



牙菌斑生物膜的形成与控制

乌日汉^{1,2}, 郭小娟^{1,3*}, 王怡³, 王金锋², 赵方庆^{2*}

¹内蒙古医科大学公共卫生学院, 内蒙古 呼和浩特 010110

²中国科学院北京生命科学研究院, 北京 100101

³温州医科大学公共卫生与管理学院, 浙江 温州 325035

摘要: 牙菌斑生物膜是附着于牙釉质表面, 由复杂的微生物群落构成的一种聚集体。牙菌斑生物膜的形成与生长对口腔健康有着直接或间接的影响, 许多研究证实口腔疾病如龋齿和牙周病都与细菌的积累及牙菌斑的形成有关。在牙菌斑生物膜形态建成过程中, 牙齿表面最初的定殖菌对生物膜的微生物组成和结构至关重要, 这些初级定殖菌决定了后续与之结合形成共生体的微生物种类和数量。不同的微生物组成可能在与生物膜形成相关的口腔病理状况中发挥不同的作用。因此, 本文就牙菌斑生物膜的生长及控制进行综述, 介绍其微生物的早期定殖和成熟过程、以及通过物理和化学方法对牙菌斑生物膜的控制, 以期了解牙菌斑生物膜的形成机制及相关口腔疾病的预防和治疗提供有价值的参考。

关键词: 微生物, 牙菌斑, 生物膜, 龋病, 牙周病

微生物广泛存在于自然界及人体、动植物共生环境中。在许多条件下, 一种或多种不同的微生物之间会形成复杂而有序的聚集体——生物膜。生物膜及其微生物群落组成对于医学和人体健康而言具有很高的研究价值, 研究发现生物膜的形成和发展与许多疾病密切相关, 而人体中最常见的生物膜结构则是牙菌斑, 牙菌斑是粘附于牙齿表面的复杂细菌群落, 嵌入宿主和微生物来源的聚合物基质中形成的细菌性生物膜^[1]。牙菌斑

生物膜对口腔菌群的生存及致病性方面都发挥重要作用^[2]。因此, 研究牙菌斑生物膜的形成和控制对预防及治疗牙菌斑生物膜相关疾病有着重要的意义。

1 牙菌斑生物膜的形成

1.1 早期牙菌斑生物膜的形成

牙齿表面早期定殖的细菌对牙菌斑的形成和

基金项目: 中国科学院重点部署项目(KFZD-SW-219)

*通信作者。赵方庆, Tel: +86-10-84504172, Fax: +86-10-64880586, E-mail: zhfq@biols.ac.cn; 郭小娟, Tel: +86-577-86699828, E-mail: gxj@wmu.edu.cn

收稿日期: 2018-05-03; 修回日期: 2018-07-03; 网络出版日期: 2018-07-20

发展至关重要, 进而在与口腔生物膜形成相关的病理状况中发挥巨大的作用。牙获得性膜是在牙齿进行专业清洁后几分钟内附着在牙齿表面上的唾液蛋白薄膜层, 厚度约有几微米, 通过选择性吸附富脯蛋白、富酪蛋白等唾液蛋白形成^[3]。口腔细菌通过特定的分子相互作用附着到已成型的牙获得性膜上, 形成细菌生物膜的最初形态^[4]。牙菌斑生物膜形成模式图如图 1 所示。

早期定殖的第一批微生物被称为初级定殖菌, 这些细菌通过与牙获得性膜成分的特异性或非特异性吸附来实现定殖^[5]。基于培养技术获得的早期生物膜微生物物种组成显示, 链球菌(*Streptococcus*)、奈瑟氏菌(*Neisseria*)和罗氏菌(*Rothia*)是主要的初级定殖菌, 其中链球菌表达粘附素识别已成型的牙获得性膜中蛋白质上的受体^[6]。另有研究证明, 在牙齿表面上定殖的初始细菌是链球菌和革兰氏阳性杆菌, 例如内氏放线菌

(*Actinomyces naeslundii*)。在斑块形成的前 4 h 内, 轻型链球菌(*Streptococcus mitis*), 血链球菌(*Streptococcus sanguinis*)和口腔链球菌(*Streptococcus oralis*)占培养链球菌的 60%–90%^[7]。除上述菌属外, 其他细菌也可以从早期牙菌斑中检测出, 显微镜显示早期斑块含有球菌和短棒状菌^[8]。另有报道说明, 早期还包括黄褐二氧化碳嗜纤维菌(*Capnocytophaga ochracea*)、牙龈二氧化碳嗜纤维菌(*Capnocytophaga gingivalis*)、嗜二氧化碳噬细胞菌(*Capnocytophaga sputigena*)、痤疮丙酸杆菌(*Propionibacterium acnes*)、副流感嗜血杆菌(*Haemophilus parainfluenzae*)、洛氏普雷沃菌(*Prevotella loescheii*)、栖牙普雷沃菌(*Prevotella denticola*)、韦永氏球菌属(*Veillonella* spp.)、侵蚀艾肯菌(*Eikenella corrodens*)、牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)等物种定殖于牙菌斑中^[9], 其中, 洛氏普雷沃菌和牙龈卟啉单胞菌为牙周

