样本进行不同方法处理(直接使用矿化液处理, 使用 Er, Cr: YSGG 激光 + 矿化液处理)后进行硬度测试, 结果记为 H1, 从实验组 A 与实验组 B 中分别随机选取 10 个样本, 使用纳米压痕仪进行硬度测量, 每个样本上选取 9 个点测量硬度值, 最后以这 9 个数值的平均值作为此样本的最终硬度。

1.5 统计学处理 使用 SPSS Statistics 进行统计分析, 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 配对样本的 *t* 检验对各组的结果进行分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同处理方法的牙本质标本表面的 SEM 检测结果 SEM 检测结果显示: 空白对照组 C, 脱矿后的牙本质羟基磷灰石晶体消失, 胶原纤维网暴露(图 1A); 实验组 D, Er, Cr: YSGG + 生理盐水处理(图 1B), 与未经任何处理的脱矿牙本质空白对照组相比, 无明显变化, 牙本质小管空虚, 无新矿物质生成, 与脱矿后的牙本质标本无明显差异, 表明 Er, Cr: YSGG 处理未对实验标本产生影响; 实验组 A,

仅矿化液处理相同时间(图1C),牙本质小管无明显变化,胶原纤维暴露,未见新的矿物质沉积;实验组B,Er,Cr:YSGG+矿化液处理(图1D),可见牙本质小管内有新的物质沉积,覆盖于胶原纤维上,小管直径缩小;通过扫描电镜放大3000倍观察实验组B,Er,Cr:YSGG+矿化液处理(图1E)可以发现视野内的大部分牙本质小管内均有新矿物质生成;通过扫描电镜放大3000倍观察Er,Cr:YSGG+生理盐水组(图1F),与激光矿化液组相比,小管内空虚,可见胶原纤维痕迹。

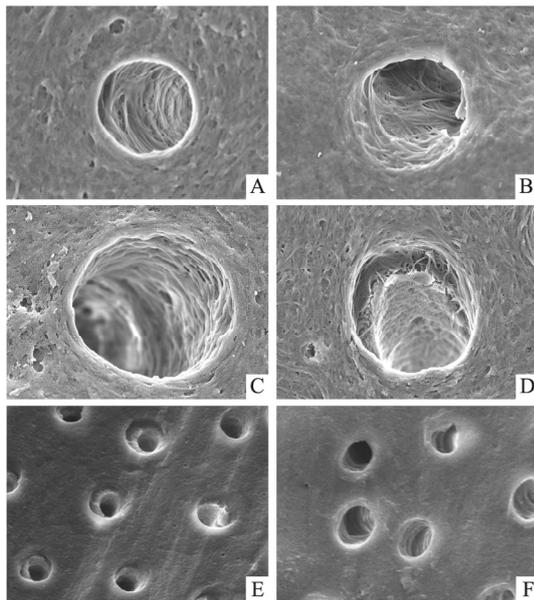


图1 牙本质标本表面的SEM图

A: 脱矿后的牙本质 ×12 000; B: Er,Cr:YSGG+生理盐水处理 ×12 000; C: 矿化液处理 ×12 000; D: Er,Cr:YSGG+矿化液处理 ×12 000; E: Er,Cr:YSGG+矿化液处理 ×3 000; F: Er,Cr:YSGG+生理盐水处理 ×3 000

2.2 不同处理方法的牙本质标本纵剖面的SEM检测结果 仅矿化液处理,牙本质小管开放,小管内干净通透,胶原纤维网暴露,无其他物质沉积(图2A);Er,Cr:YSGG+矿化液处理后的牙本质标本纵剖面,SEM检测可见小管内有新的物质沉积,部分堵塞牙本质小管,小管直径缩小,沉积物集中于靠近牙本质表面,小管深处未见明显矿物质生成,可能由于Er,Cr:YSGG激光渗透深度有限,未能有效渗透深层牙本质(图2B)。

2.3 不同处理方法的牙本质标本X射线能谱分析结果 仅矿化液处理,牙本质标本表面羟基磷灰石晶体去除,主要为胶原纤维,表面钙磷元素均匀分布,牙本质小管与牙本质表面无明显差异(图3A、3C);Er,Cr:YSGG+矿化液处理后的标本,钙磷元

素大量沉积于牙本质小管,钙磷元素远多于实验组A,表明经Er,Cr:YSGG+矿化液处理后,有新的矿物质沉积,小管内钙磷元素浓度远大于牙本质表面,相比较于牙本质表面,小管内富集更多钙磷元素,小管内形成更多的矿物质沉积(图3B、3D)。

