

## 氟在口腔微生态作用中的研究进展

杨洁如<sup>1</sup>, 吕文飞<sup>1</sup>, 胡欢<sup>2</sup>, 任群利<sup>2</sup>, 王苗<sup>2</sup>, 李小兰<sup>2</sup>, 刘建国<sup>1</sup>, 王倩<sup>\*1</sup>

1 遵义医科大学 口腔医学院 贵州省普通高校口腔疾病研究特色重点实验室, 贵州 遵义 563000

2 遵义医科大学 贵州省普通高校微生物资源与药物开发特色重点实验室, 贵州 遵义 563000

杨洁如, 吕文飞, 胡欢, 任群利, 王苗, 李小兰, 刘建国, 王倩. 氟在口腔微生态作用中的研究进展[J]. 微生物学通报, 2024, 51(10): 3836-3846.

YANG Jieru, LV Wenfei, HU Huan, REN Qunli, WANG Miao, LI Xiaolan, LIU Jianguo, WANG Qian. Research progress in the effects of fluoride on oral microecology[J]. Microbiology China, 2024, 51(10): 3836-3846.

**摘要:** 氟一直是被广泛使用的有效抗龋成分, 氟离子能通过抑制微生物代谢关键酶的活性或改变细胞膜通透性来抑制细菌生长, 显著抑制变异链球菌(*Streptococcus mutans*)等主要致龋菌, 还能改变龋病患者的口腔微生物组结构。但长期过量使用氟会导致口腔耐氟菌株出现, 降低氟化物防龋效果。随着高通量测序技术的进步, 有助于学者们深入研究口腔微生物氟抗性的分子机制及氟对口腔微生态的影响。近年来氟与新型生物医用材料的联用为耐氟菌株提供了新的防治思路。本文围绕口腔微生物氟抗性的产生及其分子机制、氟对人口腔微生物组的影响, 以及氟与新型材料联合运用等方面, 对氟在口腔微生态中的影响及作用进行了全面综述, 旨在为氟在口腔健康领域的进一步研究和应用提供理论基础。

**关键词:** 氟; 抗菌机制; 口腔微生态; 氟抗性; 生物医用材料

资助项目: 贵州省教育厅 2022 乡村振兴集成示范村建设项目(黔教技[2022]037 号); 遵义医科大学优秀青年人才项目(17zy-002)

This work was supported by the Pilot Construction Project of Rural Revitalization from Guizhou Province Ministry of Education (QJJ[2022]037) and the Outstanding Young Talent Project of Zunyi Medical University (17zy-002).

\*Corresponding author. E-mail: qianwang07@126.com

Received: 2024-02-01; Accepted: 2024-03-15; Published online: 2024-04-17

## Research progress in the effects of fluoride on oral microecology

YANG Jieru<sup>1</sup>, LV Wenfei<sup>1</sup>, HU Huan<sup>2</sup>, REN Qunli<sup>2</sup>, WANG Miao<sup>2</sup>, LI Xiaolan<sup>2</sup>, LIU Jianguo<sup>1</sup>, WANG Qian<sup>\*1</sup>

1 Guizhou Provincial Key Laboratory of Oral Disease Research, School of Stomatology, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China

2 Guizhou Provincial Key Laboratory of Microbial Resources and Drug Development, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China

**Abstract:** Fluoride has been used as an effective anti-caries agent for decades. Fluorination can inhibit the activities of key enzymes in microbial metabolism or change the permeability of cell membrane, thus inhibiting the growth of major cariogenic bacteria such as *Streptococcus mutans*. Moreover, it can change the oral microbiome structure of caries patients. However, the long-term excessive use of fluoride may lead to the emergence of fluoride-resistant strains and reduce the anti-caries effect of fluoride. The development of sequencing technology enables researchers to gain deep understanding of fluoride resistance mechanism in oral microorganisms and the influence of fluoride on oral microecology. In recent years, the combination of fluorine and new biomedical materials provides a new strategy for controlling fluoride-resistant strains. This paper reviews the latest studies about the effects of fluoride on oral microecology, including the generation and mechanism of fluoride resistance in oral microorganisms, the effects of fluoride on human oral microbiome, and the combined use of fluorine and new biomedical materials, aiming to provide a theoretical basis for the further research and application of fluoride in oral health.