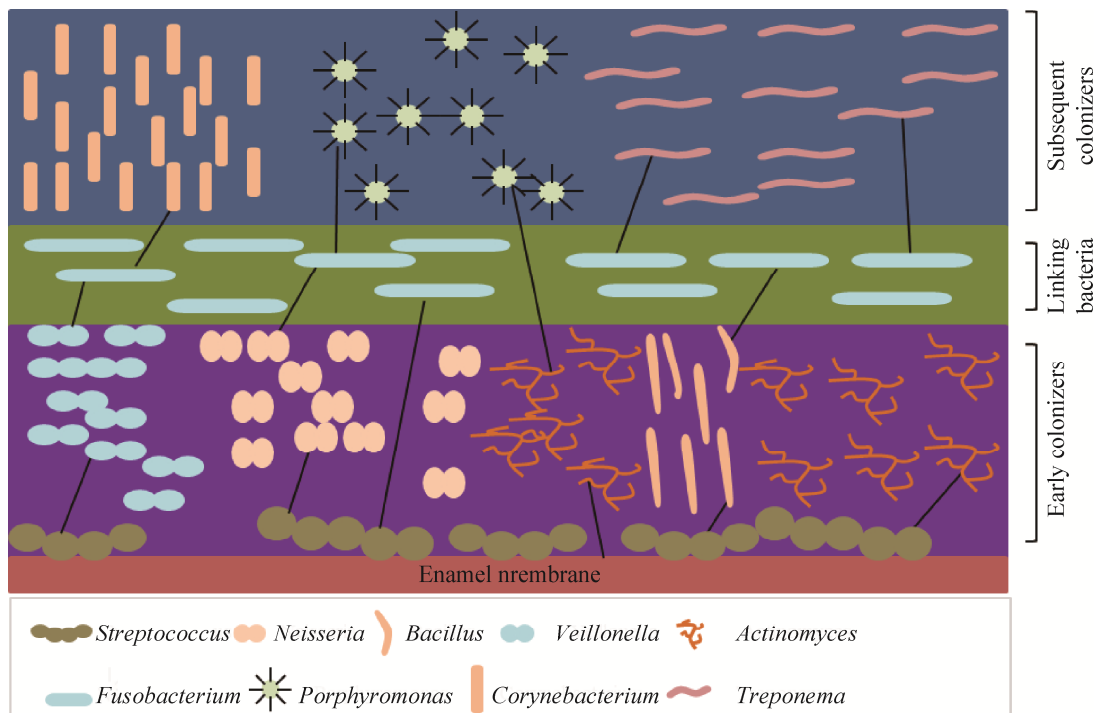


图 1. 牙获得性膜形成模式图

Figure 1. A schematic view of enamel surface bacterial colonization.

致病菌,说明口腔早期生物膜为口腔致病菌提供了适宜的生存环境。在 Heller 等^[4]的研究中同样证明,生物膜形成过程中,物种丰度较高的有链球菌、放线菌、副流感嗜血杆菌、溶血孪生球菌(*Gemella haemolysans*)、血链球菌、斯莱克氏菌(*Slackia exigua*)、龋齿罗氏菌(*Rothia dentocariosa*)和粘液罗氏菌(*Rothia mucilaginosa*),还包括有核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*)、牙周粘杆菌(*Fusobacterium periodontium*)和微小微单胞菌(*Parvimonas micra*),也发现存在于牙齿早期生物膜中(核梭杆菌和微小微单胞菌是致病菌)。胡丹阳等^[2]报道称,早期生物膜的吸附仍以链球菌为主,逐渐有丝状菌、杆状菌、放线菌和韦荣氏菌等吸附于获得性膜上。因此,对于预防和控制口腔疾病而言,及时获取有害细菌定殖牙齿表面的时间点极为重要,可以在致病菌定殖之前加以阻止。

随着分子生物学技术的发展,特别是新一代高通量测序技术在微生物组学研究中的应用,虽然对早期生物膜的组成和微生物多样性的探索取得了一些进展,但多数集中在单一时间点的研究,而缺少从细菌初始定殖到生物膜发育成熟的动态跟踪,未揭示细菌开始附着并形成生物膜的早期过程。

1.2 牙菌斑生物膜的成熟过程

探索成熟牙菌斑的构成,以及牙菌斑微生物中细菌从初始定殖到完全成熟的发生模式、生物膜微生物之间的相互作用机制至关重要。电子显微镜观察发现,牙菌斑生物膜包括细胞外基质、囊泡和开方的小管结构^[10],柱形小管上多为革兰氏阳性球菌,1 d 后会有细丝分枝出现,1 周后丝状分枝会出现在柱形小管的顶部,3 周后发现球菌消失,生物膜变成丝状,在成熟牙菌斑生物膜中,

丝状菌占主导地位^[11]。有人用组合标记光谱成像方法(经改进的荧光原位杂交技术)测定到了牙菌斑中 15 种菌属在空间上的关联性,并发现放线菌和普雷沃氏菌属在维持和建立生物膜复杂性方面起重要作用^[12]。

成熟斑块的表面含有更多形态类型的细菌,其共聚形成复杂的结构,形如“玉米芯(corn cobs)”^[13],研究表明该结构是由链球菌和白色念珠菌(*Candida albicans*)构成^[11]。细菌聚集在一起形成固定的微菌落,其在较窄的牙龈部聚集。聚集的结果是形成了不同形状细菌彼此相连的复杂阵列。若长时间不受剧烈干扰,菌斑形成,牙龈边缘变得发炎和肿大。这些炎性变化将导致牙龈深部增加,生物膜延伸到龈下区域并在该环境下繁殖,形成成熟的龈下菌斑生物膜。龈下细菌微菌落主要由革兰氏阴性厌氧菌组成,在龈上斑块形成后的 3 至 12 周之间,龈下菌斑在牙龈沟中形成。生物膜中的微生物在牙菌斑成熟过程中并非恒定不变,它们的相对比例显示有变化的趋势^[14]。这些变化取决于细菌相互作用以及宿主因素,这些因素都会对随后的结构发展和生物效应产生影响^[15]。随着牙菌斑的成熟,兼性和厌氧丝状属(如放线菌属)、棒状杆菌属、梭杆菌属和韦荣氏菌属的比例逐渐增加^[16]。

通过洁牙后的跟踪观察来研究牙菌斑的重建过程,人们发现龈上和龈下生物膜细菌种类的恢复有明确的次序。龈上洁治 1 d 后,链球菌和奈瑟菌的相对比例增加;在 1–4 d 时,嗜二氧化碳噬细胞菌、侵蚀艾肯菌、韦荣氏球菌和口腔链球菌的丰度有所增加,在 4–7 d 时,直肠弯曲杆菌(*Campylobacter rectus*),弯曲杆菌(*Campylobacter showae*)、产黑普雷沃氏菌(*Prevotella melaninogenica*)和变黑普雷沃氏菌(*Prevotella nigrescens*)丰度升高,龈下菌斑重建与