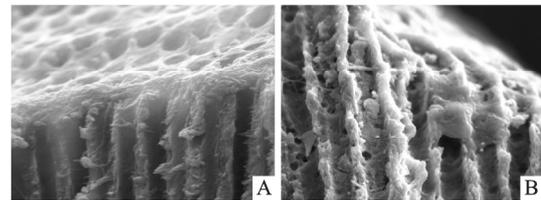


图2 牙本质标本纵剖面的SEM图

A: 仅矿化液处理 ×3 000; B: Er,Cr:YSGG+矿化液处理后 ×3 000

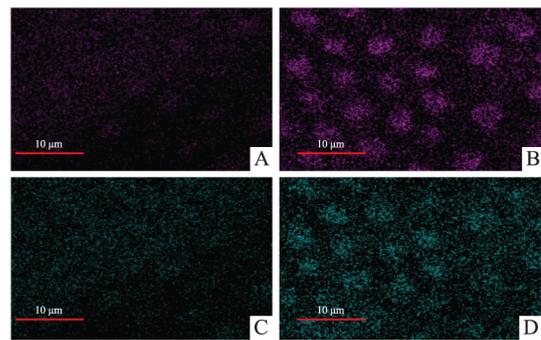


图3 牙本质标本的X射线能谱图 ×3000

A: 实验组A钙元素分布; B: 实验组B钙元素分布; C: 实验组A磷元素分布; D: 实验组B磷元素分布

2.4 维氏硬度测试结果及统计学分析 实验结果数据统计采用配对样本t检验,比较组A、C,差异无统计学意义($t = 1.234, P = 0.248$),表明仅矿化液处理前后,样本无明显硬度变化。比较实验组B、C,差异有统计学意义($t = 3.361, P < 0.0001$),表明Er,Cr:YSGG激光+矿化液处理后,样本硬度明显增加,提示样本上有新的矿物质生成,脱矿牙本质产生了再矿化。对实验组A、B中的H0数值进行独立样本的t检验,差异无统计学意义($t = 0.645, P = 0.527$),表明实验组A、B间的H0样本没有差异,即实验组的标本间没有差异。对实验组A、B中的H1-H0数值进行独立样本的t检验,差异有统计学意义($t = 11.645, P < 0.0001$),表明相较于仅矿化液处理,Er,Cr:YSGG激光+矿化液处理后的牙本质标本硬度显著增加(表1)。

表1 各组实验前后牙本质表面显微硬度($\bar{x} \pm s, \text{MPa}$)

组别	H0	H1	P值
实验组A	21.59 ± 1.60	22.07 ± 1.72	0.248 0
实验组B	23.40 ± 1.70	34.80 ± 2.11	<0.0001

3 讨论

牙本质由 70% 矿物质羟基磷灰石、20% 有机物和 10% 的水组成^[4], 牙本质的仿生矿化可以使脱矿的牙本质再矿化^[5], 是治疗牙本质过敏症的可行方法。通过再矿化在胶原纤维上沉积新的矿物晶体, 封闭牙本质小管从而治疗牙本质过敏症^[6], 同时, 仿生矿化可以使粘接修复术中未能与树脂完全结合而暴露的胶原纤维继续矿化, 为治疗微渗漏, 提高树脂粘接术的成功率和延长期疗效提供了一种新的治疗方法。目前牙本质的仿生矿化多局限于实验室试验阶段, 常见的仿生矿化周期较长, 需要几周至数月, 这大大限制了仿生矿化的治疗方法应用于临床治疗, 也有实验通过电场辅助将次过程缩短至几个小时^[7]。

已有学者实验通过激光照射, 辅助人类牙釉质的类釉质再生, 利用激光的能量, 在矿化溶液中, 加速磷灰石晶体的生成, 沉积于人类牙釉质上^[8-9]。

目前普遍认为, I 型胶原和非胶原蛋白及其类似物是参与矿化的最主要成分^[10], 研究表明单独胶原本身无法诱导羟基磷灰石晶体的形成, 但是它的结构可以作为矿物质的支架并指导羟基磷灰石晶体的自组装和生长, 为了建立脱矿胶原纤维的模型, 本实验选用人类健康第三磨牙, 除去牙釉质及牙骨质剩下牙本质, 再脱矿除去羟基磷灰石晶体, 建立胶原纤维模型。酸蚀法是目前最常用的脱矿方法, 使用不同浓度的磷酸处理不同的时间均可以达到脱矿目的, EDTA 不同于先前使用的酸蚀剂, 例如甲酸/甲酸钠, 磷酸和盐酸, EDTA 通常被认为是有效的金属阳离子螯合剂, 其能够通过络合溶解牙/骨中的矿物质, 同时保持胶原蛋白结构基本完好无损^[11]。有实验表明, 即使骨在 EDTA 中浸泡超过一个月时胶原纤维结构不会发生改变。因此, 本实验采用 EDTA 脱矿, 避免了酸蚀可能使胶原蛋白基质结构发生改变。