**Keywords:** fluoride; anti-bacterial mechanism; oral microecology; fluoride resistance; biomedical material

氟是人体所需的微量元素之一，适量氟对机体代谢有积极的影响，而氟元素超标(如水氟、煤氟等)会导致氟牙症、氟骨症等氟中毒症状<sup>[1]</sup>。早在 1942 年，研究者就发现饮用水中添加  $1 \times 10^{-6}$  mg/L 氟可以达到预防龋病的效果<sup>[2]</sup>，氟化物也已被广泛应用于口腔临床治疗<sup>[3-4]</sup>。氟化物的抗龋机制体现在两方面，一方面，唾液中的氟化物在酸性环境中可以被吸收到磷灰石晶体的表面，从而阻止脱矿，而当 pH 值升高时，氟羟基磷灰石高度过饱和，促进再矿化过程<sup>[5-6]</sup>；另一方面，氟可以抑制微生物代谢相关

的酶(如烯醇酶、脲酶等)的活性，改变细菌细胞膜通透性，从而抑制细菌的生长<sup>[7]</sup>。

口腔菌群是口腔微生态的重要组成部分，人口腔内至少包含 600 种不同的微生物，其中大多为细菌<sup>[8]</sup>。健康状况下，口腔菌群与人体保持动态平衡，而当口腔微生态失衡时，某些微生物，如链球菌属(*Streptococcus*)和卟啉单胞菌属(*Porphyromonas*)等数量显著增加，从而引发口腔感染性疾病<sup>[9]</sup>。菌斑生物膜是口腔微生态中具有代表性的组成部分，其复杂的物理、化学结构使得其中的细菌具有复杂的抗性特征<sup>[10-11]</sup>。

虽然氟可以有效抑制口腔微生物,但长期或过度使用氟不仅会打破口腔微生态平衡,还可能诱发微生物的耐药性,目前临床和实验室都已经分离出耐氟变异链球菌(*Streptococcus mutans*)<sup>[12-14]</sup>;它们在高氟环境下较野生菌株有更强的致龋及生存能力,这为口腔医学领域上传统氟的应用方式带来了新的挑战<sup>[12,15]</sup>。

近年来,氟和新型材料的联合应用也受到广泛关注,这不仅强化了传统含氟材料的抗龋效果,而且具备改善环境 pH 值和优良的生物相容性等新性能。本文全面总结了氟对口腔生态的影响,包括氟对微生物组结构的影响、耐氟 *S. mutans* 菌株的出现,以及氟与新型材料的联合应用,以期为更多相关研究提供参考。

## 1 氟对微生物的抑制作用

有研究表明,氟能以多种方式影响口腔中微生物的新陈代谢,如通过直接或间接抑制代谢关键酶,包括烯醇酶、脲酶和 ATP 酶等,也可作为跨膜质子载体,使微生物生长和代谢受抑制<sup>[7,16]</sup>(表 1)。例如,烯醇酶是微生物糖酵解

过程的关键酶,对微生物供能与生长代谢至关重要,它催化 2-磷酸甘油酸转化为磷酸烯醇式丙酮酸(phosphoenolpyruvate, PEP);在细菌内聚集的氟离子会抑制烯醇酶活性,使 ATP 生成减少,丙酮酸激酶在缺少能量供应的情况下不能将 PEP 转化成丙酮酸,进而抑制细胞内的糖酵解过程,并致使磷酸转移酶系统对葡萄糖的摄取减少<sup>[7]</sup>。而 H<sup>+</sup>/ATPase 受抑制则会破坏细胞膜通透性,氢离子无法排出,细胞质内酸化,从而降低细胞的代谢和耐酸能力<sup>[16-17]</sup>。氟离子在细菌细胞内的积累、分布和流出过程如图 1 所示。

## 2 口腔微生物的氟抗性机制

由于氟及氟化物强大的防龋作用,自 20 世纪中期起就被广泛应用于龋病的防治<sup>[18]</sup>。其使用方式分为系统用氟和局部用氟,系统用氟包括在饮水或食物中添加含氟制剂,通过血液循环进入牙体硬组织;局部用氟是指使用含氟制剂定期涂擦牙面,使牙体硬组织或唾液直接接触并吸收氟离子,包括含氟牙膏、含氟漱口水等常见含氟口腔护理产品<sup>[18-19]</sup>。目前,主要研究

表 1 氟离子抑制微生物的生物学效应

Table 1 Biological effects of fluorination on oral bacteria

生物活性	例子	机制	参考文献
Biological activity	Example	Mechanism	Reference
抑制酶活性	烯醇酶、脲酶、P-ATPase、磷酸酶、血红素过氧化物酶、	直接和氟离子或氢氟酸连接	[7,16]
Enzyme inhibition	血红素过氧化氢酶 Enolase, urease, P-ATPase, phosphatases, heme peroxidase, heme catalase	Direct binding of F <sup>-</sup> or HF	
	F-ATPase、固氮酶、RecA 蛋白、CheY 蛋白	与金属氟化物连接	[7,16]
	F-ATPase, nitrogenase, RecA, CheY	Binding of metal- F complex	
作为跨膜质子载体	抑制大分子合成或输出	作为跨膜质子载体	[16]
Transmembrane proton carrier	Inhibition of macromolecular synthesis and export 胞质酸化(抑制糖酵解、PTS 系统和 IPS 形成)	Action as transmembrane proton carrier	[16]
	Acidification of cytoplasm (inhibition of glycolysis, PTS system, and IPS formation)		

PTS 系统: 磷酸转移酶系统; IPS: 胞内多糖

PTS: Phosphotransferase system; IPS: Intracellular polysaccharide.