龈上菌斑有很大不同: 首先观察到链球菌的比例增加, 其次是韦荣氏球菌(*Veillonella parvula*)和牙龈卟啉单胞菌; 在第 7 天时, 嗜二氧化碳噬细胞菌和普氏菌产生, 这些发现为揭示时间梯度下的微生物生长模式奠定了基础^[17]。

1.3 牙菌斑生物膜与口腔疾病

牙菌斑生物膜由大量微生物组成形成复杂的微生物生态系统^[18], 这些微生物在物种间或物种内部相互作用^[19]维持原有环境生态系统的平衡。健康状态下, 菌群的正常活动并不会对机体造成损害, 但在某些特殊条件下(如局部 pH 改变)细菌附着到牙釉质上, 在多种致病因素的驱使下周围环境开始改变, 有害细菌开始对牙齿周围组织造成侵害, 从而导致口腔疾病的发生。研究显示, 专业祛除牙菌斑后, 牙菌斑生物膜的再次附着非常迅速, 在很短的时间内牙菌斑就趋于成熟, 微生物又重新聚集, 造成许多口腔疾病难以治愈^[4]。

龋病是人类易患的一种口腔疾病, 如不及时治疗, 病变严重时会导致牙齿丧失。它是一种多因素引起的慢性疾病, 主要是覆盖在牙齿表面的生物膜内的微生物生态失衡引发的, 从复杂的生物膜内的微生物相互作用开始, 同时受唾液流、唾液组成、是否暴露于氟化物、饮食糖的消耗以及预防行为(清洁牙齿)的影响。龋病的发病机制大都相似, 内源性细菌如变形链球菌(*Streptococcus mutans*)和远缘链球菌(*Streptococcus sobrinus*)是主要致龋菌^[20]。也有研究显示, 龋病的发生可能与韦荣氏菌、奈瑟菌属、拟杆菌(*Bacteroides*)、红棕色单胞菌(*Aeromonas salmonicida*)、昭和弯曲杆菌(*Campylobacter sputorum*)和戈登链球菌有关。这些细菌在生物膜中产生作为可发酵碳水化合物代谢副产物的弱有机酸, 会导致局部 pH 值降至临界值以下, 引起牙齿脱矿而发生龋病^[21]。

另一种较为常见的口腔疾病为牙周病, 也是造成成人牙齿缺失的主要原因之一^[22]。近年来我国成人牙周炎的发病率在逐渐升高, 如不及时治疗, 任病情发展, 严重者会影响到患者咀嚼、发声等^[23]。治愈牙周炎并抑制牙菌斑生物膜中致病菌的再次生长问题亟待解决。由于细菌是牙周病的主要病原体, 在牙菌斑中发现了超过 500 多种细菌菌株^[24], 其中牙周炎致病菌主要包括以下几种: 伴放线放线杆菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)、牙龈卟啉单胞菌、黏性放线菌(*Actinomyces viscosus*)、中间普氏菌(*Prevotella intermedium*)、具核梭杆菌、齿垢密螺旋体(*Treponema denticola*)、福塞坦纳菌(*Tannerella forsythia*)^[25]。这些细菌可以在牙齿表面、牙龈上皮和口腔环境中存活, 并且逐渐形成一种结构复杂的牙菌斑生物膜。微生物在牙龈周围积聚导致炎症发生, 促使龈沟液增多, 龈沟液不仅可以传递宿主的防御成分(如免疫球蛋白、补体、嗜中性粒细胞等)^[26], 而且也能传递可以作为蛋白水解细菌底物的分子, 这些分子含有例如触珠蛋白、血红素结合蛋白、血红蛋白等牙周病原体如牙龈卟啉单胞菌生长的主要辅助因子^[27]。与炎症相关的局部环境变化改变龈下菌斑微生物之间的相互作用的结果, 将导致生物膜的微生物组成的显著变化, 一些牙周病原体如牙龈卟啉单胞菌可以降解补体, 干扰中性粒细胞功能和阻断吞噬作用^[28], 因此, 能够在炎症发生环境中生存的物种将会大量繁殖^[29]。环境的改变可以促使微生物群落中牙龈卟啉单胞菌等物种基因表达的改变并增加它们的竞争力^[30], 由此牙周致病菌逐步成为生物膜中的优势菌, 引起病变。

口腔微生物具有黏附其他微生物的趋势, 并且这一粘附过程促使生物膜形成^[31], 除此之外, 共黏附作用还促进微生物之间的营养物质的共享及争夺、食物链的形成、基因转移和细胞与细胞间

信号传导等作用机制^[29]。当细胞彼此靠近或接触时,基因表达会发生变化^[32],同时可能导致功能上的改变,例如相邻好氧或耐氧菌物种会保护好氧环境中的专性厌氧细菌^[33]。白色念珠菌可以与口腔链球菌共聚集,并且形成协同关系,念珠菌促进链球菌生物膜形成,而链球菌增强念珠菌的侵入性质^[34]。许多研究涉及到物种间竞争的作用,细菌素、过氧化氢、有机酸、酶以及释放裂解性噬菌体等拮抗性化合物的产生,可以在细菌定殖和微生物间竞争时赋予微生物竞争优势,从而导致许多口腔疾病难以治愈。由此来看,控制牙菌斑生物膜、抑制致病菌成为优势菌成为亟待攻克的难题之一。