基于经典成核理论, 成核速率通常与两个函数有关 $J \propto \exp(-E_A/K_B T) \exp(-\Delta G_{ex}/K_B T)$, 第一个函数与能量 E_A 有关 (K_B : Boltzmann 常数, T : 绝对温度), 第二个函数相关于热力学屏障 ΔG_{ex} , $\Delta G_{ex} = B\alpha^3 \sigma^{-2}$, 其中 B 是与成核物质相关的恒定常数, α 是界面自由能, σ 是过饱和。基于函数一, 温度可以显著改变成核速率^[9], 本实验采用 Er, Cr: YSGG(一种已广泛应用于牙科治疗的激光), Er, Cr: YSGG 激光波长 2 780 nm, 与水和羟基磷灰石晶

体的吸收峰相匹配^[12], 水与羟基磷灰石晶体可以更好地吸收激光的能量, 加快成核的速率。基于函数二, 溶液的过饱和程度也会对成核产生影响, 本实验配置了过饱和的钙磷溶液, 用于矿化过程。本实验采用聚天冬氨酸 (poly aspartic acid, PASP) 作为非胶原蛋白 (non-collagen proteins, NCPs) 类似物, PASP 已被证明是一种优秀的可用于胶原纤维矿化的 NCPs 类似物^[13-14]。

本实验结果表明, 相比于自然矿化, 引入 Er, Cr: YSGG 激光辅助, 可以加快矿化过程, 在相同时间内, 自然矿化组无明显新矿物质生成, 而 Er, Cr: YSGG 激光辅助处理后, 牙本质小管内有明显的新矿物质生成, 覆盖于小管内壁, 小管直径缩小, 表明与自然矿化相比, 在相同时间内, Er, Cr: YSGG 激光辅助胶原纤维矿化可以形成更多的钙磷矿物质沉积并缩小牙本质小管直径, 为临床治疗过程中树脂粘接修复术暴露胶原纤维的再矿化与治疗牙本质过敏症提供了一种新的可能。本研究结果新形成的矿物质未能将牙本质小管完全封闭, 可能原因是激光处理时间尚短, 未能形成足够的矿物质沉积。下一步将改变不同激光参数、照射时间, 以及选用不同激光、不同 NCPs 类似物继续研究, 期望可以探索出更为有效的治疗方法, 使此项治疗方法早日应用于临床治疗。

参考文献

- [1] Bourgi R, Daoud U, Bijle M N, et al. Reinforced universal adhesive by ribose crosslinker: A novel strategy in adhesive dentistry [J]. *Polymers*, 2021, 13(5): 704-10.
- [2] 汤皓, 朱亚文, 朱家祥, 等. 三斜磷钙石糊剂封闭牙本质小管的体外研究 [J]. *华西口腔医学杂志*, 2021, 39(6): 667-74.
- [3] Wang Q, Wang S, Zhao T, et al. Biomimetic oligopeptide formed enamel-like tissue and dentin tubule occlusion via mineralization for dentin hypersensitivity treatment [J]. *J Appl Biomater Func*, 2021, 19: 58823269.
- [4] Qin H, Long J, Zhou J, et al. Use of phosphorylated PAMAM and carboxylated PAMAM to induce dentin biomimetic remineralization and dentinal tubule occlusion [J]. *Dent Mater J*, 2021, 40(3): 800-7.
- [5] 张胜楠, 唐旭炎, 李全利. 牙体粘接剂在模拟体液中诱导生成磷灰石晶体 [J]. *安徽医科大学学报*, 2008, 43(6): 667-9.
- [6] 岳阳丽, 贺贵天, 刘翠丽, 等. 不同生物活性玻璃对脱矿牙本质再矿化作用的比较研究 [J]. *中国实用口腔科杂志*, 2022, 15(2): 173-8.
- [7] Wu X T, Mei M L, Li Q L, et al. A direct electric field-aided