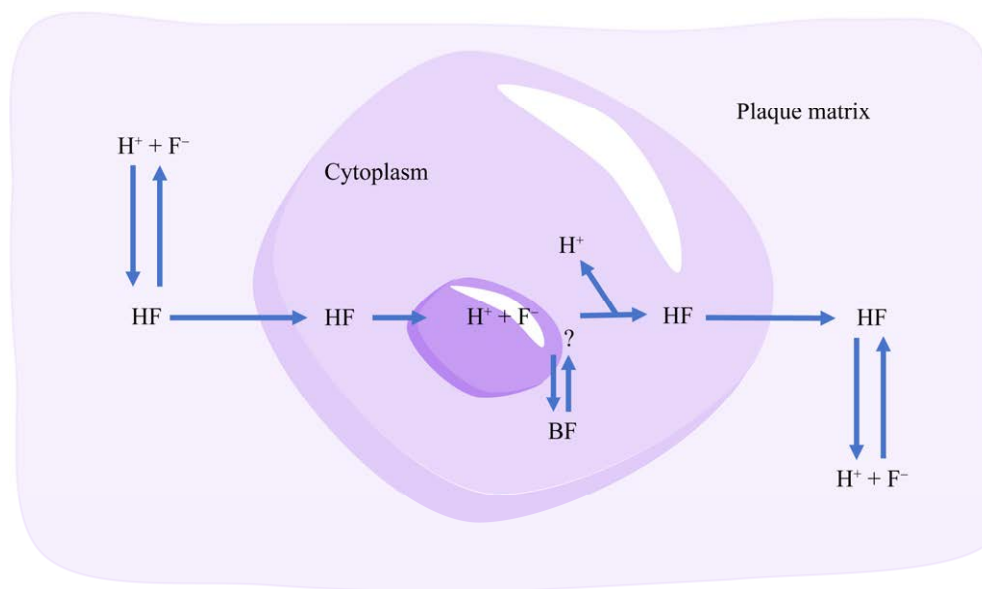


图 1 氟离子在细菌细胞内的积累、分布和流出过程  $H^+$ : 氢离子;  $F^-$ : 氟离子; BF: 氟化物

Figure 1 The accumulation, distribution and outflow of fluorine in bacterial cells.  $H^+$ : Hydrogen ion;  $F^-$ : Fluoride ion; BF: Bound fluoride.

集中在防龋后 *S. mutans* 的变化上,大量研究表明氟化物可以有效抑制口腔中 *S. mutans* 的生长代谢,显著减少菌斑中 *S. mutans* 的数量。有研究发现,在体外试验中,牙本质表面氟磷灰石晶体膜可减少 *S. mutans* 的初期黏附和生物膜形成<sup>[20]</sup>。另一项研究发现,不同浓度的含氟漱口水及凝胶均可降低受试人群唾液中 *S. mutans* 的数量,并且在龋易感人群中效果更加明显<sup>[21]</sup>。

随着氟的广泛应用,受到氟胁迫的微生物可能通过突变产生氟抗性。目前关于细菌的耐氟机制主要集中于对 *S. mutans* 的研究<sup>[12-13]</sup>,临床和实验室都已经分离出 *S. mutans* 的耐氟菌株,耐氟菌株可以在  $4 \times 10^{-4}$ – $1 \times 10^{-3}$  mg/L 的氟环境下生存和生长<sup>[22-25]</sup>。细菌的氟抗性分为短期和长期抗性,短期抗性可能在表型适应中获得,对 *S. mutans* 而言,其在生长过程中自发形成感受态,摄取并整合外源游离 DNA,被摄取的外源 DNA 片段通过同源重组整合于细菌染色体的相应部位,导致该部位的基因发生突变,

从而使其氟抗性发生改变;这种短期抗性在环境中氟胁迫减小时会逐渐消失,这种情况常见于从因口干症而长期使用大剂量氟的患者口中分离出的耐氟 *S. mutans*<sup>[26]</sup>;同时,这些耐氟 *S. mutans* 在无氟培养基中经过 1–7 代后,逐渐失去氟抗性<sup>[26]</sup>。长期抗性由染色体突变引起,实验室培养的耐氟菌株大多能保持稳定的耐氟性能<sup>[12-13]</sup>。

## 2.1 *S. mutans* 氟抗性的产生

目前临床上分离的耐氟菌株的报道较少,Streckfuss 等<sup>[26]</sup>从每日局部涂氟的口干症患者牙菌斑中分离出 7 株耐氟 *S. mutans*。Brown 等<sup>[27]</sup>发现持续的氟化物治疗会增加耐氟菌株与氟敏感菌株的比例。目前关于口腔中自然产生的耐氟细菌的报道较少。这主要是由于常用口腔卫生产品的安全性较好,虽然其中的氟化物浓度从  $(2.5 \times 10^{-4}$ – $1.5 \times 10^{-3})$  mg/L 不等,但使用后口内剩余氟化物浓度仅在  $(1.1 \times 10^{-6}$ – $5.7 \times 10^{-6})$  mg/L 之间;而在健康口腔环境中氟对菌斑的抑制浓