2 牙菌斑生物膜的控制

2.1 控制牙菌斑的常规方法

目前控制牙菌斑病的主要方法是尽可能多地去除牙菌斑,用氟化物(表 1)保护牙釉质^[35]。临床

相关研究发现生物膜中的微生物对抗生素和抗菌剂的抗性明显高于游离态微生物^[36]。在牙菌斑中生长的细菌也表现出对抗菌剂更强的抗性,例如,当远缘链球菌在生物膜中生长时,与游离态相比,氯己定和氟化氢铵对其最低杀菌浓度需要分别提高 300 和 75 倍,类似地,施用 15–50 倍的氯己定,才能在 24 h 内消除血链球菌生物膜^[37]。生物膜的生长期也是决定清理效果的一个重要因素,较晚的生物膜(72 h)与较早的生物膜(24 h)相比,其血清丝氨酸对抗菌剂更耐受^[38]。共聚焦显微成像显示氯己定仅对自然形成 24–48 h 的菌斑生物膜的外层微生物有效^[39]。口腔细菌的生物膜对抗生素(如阿莫西林,多西环素,甲硝唑)也有更高的耐药性^[40]。生物膜对抗生素和抗菌剂的抗性机制包括:粘液层可以防止药物完全渗入生物膜;细菌可通过产生较厚的保护性粘液层产生对抗菌药物的抗性;粘液层可以保护细菌免受白细胞(身体免疫系统的防御细胞)的干扰。

表 1. 治疗牙周炎的临床方法

Table 1. Clinical treatment of periodontitis

Methods	Description	Literature sources
Periodontal surgery	The main method for treating periodontitis, divided into supragingival plaque and subgingival plaque scaling.	[5]
Chlorhexidine	Used for the treatment of oral infections, disinfection of wounds, etc., but it is irritating and can cause harm to human tissues.	[37,39]
Ammonium hydrogen fluoride	Disinfectants and bacterial inhibitors	[37]
Amoxicillin	Dissolves bacteria and exerts bactericidal action	[40]
Doxycycline	It has a bactericidal effect and is superior to gram-negative bacteria to gram-positive bacteria; the drug may cause adverse reactions to the gastrointestinal tract.	[40]
Metronidazole	Mainly used for local infections caused by anaerobic bacteria; the drug causes adverse reactions to the digestive tract.	[43]
Waterlaser	The most popular treatment technology for dentists worldwide	[52]
Nano drug loading technology	Nanotechnology is more effective in the treatment of dental caries and periodontitis, and it has broad application prospects.	[54]
Phage	Bacteriophage can cause host bacterial lysis, and can be used to detect and control pathogens.	[49]
<i>Bdellovibrio</i>	<i>Bdellovibrio</i> is parasitic on bacteria and can cause bacterial cracking of host bacteria, which can control pathogenic bacteria.	[47]
Implant probiotics	Probiotics, such as <i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , can effectively reduce the caries and gingivitis index.	[49–50]

由于牙菌斑是引起牙周炎发生和加重的重要因素^[41], 所以对牙周炎的治疗不能单以改善临床症状为主, 控制牙菌斑形成也成为治疗的重要组成部分^[42]。仅依靠抗生素或抗菌治疗通常无法有效清理生物膜, 而通过简单的物理清除方法却能够破坏其附着, 清除生物膜。但由于生物膜的结构, 牙周袋内的龈下菌斑无法通过牙刷、牙线或口腔冲洗达到清理的效果, 因此牙周洁治结合抗生素干预是目前临床治疗牙周炎的主要方式。目前临床上常规治疗方法为洁刮治及根面平整, 通常用甲硝唑等进行药物控制, 但临床调查发现甲硝唑片剂会引起一些服用者胃部不适^[43]。也有研究人员建议使用甲硝唑控释药膜治疗牙周病, 该方法在一定程度上较甲硝唑片剂得到了临床上的认可^[44], 但使用药物的前提仍是进行刮治和根面平整, 最常用的方法有磨除法、药物疗法、再矿化疗法及充填术^[45]。目前常规的控制牙周病及龋病生物膜的方法存在一定的问题, 一方面会使患者不耐受, 另一方面, 从口腔微生态平衡来讲, 频繁的去除牙菌斑只能解决一时的麻烦, 却不能根除病因, 因此临床工作者及研究人员不断研究出新的防治措施以解决患者的痛苦。

2.2 新型治疗方法

除运用常规治疗技术, 辅助治疗方法也在不断更新, 对于牙周病和龋病的治疗, 人们还想到运用微生物间的拮抗原理来抑制致病菌的生长, 对于牙周治疗, 通过将有益的口腔细菌植入处理过的牙周袋以及通过调节机体免疫反应^[49]或使用蛭弧菌(*Bdellovibrio*)^[47]或者噬菌体^[48], 对于龋病预防, 可以利用与变形链球菌有拮抗作用的益生菌物质(如牛奶、酸奶等)^[49]。有研究证明, 利用益生菌治疗牙龈炎和牙周炎是可行的^[50]。

从治疗技术上来讲, 近年来许多新型的牙菌斑生物膜清理技术得到应用, 其中水激光是目前全球牙科医生最为推崇的治疗技术; 水激光是利用 Er, Cr: YSGG 晶体释放出特殊波长(2790 nm)的激光, 激发水分子, 使水分子形成具有高速动能的粒子清除牙菌斑; 利用激光技术治疗龋病和牙周病是目前较为先进的技术之一^[51]。研究表明, 利用激光能明显增强对牙周袋内细菌的杀灭作用, 同时也避免全身应用抗生素而导致的副作用或耐药性的产生^[52]。另外, 利用抗菌药物控制牙菌斑生物膜的研究也在不断推进。有研究发现, 利用纳米载药系统治疗龋病和牙周病技术有待进一步推广, 该技术具有非常广阔的应用前景^[53]。江娅玲等^[54]综述在龋病治疗的研究中, 将常用于治疗龋病的物质如氟己定等用纳米粒子承载, 效果更为持久、稳定, 对变异链球菌的抑制作用更强; 对牙周病而言, 使用载有米诺环素、布洛芬等常用辅助药物的纳米粒子, 也有延长药物作用的效果, 有助于抑制炎症的发生。还有二胺氟化银(SDF)也作为一种新型治疗龋病的方法运用于临床研究^[55]。对于轻中度牙周炎而言, 目前运用光动力疗法辅助根面平整术(SRP)的治疗效果更为显著^[56]。