(下转第 279 页)

treated with different concentrations of bufalin for 48 hours, cell apoptosis was detected by Annexin V/PI assay, and the expression of apoptosis-related proteins Bax and Bcl-2 was detected by Western blot. At the same time, the expression of ERS-related proteins glucose regulated protein 78 (GRP78), phosphorylated protein kinase R like endoplasmic reticulum kinase (p-PERK), eukaryotic translation initiation factor 2 α (eIF2 α), phosphorylated eukaryotic translation initiation factor 2 α (p-eIF2 α) and C/EBP homologous protein (CHOP) was detected by Western blot. HCT116 cells were divided into control group, bufalin group and combination group (bufalin + 4-phenylbutyric acid), and the expression of apoptosis-related proteins Bax and Bcl-2 was observed by Western blot. **Results** CCK-8 assay showed that bufalin could inhibit the proliferation of HCT116 cells. Apoptosis assay showed that bufalin could induce apoptosis of HCT116 cells. The results of Western blot showed that bufalin could up-regulate the expression of pro-apoptotic protein Bax and down-regulate the expression of anti-apoptotic protein Bcl-2. It could also induce ERS and activate PERK/eIF2 α /CHOP pathway. When bufalin combined with 4-phenylbutyric acid, the apoptosis-promoting effect of bufalin was inhibited. **Conclusion** Bufalin can effectively inhibit the proliferative activity and induce apoptosis of HCT116, which is achieved to some extent by activating ERS.

Key words bufalin; endoplasmic reticulum stress; cell apoptosis; colorectal cancer

(上接第 273 页)

biomimetic mineralization system for inducing the remineralization of dentin collagen matrix [J]. *Materials* (Basel, Switzerland), 2015, 8(11): 7889–99.

- [8] Anastasiou A D, Strafford S, Thomson C L, et al. Exogenous mineralization of hard tissues using photo-absorptive minerals and femto-second lasers; the case of dental enamel [J]. *Acta Biomater*, 2018, 71: 86–95.
- [9] Sun M, Wu N, Chen H. Laser-assisted rapid mineralization of human tooth enamel [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9611.
- [10] Han M, Li Q L, Cao Y, et al. *In vivo* remineralization of dentin using an agarose hydrogel biomimetic mineralization system [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 41955.

[11] Thula T T, Rodriguez D E, Lee M H, et al. *In vitro* mineralization of dense collagen substrates: a biomimetic approach toward the development of bone-graft materials [J]. *Acta Biomater*, 2011, 7(8): 3158–69.

- [12] 余金兰, 夏荣, 刘春, 等. Er, Cr: YSGG 激光清除 SLA 钛表面牙龈卟啉单胞菌生物膜 [J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(10): 1531–4.
- [13] Qi Y, Ye Z, Fok A, et al. Effects of molecular weight and concentration of poly(acrylic acid) on biomimetic mineralization of collagen [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2018, 4(8): 2758–66.
- [14] Zhou Z, Zhang L, Li J, et al. Polyelectrolyte-calcium complexes as a pre-precursor induce biomimetic mineralization of collagen [J]. *Nanoscale*, 2021, 13(2): 953–67.

Er, Cr: YSGG laser accelerated dentin mineralization

Chen Baishun, Xia Rong, Yu Jinlan

(Dept of Stomatology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract Objective To study the effect of Er, Cr: YSGG laser on the mineralization of dentin collagen fiber, accelerate the mineralization process and shorten the mineralization time. **Methods** Human health third molars were selected to remove the teeth of the tooth enamel, degenerate the teeth, leave the dentin collagen fiber web, place the degenerative collagen fiber in the configured re-mineral fluid. Using Er, Cr: YSGG, the teeth before and after the test were used to analyze the surface morphology using SEM scanning electron microscopy, and the EDS X-ray energy spectrum was analyzed by the distribution of calcium phosphorus. **Results** Er, Cr: YSGG laser irradiation laser irradiated tooth in the teeth, new minerals were generated, which covered the inner wall of the teeth, the calcium phosphorus element was enriched in the inner wall of the teeth. **Conclusion** YSGG laser can help dentin collagen fibers mineralized in mineralization fluid, form new minerals. This method can shorten the mineralization time of dentin collagen fibers in mineralization fluid, which is the re-ore.

Key words Er, Cr: YSGG; dentin; collagen fiber; mineralization