度是( $5 \times 10^{-6}$ – $2.3 \times 10^{-4}$ ) mg/L, 在酸性环境中为( $4.8 \times 10^{-6}$ – $1.9 \times 10^{-5}$ ) mg/L, 因此不足以对口腔生态系统施加选择压力<sup>[28]</sup>。然而, 对于氟病区生活环境因素导致口腔中氟浓度超标的人群, 其口腔氟抗性变异菌株的相关研究尚属空白。

## 2.2 耐氟 *S. mutans* 的特征

与口腔细菌中氟耐药性有关的首要问题之一是耐氟菌株是否对口腔健康构成风险。这主要取决于耐氟菌株的主要特征: 耐氟稳定性、产酸性、生存能力和体内致龋性(表 2)。

耐氟稳定性是耐氟菌株是否能长期在口腔中生存的指标。在体外诱导的细菌对氟化物的耐药性通常是稳定的, 抗性一旦形成, 即使在无氟化物的情况下, 历经 500 次传代后仍能保持稳定的耐药性水平<sup>[22,26]</sup>。然而, 从长期应用氟化物的口干症患者中分离出的 *S. mutans* 耐药性则不稳定, 其耐药性在无氟培养基中传代 7 次后消失<sup>[26]</sup>。产酸性是 *S. mutans* 的关键毒力因子, 在无氟环境中, 耐氟菌株与其亲代产酸性相似或略低于亲代, 但随着环境中氟浓度增加, 耐氟菌株产酸能力超越亲代<sup>[12,28]</sup>。耐氟菌株的生存能力主要从两个方面评估: 其在酸性环境下的生存能力和黏附牙面的能力。一般来说, 耐氟 *S. mutans* 菌株抗酸能力强于野生菌株<sup>[12]</sup>, 但有少数突变株(如 C180-2FR)耐酸能力低于野生菌株<sup>[29-30]</sup>。Streckfuss 等<sup>[26]</sup>从长期使用高剂量氟化物患者口腔中分离出耐氟 *S. mutans* 菌株, 并将其与实验室诱导的耐氟 *S. mutans* 菌株进行了比较, 发现在高氟环境下, 患者口腔中分离出的耐氟 *S. mutans* 菌株具有更强的黏附能力, 并且这 2 种耐氟菌株在高氟环境下黏附能力均强于野生菌株, 研究者推测这是由于 *S. mutans* 突变体的基因组发生多个突变共同导致的。然而, 耐氟 *S. mutans* 的致龋性则主要与菌株型相关, Loveren 等<sup>[30]</sup>研究显示 *S. mutans* 变异株 C180-2FR

在实验鼠中引起的龋病较野生型更轻微。然而, Rosen 等<sup>[15]</sup>报道了一种通过紫外线诱导对氟化物产生抗性的耐氟菌株 FR6715, 其致龋能力则高于野生型。但目前相关研究较少, 耐氟 *S. mutans* 菌株在体内的致龋性仍然是有待深入研究的问题。

总的来说, 耐氟 *S. mutans* 菌株在氟环境下较野生型具有稳定的耐氟性、更高的产酸能力、生存能力及体内致龋性, 对于临床龋病的防治提出了新的挑战。

## 2.3 基因突变与 *S. mutans* 氟抗性

### 2.3.1 与耐氟性相关的基因突变

烯醇酶和 F-ATPase 与 *S. mutans* 生长代谢密切相关, 并且对氟化物十分敏感, 有研究发现, 在耐氟 *S. mutans* 菌株 NCH105 中, 编码烯醇酶的基因发生突变, 使第 173 个氨基酸处的亮氨酸代替脯氨酸, 从而改变了 F<sup>-</sup>结合位点的构象, 降低了烯醇酶对氟的敏感度<sup>[31]</sup>。Lu 等<sup>[32]</sup>发现 *S. mutans* 中存在一种与氟相关的渗透酶基因 fluoride related permease (*frtP*), 上调该基因使得 *S. mutans* 对氟敏感度增加。近年来, 随着测序技术的发展, 全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)和相关的生物信息分析技术得到了广泛的应用, 该技术已成功地应用于预测与细菌耐药性和宿主适应性相关的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)<sup>[29,33]</sup>。Liao 等<sup>[29]</sup>利用全基因组测序技术, 发现 *S. mutans* UA159 中 *perA* 启动子特定的基因位点发生了 A→C 突变, 使得氟化物逆向转运蛋白基因 *perA* 和 *perB* 的表达上调, 该突变使得 RNA 聚合酶与 *perA* 启动子结合增强从而实现表达上调。Li 等<sup>[33]</sup>实验结果显示, *S. mutans* UA159 中 F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATPase 基因启动子区域的单核苷酸突变(G→T)使其耐氟性增加, 并在大鼠实验中显示出更强的致龋性。总之, 基于 WGS 的研究为微生物耐氟机制研究提供了更好的基础。