预防龋病的发生也极为重要, 例如氟化物用以加强牙齿再矿化, 使用密封剂填充牙齿的凹陷和裂缝, 还有运用玻璃离子聚合物(PRG)阻隔涂层材料预防龋齿, 目前在临床上也得以推广^[57]。

3 展望

深入地了解牙菌斑生物膜的早期定殖、成熟过程和群落构成对临床实践具有重大意义。干扰或调节生物膜内微生物活动的交流网络, 或可起

到防止致病菌定殖的作用。对于龋齿口腔疾病,利用变异链球菌的产酸力较低的其他菌株来代替变异链球菌附着到牙釉质上,这些菌株不仅相对无毒(即弱致龋性),而且由于还产生抗变异链球菌的细菌素样抑制活性物质而具有高度竞争性^[53]。

噬菌体(bacteriophage)是一种细菌病毒,具有特异性高、对人体无副作用等优点,目前受到广泛重视。但是,噬菌体是一个独立的生命体,在用作抗菌制剂时的生物安全性受到质疑,并且也会产生抗噬菌体的细菌菌株。因此,研究人员试图利用噬菌体裂解酶(endolysins)进行生物膜控制。噬菌体裂解酶是 dsDNA 噬菌体在感染细菌后期表达的一种水解酶。与噬菌体相比,噬菌体裂解酶作为一种蛋白质大分子能够杀死病原菌而且不易产生耐药性。尽管噬菌体裂解酶在体内可能会产生相应的抗体,但一些实验发现这些抗体对裂解酶的抗菌能力并没有中和作用^[58]。噬菌体裂解酶的优点恰好符合控制牙菌斑生物膜致病菌生长这一要求,并且是在不影响其他微生物(特别是口腔常驻物种和益生菌)生长的前提下。裂解酶在临床应用的安全性和药代动力学特性的实验正在进行,如裂解酶 P128 已经进入临床 II 期实验,测试其对人类鼻腔携带的金黄色葡萄球菌的杀菌效力^[59]。目前,裂解酶作为一种蛋白质的理化性质研究已经成熟,可以对其进行修饰改造,所以噬菌体裂解酶具有成为新型抗菌制剂的潜力。近年来研究者建立的一些动物模型也很好证明了裂解酶的抗菌活性。但是,由于天然裂解酶具有宿主谱窄、不能裂解革兰阴性菌等缺点^[60],而牙周炎成熟牙菌斑中大部分由革兰阴性菌组成,噬菌体裂解酶的特征似乎使其难以用于牙周炎治疗。然而,噬菌体裂解酶作为一种抗菌制剂,在抑制

细菌生长方面有很多优点,如特异性强、裂解能力强、不影响正常菌群、不易产生抗药性、容易获得(噬菌体在自然界的丰度高)、理化性质明确、易于设计改造等,因此可以通过基因工程等手段来增加裂解活性,扩大宿主谱,增加溶解性等。基于噬菌体裂解酶的特征,从修饰改造方面可以使噬菌体裂解酶参与牙菌斑生物膜的控制成为可能,通过修饰改造弥补其不能裂解革兰阴性菌的缺点,运用于牙菌斑生物膜中致病菌的控制。

4 小结

牙齿供给微生物定居的非脱落表面,多种微生物及其副产物在健康和疾病牙齿表面生物膜中积累^[61]。由于细菌附着特异性较强,使得附着的细菌保持粘附于牙齿表面,即便唾液流动、舌头运动和用水冲洗的机械力也不会使其轻易脱落。深入探索牙菌斑生物膜的形成模式以及生物膜的组成和特征将有助于对牙菌斑中有害细菌的进一步了解,为预防和控制口腔疾病提供有价值的信息。口腔环境中细菌种类繁多,且数量宏大。牙菌斑从最初的仅含有几种微生物的状态,随着口腔其他浮游微生物的特异性黏附,逐渐形成拥有多种微生物的生物膜,发展成成熟的生物膜形态。鉴于生物膜微生物的复杂性及多样性,以及早期生物膜中微生物的生物量较低,初级定殖菌及其附着过程的检测存在较大的难度。近年来,高通量测序技术突破了这一难题,通过检测环境样本即可获得该生境下微生物的元基因组,为研究口腔生物膜提供大量的数据信息。

口腔各位点的常驻菌群对宿主维持正常生理状态起关键作用,并通过竞争营养物和生态位、生成抑制因子等方式抵御外源性微生物的定殖,

以形成较为稳定的微环境,降低生物膜过度堆积和病原菌感染的几率^[62-63]。因此,治疗牙菌斑生物膜疾病应尝试控制而非消除整个菌斑微生物群落^[64]。

综上所述,由于牙菌斑生物膜微生物的复杂性及多样性,与之相关的口腔疾病很难治愈。因此,控制生物膜中菌群的生长成为关键所在,从空间和时间上更加准确地了解牙菌斑生物膜的形成模式,对牙菌斑生物膜结构开展深入研究,在致病菌附着的时间点给予阻断,施加相应的有效措施,将减少口腔疾病的发病率,为相关口腔疾病的预防和治疗提供更多的选择。