表 2 耐氟变异链球菌菌株及其特征

Table 2 Fluorine-resistant *Streptococcus mutans* strains and their characteristics

抗氟变异链球菌菌株 Fluoride-resistant <i>Streptococcus mutans</i> strain	来源 Source	浓度水平 Level of resistance (mg/L)	稳定性 Stability	特征 Characteristic	潜在机制 Potential mechanism	参考文献 Reference
6715/600 FR	实验室分离 (由 <i>S. mutans</i> 6715 逐步衍生) Laboratory isolate (Stepwise derived from <i>S. mutans</i> 6715)	$6 \times 10^{-4}$	稳定抗性 Stable resistance	1. 在无氟环境中, 形成生物膜的能力下降; 2. $6 \times 10^{-4}$ mg/L 氟化物环境中黏附率高于野生型 1. Decreased ability to form biofilms on tooth compared to the wild type in the absence of fluoride; 2. Higher adherence percentage than the wild type with $6 \times 10^{-4}$ mg/L fluoride	基因型突变 Potential involvement of genotypic mutation	[25]
C180-2FR	实验室分离 (由 <i>S. mutans</i> C180-2R 分离) Laboratory isolate (Stepwise derived from <i>S. mutans</i> C180-2R)	$5 \times 10^{-4}$	稳定抗性 Stable resistance	1. 在 pH<6.0 的无氟环境中, 产酸强于野生型; 2. 在无氟环境下与野生型共存时无法黏附于牙面; 3. 与野生型的体内致龋性相似 1. Faster acid production than the wild type when pH<6.0; 2. Unable to bind to enamel when the wild type was present; 3. Similar cariogenicity compared to the wild type <i>in vivo</i>	1. 基因组发生突变 2. 基因突变上调了氟转运蛋白的表达 1. Potential involvement of genome mutation; 2. Gene mutation upregulates the expression of fluoride transporters	[4,11]
UA159FR	实验室分离 (由 <i>S. mutans</i> UA159 衍生) Laboratory isolate (Stepwise derived from <i>S. mutans</i> UA159)	$1 \times 10^{-3}$	N/A	1. 产生细胞多糖及耐酸能力均增强 2. 在高氟环境下更好地维持细菌酸碱代谢 1. Higher ability to produce cell polysaccharide; 2. Higher ability to resist acid stress than the wild type	基因突变上调了氟转运蛋白的表达 Gene mutation upregulates the expression of fluoride transporters	[6,10]
U41, U48, U53, U60, U64, U80, U85	临床分离 Clinical isolate	$6 \times 10^{-4}$	暂时抗性 Transient resistance	与实验室衍生的耐氟菌株黏附模式相似 Similar to adherence patterns of lab-derived fluoride-resistant strains	潜在的基因型突变 Potential involvement of genotypic mutation	[25]

N/A: 文中未提及  
N/A: Not mentioned.

### 2.3.2 *S. mutans* 的氟转运蛋白

2012年, Baker等<sup>[34]</sup>发现了细菌用于感测氟化物并降低氟毒性的生物系统—氟转运蛋白(fluoride transporters), 为研究细菌抗氟机制提供了新方向。有2个基因家族与这种氟转运蛋白最为相关, 其中一个基因家族是 *crcB*, 其位于编码具有不同功能蛋白质的基因上游, 并可调控这些基因编码的一些离子转运蛋白, 通过增强离子载体对氟的结合能力, 转运和调节细胞中氟离子浓度, 从而减少氟对自身的胁迫<sup>[34]</sup>; 相较于野生菌株, 在大肠杆菌(*Escherichia coli*)或白色念珠菌(*Candida albicans*)中敲除 *crcB* 可使突变体对氟的敏感性提高200–350倍<sup>[14]</sup>。在真核生物中存在许多 *crcB* 同源基因[重新命名为 *FEX* (fluoride exporter)], 它们维持真核细胞内氟离子浓度, 是真核生物在自然环境中生长代谢所必需的<sup>[35]</sup>。另一个重要的基因家族是 *eriC*, 该家族属于广泛分布的氯离子通道(chloride channel, CLC)蛋白超家族, 参与编码CLC型离子通道蛋白; 该蛋白在控制细胞质的离子组成、细胞体积及膜电兴奋性的调节方面起着关键作用<sup>[35]</sup>。目前, 氟转运蛋白根据其蛋白结构被认定为细菌CLC型阴离子转运蛋白的一个亚类<sup>[34]</sup>。

## 3 氟对人口腔微生物组的影响

随着微生物生态理论和高通量测序技术的进步, 学者们也开始关注氟对人口腔微生态的整体影响。已有多个研究证实, 氟或氟化物可以显著改善龋病患者的口腔微生物结构, 使其更接近健康人群的口腔微生物组成<sup>[18-19]</sup>。例如, Widyarman等<sup>[18]</sup>检测了10名儿童在局部涂氟前后的菌斑微生物组变化, 发现使用氟后牙菌斑中变形菌门(*Proteobacteria*)比例增加, 厚壁菌门(*Firmicutes*)比例降低, 菌斑微生物结构变化

有利于口腔健康的维持。Anderson等<sup>[19]</sup>研究了含氟制剂对龋病患者唾液微生物组成的影响, 研究发现氟化物实验组中奈瑟菌属(*Neisseria*)和颗粒链菌属(*Granulicatella*)丰度更高。这些研究说明氟不仅可以通过抑制代谢酶和作为跨膜质子载体的机制抑制龋病, 还可以调节口腔微生物组成, 使其更接近健康口腔微生物组成, 从而改善口腔健康。

作为地壳中广泛存在的元素, 在高氟环境中, 当地居民由于摄入过量的氟会导致慢性氟中毒, 表现为氟斑牙和氟骨症等<sup>[1]</sup>。但目前对氟中毒病区人群口腔微生物组的研究报道较少。氟对牙釉质的损伤和破坏是不可逆的, 会使患者健康受到长期的积累性影响。基于Deans' Index 轻度氟斑牙表现为牙釉质表面出现白垩状斑块, 中度氟斑牙患者的牙釉质进一步被破坏, 出现黄褐色斑块, 重度氟斑牙还常伴随牙体组织缺损, 氟斑牙患者也更容易发生牙周炎和龋病<sup>[36-37]</sup>。Wang等<sup>[38]</sup>对贵州省毕节燃煤型氟病区青少年的唾液微生物组进行了16S rRNA基因测序, 发现相较于健康组和轻度组, 中/重度组患者口腔菌群结构发生巨大变化, 多个优势菌的相对丰度在中/重度组发生显著改变, 具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*)在中/重度组显著富集, 轻链球菌(*Streptococcus mitis*)和乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)等与糖酵解密切相关的细菌在中/重度组的相对丰度显著高于健康组和轻度组, 提示中度和重度氟斑牙患者口腔卫生状态较差。Liu等<sup>[39]</sup>对安徽省饮水型氟病区的氟斑牙患者的唾液微生物结构研究也显示氟斑牙患者与健康人群存在显著差异,  $\alpha$ 多样性分析提示氟斑牙组菌群的相对丰度显著高于健康对照组,  $\beta$ 多样性分析鉴定出条件致病菌假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)在氟斑牙组显著富集, 可以拮抗 *S. mutans* 定殖的菌种, 如血链球菌

(*Streptococcus sanguinis*)的相对丰度减少,与前述研究结果一致<sup>[36-38]</sup>,也提示氟斑牙患者更容易罹患口腔感染性疾病,如龋病和牙周炎等。此外,氟斑牙患者的牙表面粗糙,口腔细菌更容易黏附在牙面上,并且不易被日常口腔护理清除。以上研究结果提示过度接触氟反而会破坏健康的口腔微生物结构,但目前对于氟病区人群,特别是重度氟斑牙人群口腔微生物组学的相关研究较少,有待进一步深入研究,以便为相关地区人群口腔健康的维护提供理论基础。

## 4 氟化物在抗龋领域的新应用

通过提升氟化物浓度可以相应提升氟化物的抗菌作用,如对于含有 $(5 \times 10^{-4} - 1.5 \times 10^{-3})$  mg/L 氟化物的配方牙膏,使用含氟 $5 \times 10^{-3}$  mg/L 牙膏可显著降低受试者的菌斑评分<sup>[40]</sup>,但现有口腔护理产品中氟浓度需在有效安全的浓度范围内,在发挥增强牙体硬组织和抑菌作用的同时,避免过量氟胁迫产生耐氟菌株变异。因此,对于提高氟化物的抗菌作用不能单纯依靠浓度提升,当前的主要技术手段是寻找可与氟联用的其他成分。大量研究表明氟与抑菌成分或新型材料联用,不仅能增强氟的抑菌能力,还具有保护和强化牙体硬组织、改善环境酸碱度及良好的生物相容性等特征。Fernandes 等<sup>[23]</sup>的研究发现,在含氟漱口水中加入 3%石榴皮提取物可以增强对人工牙菌斑生物膜内 *S. mutans* 和白色念珠菌(*Candida albicans*)的抑制效果;还能更好地改善生物膜内的酸性环境。氟与银离子联用除可显著抑制牙菌斑生物膜中细菌的生长代谢,还可减少病损深度并增加剩余釉质纳米硬度;在此基础上用激光照射能进一步增强抑菌效果<sup>[41]</sup>。这可能为维护口腔健康及临床实践提供了理论基础。