参考文献

- [1] Costerton B. Microbial ecology comes of age and joins the general ecology community. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(49): 16983–16984.
- [2] Hu DY, Zhang JL, Cui W, Wang CL. Overview of dental plaque biofilm. *Clinical Journal of Medical Officer*, 2016, 44(7): 767–770. (in Chinese)
胡丹阳, 张锦龙, 崔伟, 王成龙. 牙菌斑生物膜概述. *临床军医杂志*, 2016, 44(7): 767–770.
- [3] Saitoh E, Taniguchi M, Ochiai A, Kato T, Imai A, Isemura S. Bioactive peptides hidden in human salivary proteins. *Journal of Oral Biosciences*, 2017, 59(2): 71–79.
- [4] Heller D, Helmerhorst EJ, Oppenheim FG. Saliva and serum protein exchange at the tooth enamel surface. *Journal of Dental Research*, 2017, 96(4): 437–443.
- [5] Marsh PD, Zaura E. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 2017, 44(S18): S12–S22.
- [6] Nobbs AH, Lamont RJ, Jenkinson HF. *Streptococcus* adherence and colonization. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2009, 73(3): 407–450.
- [7] Nyvad B, Kilian M. Comparison of the initial streptococcal microflora on dental enamel in caries-active and in caries-inactive individuals. *Caries Research*, 1990, 24(4): 267–272.
- [8] Rickard AH, Gilbert P, High NJ, Kolenbrander PE, Handley PS. Bacterial coaggregation: an integral process in the development of multi-species biofilms. *Trends in Microbiology*, 2003, 11(2): 94–100.
- [9] Kolenbrander PE, Palmer RJ Jr, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell–cell distance. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(7): 471–480.
- [10] Holliday R, Preshaw PM, Bowen L, Jakubovics NS. The ultrastructure of subgingival dental plaque, revealed by high-resolution field emission scanning electron microscopy. *BDJ Open*, 2015, 1(1): 15003.
- [11] Zijne V, van Leeuwen MBM, Degener JE, Abbas F, Thurnheer T, Gmür R, Harmsen HJM. Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLoS One*, 2010, 5(2): e9321.
- [12] Valm AM, Welch JLM, Rieken CW, Hasegawa Y, Sogin ML, Oldenbourg R, Dewhirst FE, Borisy GG. Systems-level analysis of microbial community organization through combinatorial labeling and spectral imaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(10): 4152–4157.
- [13] Keijsers BJE, van den Broek TJ, Slot DE, van Twillent L, Kool J, Thabuis C, Ossendrijver M, van der Weijden FA, Montijn RC. The impact of maltitol-sweetened chewing gum on the dental plaque biofilm microbiota composition. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 381.
- [14] Diaz PI, Zilm PS, Rogers AH. *Fusobacterium nucleatum* supports the growth of *Porphyromonas gingivalis* in oxygenated and carbon-dioxide-depleted environments. *Microbiology*, 2002, 148(2): 467–472.
- [15] Haffajee AD, Teles RP, Patel MR, Song X, Veiga N, Socransky SS. Factors affecting human supragingival biofilm composition. I. Plaque mass. *Journal of Periodontal Research*, 2009, 44(4): 511–519.
- [16] Garcia SS, Blackledge MS, Michalek S, Su L, Ptacek T, Eipers P, Morrow C, Lefkowitz EJ, Melander C, Wu H. Targeting of *Streptococcus mutans* biofilms by a novel small molecule prevents dental caries and preserves the oral microbiome. *Journal of Dental Research*, 2017, 96(7): 807–814.
- [17] Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. *Microbes and Infection*, 2000, 2(13): 1599–1607.
- [18] Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community—implications for health and disease. *BMC Oral Health*, 2006, 6(S1): S14.
- [19] Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005, 43(11): 5721–5732.
- [20] Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Research*, 2004, 38(3): 182–191.
- [21] Caufield PW, Griffen AL. Dental caries: an infectious and

- transmissible disease. *Pediatric Clinics of North America*, 2000, 47(5): 1001–1019.
- [22] Wang J, Feng CL, Chen WX, Cai MJ, Jian XL, Geng L, Zeng HY, Zeng JR. Clinical observation of integrated Chinese-western medicine combined with health education on chronic periodontitis. *Journal of Hubei University of Chinese Medicine*, 2015, 17(4): 70–72. (in Chinese)
王瑾, 冯崇廉, 陈文雄, 蔡名金, 简晓岚, 耿丽, 曾海燕, 曾剑荣. 中西医结合口腔健康教育治疗慢性牙周炎疗效观察. *湖北中医药大学学报*, 2015, 17(4): 70–72.
- [23] Wei KK, Hu BQ. Efficacy evaluation of minocycline hydrochloride ointment in the treatment of moderate chronic periodontitis with one-stop full subgingival scaling and root planing. *Journal of Oral Science Research*, 2014, 30(5): 474, 478. (in Chinese)
韦侃侃, 胡滨青. 盐酸米诺环素软膏辅助一站式全口龈下刮治和根面平整术治疗中度慢性牙周炎的疗效评价. *口腔医学研究*, 2014, 30(5): 474, 478.
- [24] Wang PW, Gu M. Comparison of therapeutic effects of minocycline hydrochloride and metronidazole films on periodontitis. *Hainan Medical Journal*, 2014, 25(1): 99–100. (in Chinese)
王普武, 顾明. 盐酸米诺环素与甲硝唑药膜治疗牙周炎的疗效比较. *海南医学*, 2014, 25(1): 99–100.
- [25] Kageyama S, Takeshita T, Asakawa M, Shibata Y, Takeuchi K, Yamanaka W, Yamashita Y. Relative abundance of total subgingival plaque-specific bacteria in salivary microbiota reflects the overall periodontal condition in patients with periodontitis. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0174782.
- [26] Lamont RJ, Jenkinson HF. *Oral Microbiology at a Glance*. Hoboken, New Jersey: Wiley-Blackwell, 2010.
- [27] Ebersole JL. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontology 2000*, 2003, 31(1): 135–166.
- [28] Hajishengallis G, Lamont RJ. Breaking bad: manipulation of the host response by *Porphyromonas gingivalis*. *European Journal of Immunology*, 2014, 44(2): 328–338.
- [29] Kolenbrander PE, Palmer RJ, Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontology 2000*, 2006, 42(1): 47–79.
- [30] Duque C, João MFD, da Cruz Galhardo Camargo GA, Teixeira GS, Machado TS, de Souza Azevedo R, Mariano FS, Colombo NH, Vizoto NL, de Oliveira Mattos-Graner R. Microbiological, lipid and immunological profiles in children with gingivitis and type 1 diabetes mellitus. *Journal of Applied Oral Science*, 2017, 25(2): 217–226.
- [31] Kuramitsu HK, He XS, Lux R, Anderson MH, Shi WY. Interspecies interactions within oral microbial communities. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2007, 71(4): 653–670.
- [32] Kolenbrander PE. Multispecies communities: interspecies interactions influence growth on saliva as sole nutritional source. *International Journal of Oral Science*, 2011, 3(2): 49–54.
- [33] Li YH, Huang XX, Tian XL. Recent advances in dental biofilm: impacts of microbial interactions on the biofilm ecology and pathogenesis. *AIMS Bioengineering*, 2017, 4(3): 335–350.
- [34] Sanz M, Beighton D, Curtis MA, Cury JA, Dige I, Dommisch H, Ellwood R, Glacaman RA, Herrera D, Herzberg MC, Könönen E, Marsh PD, Meyle J, Mira A, Molina A, Mombelli A, Quirynen M, Reynolds EC, Shapira L, Zaura E. Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the Joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 2017, 44(S18): S5–S11.
- [35] McFarland LV. Normal flora: diversity and functions. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 2000, 12(4): 193–207.
- [36] Jakubovics NS, Kolenbrander PE. The road to ruin: the formation of disease-associated oral biofilms. *Oral Diseases*, 2010, 16(8): 729–739.
- [37] Hogan S, Zapotoczna M, Stevens NT, Humphreys H, O’Gara JP, O’Neill E. Potential use of targeted enzymatic agents in the treatment of *Staphylococcus aureus* biofilm-related infections. *Journal of Hospital Infection*, 2017, 96(2): 177–182.
- [38] Tian XL, Chen C, Cyr K, Dong G, Salim H, Li YH. Targeted killing of *Streptococcus mutans* in biofilms by a pheromone guided antimicrobial peptide HP30. *Journal of Antibiotics Research*, 2017, 1(2): 1–10
- [39] Wang H, Ren DC. Controlling *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus* biofilms with direct current and chlorhexidine. *AMB Express*, 2017, 7(1): 204.
- [40] Zaura-Arite, E, van Marle J, Ten Cate JM. Confocal microscopy study of undisturbed and chlorhexidine-treated dental biofilm. *Journal of Dental Research*, 2001, 80(5): 1436–1440.
- [41] Larsen T. Susceptibility of *Porphyromonas gingivalis* in biofilms to amoxicillin, doxycycline and metronidazole. *Molecular Oral Microbiology*, 2002, 17(5): 267–271.
- [42] Liu SJ, Lü J. Clinical effect of antiviral oral-liquid on chronic gingivitis. *Sichuan Medical Journal*, 2015, 36(7): 968–971. (in Chinese)
刘世军, 吕靖. 抗病毒口服液治疗慢性牙龈炎的临床研究.