近年来,氟与新型材料,尤其是与纳米材

料的联合使用备受学者关注,多项研究发现氟与纳米材料联用可以延长氟释放时间、增强氟抑菌能力并且具有更好的生物相容性<sup>[42-44]</sup>。最新的研究表明,氟与纳米级纤维素结合可以更有效地抑制 *S. mutans* ATCC 25175 和嗜酸乳杆菌 CH-2 (*Lactobacillus acidophilus* CH-2)菌斑的生长<sup>[45]</sup>。此外,新型纳米材料和传统含氟牙科材料的联合应用为临床应用提供了更多的选择。含氟纳米氧化锆填料比例为 25%、50%和 75%的新型复合树脂对 *S. mutans* 菌落的抑菌率分别为 51.65%、54.14%和 66.80%,并且氟释放量和释放时长随填料比例增加而提升、延长;此外,相较于传统复合树脂材料,新型材料的细胞毒性更小,有更好的生物相容性<sup>[46]</sup>。水凝胶是一种通过单体的物理或化学交联反应形成的聚合物三维网络体系,可搭载药物,具有良好的生物相容性和可降解性,氟与水凝胶联合使用可以有效抑制口腔微生物的生长<sup>[45,47-48]</sup>。

## 5 小结与展望

综上所述,氟及氟化物具有优秀的抗龋性能,可通过保护牙体硬组织、抑制微生物生长及代谢等途径抑制龋病。但氟的应用存在两面性,适量氟可以显著改善龋病患者的口腔微生物结构,慢性氟中毒人群的口腔微生物组结构则受到过量氟的破坏。受到氟胁迫的微生物还可能通过突变产生氟抗性,目前口腔微生物耐氟机制的研究主要集中在 *S. mutans* 变异株上,这也对临床龋病的防治提出了新挑战。近年来,氟与新型生物医用材料(如天然药物活性成分、纳米材料)的联合应用有效增强了氟化物抗龋效果,为耐氟菌株的防治提供了新的思路,但仍需进一步临床试验验证。此外,自然生活环境中氟含量超标(如燃煤型氟病区、水氟病区)对口腔微生物氟抗性影响的相关研究存在空



白, 有待医学科技工作者的进一步研究探索。

## 致谢

感谢遵义医科大学田中佳、朱琳对本文文献检索和语句修改的帮助。

## REFERENCES

- [1] 杨世榕, 刘纯, 丁琪, 杨桦, 贾莹. 饮水型慢性氟中毒大鼠硬组织氟蓄积的对比研究[J]. 环境与职业医学, 2022, 39(2): 174-178.  
YANG SR, LIU C, DING Q, YANG H, JIA Y. Comparative study on fluoride accumulation in hard tissues of rats with chronic drinking-water-borne fluorosis [J]. Journal of Environmental and Occupational, 2022, 39(2): 174-178 (in Chinese).
- [2] DEAN HT, JAY P, ARNOLD FA Jr, ELVOVE E. Domestic water and dental caries: II. A study of 2 832 white children, aged 12-14 years, of 8 suburban Chicago communities, including *Lactobacillus acidophilus* studies of 1 761 children[J]. Public Health Reports, 1941, 56(15): 761.
- [3] CAVAZANA TP, HOSIDA TY, SAMPAIO C, MORAIS LAD, MONTEIRO DR, PESSAN JP, DELBEM CAVAZANA TP, HOSIDA TY, SAMPAIO C, de MORAIS LA, MONTEIRO DR, PESSAN JP, DELBEM ACB. The activity of calcium glycerophosphate and fluoride against cariogenic biofilms of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* formed *in vitro*[J]. Antibiotics, 2023, 12(2): 422.
- [4] LOVEREN CV, HOOGENKAMP MA, DENG DM, CATE JMT. Effects of different kinds of fluorides on enolase and atpase activity of a fluoride-sensitive and fluoride-resistant *Streptococcus mutans* strain[J]. Caries Research, 2008, 42(6): 429-434.
- [5] ZENG YH, CHEN Y, DUAN CC, JIANG XL, WANG YF, ZHANG LL. A transcriptional analysis showing the effects of GH12 combined with fluoride for suppressing the acidogenicity of *Streptococcus mutans* biofilms[J]. Microorganisms, 2023, 11(7): 1796.
- [6] ZHU LK, ZHANG ZM, LIANG JP. Fatty-acid profiles and expression of the fabm gene in a fluoride-resistant strain of *Streptococcus mutans*[J]. Archives of Oral Biology, 2012, 57(1): 10-14.
- [7] MARQUIS RE, CLOCK SA, MOTA-MEIRA M. Fluoride and organic weak acids as modulators of microbial physiology[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2003, 26(5): 493-510.
- [8] 林海, 魏平, 吴继攀, 张翼冠, 龙鑫, 李均利, 岳倩华. 口腔微生物组与中医药精准干预研究展望[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(6): 201-207.  
LIN H, WEI P, WU JP, ZHANG YG, LONG X, LI JL, YUE QH. Prospect of oral microbiota and precise intervention of traditional Chinese medicine[J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2021, 37(6): 201-207 (in Chinese).
- [9] MORAN GP, ZGAGA L, DALY B, HARDING M, MONTGOMERY T. Does fluoride exposure impact on the human microbiome?[J]. Toxicology Letters, 2023, 379: 11-19.
- [10] KIM D, KOO H. Spatial design of polymicrobial oral biofilm in its native disease state[J]. Journal of Dental Research, 2020, 99(6): 597-603.
- [11] DAVIES D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2003, 2: 114-122.
- [12] SHEN Y, YU FZ, QIU LL, GAO MJ, XU PX, ZHANG LJ, LIAO XY, WANG M, HU XY, SUN Y, PAN YH. Ecological influence by colonization of fluoride-resistant *Streptococcus mutans* in oral biofilm[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022, 12: 1106392.
- [13] LIAO Y, CHEN JW, BRANDT BW, ZHU YF, LI JY, van LOVEREN C, DENG DM. Identification and functional analysis of genome mutations in a fluoride-resistant *Streptococcus mutans* strain[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0122630.
- [14] LIAO Y, BRANDT BW, LI JY, CRIELAARD W, van LOVEREN C, DENG DM. Fluoride resistance in *Streptococcus mutans*: a mini review[J]. Journal of Oral Microbiology, 2017, 9(1): 1344509.
- [15] ROSEN S, FREA JI, HSU SM. Effect of fluoride-resistant microorganisms on dental caries[J]. Journal of Dental Research, 1978, 57(2): 180.
- [16] KOO H. Strategies to enhance the biological effects of fluoride on dental biofilms[J]. Advances in Dental Research, 2008, 20(1): 17-21.
- [17] SAMPAIO C, DELBEM ACB, HOSIDA TY, FERNANDES AVP, dos SANTOS GOMES ALVES G, SANTOS SOUZA JA, MONTEIRO DR, PESSAN JP. Buffering capacity and effects of sodium hexametaphosphate nanoparticles and fluoride on the inorganic components of cariogenic-related biofilms *in vitro*[J]. Antibiotics, 2022, 11(9): 1173.
- [18] WIDYARMAN AS, UDAWATTE NS, THEODOREA