- 四川医学, 2015, 36(7): 968–971.
- [43] He ZW. Observation of the efficacy of Xipaigu Liquid in treating gingivitis and controlling plaque. *Modern Diagnosis and Treatment*, 2017, 28(6): 1053–1054. (in Chinese)
何志伟. 西帕依固龈液治疗牙龈炎、控制牙菌斑的效果观察. *现代诊断与治疗*, 2017, 28(6): 1053–1054.
- [44] Liu CP. Efficacy of metronidazole controlled-release membrane in treating periodontal diseases. *Contemporary Medical Symposium*, 2017, 15(2): 126–127. (in Chinese)
柳朝平. 甲硝唑控释药膜治疗牙周病的疗效评析. *当代医药论丛*, 2017, 15(2): 126–127.
- [45] Hou TL. Therapeutic effect of non-invasive repair technique for deciduous teeth caries in children, pulmonary and pulmonary diseases. *Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease*, 2011, 19(8): 1368. (in Chinese)
侯天礼. 非创伤性修复技术治疗儿童乳牙龋病的疗效观察. *实用心脑血管病杂志*, 2011, 19(8): 1368.
- [46] van Essche M, Loozen G, Godts C, Boon N, Pauwels M, Quirynen M, Teughels W. Bacterial antagonism against periodontopathogens. *Journal of Periodontology*, 2013, 84(6): 801–811.
- [47] Loozen G, Boon N, Pauwels M, Slomka V, Rodrigues Herrero E, Quirynen M, Teughels W. Effect of *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100 on multispecies oral communities. *Anaerobe*, 2015, 35: 45–53.
- [48] Allaker RP, Douglas CWI. Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2009, 33(1): 8–13.
- [49] Cagetti MG, Mastroberardino S, Milia E, Cocco F, Lingström P, Campus G. The use of probiotic strains in caries prevention: a systematic review. *Nutrients*, 2013, 5(7): 2530–2550.
- [50] Gruner D, Paris S, Schwendicke F. Probiotics for managing caries and periodontitis: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Dentistry*, 2016, 48: 16–25.
- [51] Luo WY, Hong YR, Zhang ZJ, Yang YF, Xiao LJ. Study on the clinical effect of Er:YAG laser assisted ultrasound therapy instrument in periodontitis patients. *Nursing Practice and Research*, 2017, 14(11): 10–12. (in Chinese)
骆伟燕, 洪煜锐, 张志娟, 杨艳峰, 肖丽娟. Er: YAG 激光辅助超声治疗仪应用于牙周炎患者的临床效果研究. *护理实践与研究*, 2017, 14(11): 10–12.
- [52] Xu DN, Lin XP. Application of laser in periodontal non-surgical treatment. *Journal of Oral Science Research*, 2016, 32(12): 1325–1328. (in Chinese)
胥丹妮, 林晓萍. 激光在牙周非手术治疗中的应用. *口腔医学研究*, 2016, 32(12): 1325–1328.
- [53] Tagg JR, Dierksen KP. Bacterial replacement therapy: adapting ‘germ warfare’ to infection prevention. *Trends in Biotechnology*, 2003, 21(5): 217–223.
- [54] Jiang YL, Feng MY, Cheng L. Research progress on a nanodrug delivery system for prevention and control of dental caries and periodontal diseases. *West China Journal of Stomatology*, 2017, 35(1): 104–107. (in Chinese)
江娅玲, 冯明业, 程磊. 纳米载药系统防治龋病和牙周病的研究进展. *华西口腔医学杂志*, 2017, 35(1): 104–107.
- [55] Crystal YO, Janal MN, Hamilton DS, Niederman R. Parental perceptions and acceptance of silver diamine fluoride staining. *The Journal of the American Dental Association*, 2017, 148(7): 510–518.e4.
- [56] Cheng N, Xu Y, Huang WY, Lu JJ, Wang J, Zheng GT, Zhao X, Wang Y, Dong Y, Xia FR. Photodynamic therapy as an adjunctive method for scaling and root planing in the treatment of mild to moderate periodontitis. *Chinese Journal of Conservative Dentistry*, 2013, 23(4): 278–281. (in Chinese)
程楠, 徐燕, 黄万元, 路晶晶, 汪婧, 郑桂婷, 赵璇, 汪洋, 董瑶, 夏斐然. 光动力疗法辅助龈下刮治及根面平整术治疗轻中度牙周炎的临床研究. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2013, 23(4): 278–281.
- [57] Suzuki M, Yamada A, Saito K, Hino R, Sugawara Y, Ono M, Naruse M, Arakaki M, Fukumoto S. Application of a tooth-surface coating material containing pre-reacted glass-ionomer fillers for caries prevention. *Pediatric Dental Journal*, 2015, 25(3): 72–78.
- [58] Daniel A, Euler C, Collin M, Chahales P, Gorelick KJ, Fischetti VA. Synergism between a novel chimeric lysin and oxacillin protects against infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010, 54(4): 1603–1612.
- [59] Yang H, Zhang Y, Yu JP, Huang YL, Zhang XE, Wei HP. Novel chimeric lysin with high-level antimicrobial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* *in vitro* and *in vivo*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2014, 58(1): 536–542.
- [60] Qu KL, Xu YP, Li Z, Zhang JC, Song YX, Fu LN, Wang LL, Li XY. Advances in improving antibacterial activity of bacteriophage endolysase. *Journal of Microbiology*, 2017, 37(1): 88–93. (in Chinese)
渠坤丽, 徐永平, 李振, 张建成, 宋亚雄, 付丽娜, 王丽丽, 李晓宇. 提高噬菌体裂解酶抗菌活性的研究进展. *微生物学杂志*, 2017, 37(1): 88–93.
- [61] Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *The Lancet*, 2007, 369(9555): 51–59.
- [62] Zhou XD, Shi WY. *Microbial Biofilm and Infection*. Beijing: People’s Medical Publishing House, 2012. (in Chinese)
周学东, 施文元. *微生物生物膜与感染*. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
- [63] Smalley JW, Olczak T. Heme acquisition mechanisms of

Porphyromonas gingivalis—strategies used in a polymicrobial community in a heme-limited host environment. *Molecular Oral Microbiology*, 2017, 32(1):

1–23.

[64] Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Research*, 2004, 38(3): 204–211.

Formation and control of dental plaque biofilm

Rihan Wu^{1,2}, Xiaojuan Guo^{1,3*}, Yi Wang³, Jinfeng Wang², Fangqing Zhao^{2*}

¹ School of Public Health, Inner Mongolia Medical University, Huhhot 010110, Inner Mongolia Autonomous Region, China

² Beijing Academy of Life Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

³ School of Public Health and Management, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, Zhejiang Province, China

Abstract: A plaque biofilm is an aggregate of complex microbial communities attached to the enamel surface. The formation and growth of plaque biofilms have a direct or indirect impact on oral health. Many studies have confirmed that oral diseases such as dental caries and periodontal diseases are related to the accumulation of bacteria and the formation of plaque. During the formation of plaque biofilms, the initial colonization of bacteria on the surface of the tooth is crucial for the biofilm composition and structure of the microorganisms. These primary colonization bacteria determine the type and number of microorganisms with which subsequent symbionts are formed. Different microbial constituents may play different roles in oral pathological conditions associated with biofilm formation. Therefore, in this paper, the growth and control of dental plaque biofilm in human oral cavities were reviewed, and the early colonization and maturation process of the biofilm and the control of dental plaque biofilm through physical and chemical methods were introduced. These contents may provide valuable information to study the formation mechanism of plaque biofilm and related oral diseases prevention and treatment.

Keywords: microorganism, dental plaque, biofilm, caries, periodontal disease

(本文责编: 李磊)

Supported by the Key Research Program of Chinese Academy of Sciences (KFZD-SW-219)

*Corresponding author. Fangqing Zhao, Tel: +86-10-84504172, Fax: +86-10-64880586, E-mail: zhfq@biols.ac.cn; Xiaojuan Guo, Tel: +86-577-86699828, E-mail: gxj@wmu.edu.cn

Received: 3 May 2018; Revised: 3 July 2018; Published online: 20 July 2018



赵方庆, 中国科学院北京生命科学研究院“百人计划”研究员、优青基金获得者。2006 年在中科院海洋研究所获海洋生物基因组学博士学位, 在此期间获中国科学院院长特别奖和国家海洋科学技术奖一等奖。2006–2010 年在美国宾州州立大学比较基因组学和生物信息学研究中心从事博士后研究。2011 年被中国科学院北京生命科学研究院聘为“百人计划”研究员。现任中科院北京生科院科研部副主任、中科院北京生命科学大型仪器区域中心办公室主任、中国生物工程学会计算生物学专业委员会副主任。在国际刊物 *Briefings in Bioinformatics*、*Genomics*、*Proteomics & Bioinformatics*、*BMC Evolutionary Biology* 和 *Hereditas* 等杂志担任编委。近年来, 以通信作者在 *Nature Communications*、*Gut*、*Genome Biology*、*Trends in Genetics*、*Current Biology* 和 *Nucleic Acids Research* 等刊物上发表论文 30 余篇, 平均影响因子超过 10, 其中多篇入选 ESI 高被引论文。