- CF, APRIANI A, RICHI M, ASTOETI TE, SENEVIRATNE CJ. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate fluoride treatment enriches the symbiotic dental plaque microbiome in children[J]. *Journal of Dentistry*, 2021, 106: 103582.
- [19] ANDERSON AC, AL-AHMAD A, SCHLUETER N, FRESE C, HELLOWIG E, BINDER N. Influence of the long-term use of oral hygiene products containing stannous ions on the salivary microbiome: a randomized controlled trial[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 9546.
- [20] 杨素明, 刘诗泽, 陈海峰, 王晓燕. 氟磷灰石晶体膜对变异链球菌早期黏附和生物膜形成的作用[J]. *口腔医学研究*, 2021, 37(3): 208-212.
- YANG SM, LIU SZ, CHEN HF, WANG XY. Effects of regenerated fluorapatite crystal film on early adhesion and biofilm growth of *Streptococcus mutans*[J]. *Journal of Oral Science Research*, 2021, 37(3): 208-212 (in Chinese).
- [21] 潘志红, 曾红雨, 李碧波. 局部用氟对唾液中变形链球菌数量的影响[J]. *广东牙病防治*, 2006, 14(1): 50-51.
- PAN ZH, ZENG HY, LI BB. Effect of local fluoride on the number of *Streptococcus mutans* in saliva[J]. *Journal of Dental Prevention and Treatment*, 2006, 14(1): 50-51 (in Chinese).
- [22] HAMILTON IR. Growth characteristics of adapted and ultraviolet-induced mutants of *Streptococcus salivarius* resistant to sodium fluoride[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 1969, 15(3): 287-295.
- [23] FERNANDES GL, VIEIRA APM, DANELON M, EMERENCIANO NG, BERRETTA AA, BUSZINSKI AFM, HORI JI, de LIMA MHF, dos REIS TF, de LIMA JA, DELBEM ACB, Da SILVA SCM, BARBOSA DB. Pomegranate extract potentiates the anti-demineralizing, anti-biofilm, and anti-inflammatory actions of non-alcoholic mouthwash when associated with sodium-fluoride trimetaphosphate[J]. *Antibiotics*, 2022, 11(11): 1477.
- [24] van LOVEREN C, BUIJS JF, TEN CATE JM. Protective effect of topically applied fluoride in relation to fluoride sensitivity of mutans streptococci[J]. *Journal of Dental Research*, 1993, 72(8): 1184-1190.
- [25] LEE HJ, SONG J, KIM JN. Genetic mutations that confer fluoride resistance modify gene expression and virulence traits of *Streptococcus mutans*[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(4): 849.
- [26] STRECKFUSS JL, PERKINS D, HORTON IM, BROWN LR, DREIZEN S, GRAVES L. Fluoride resistance and adherence of selected strains of *Streptococcus mutans* to smooth surfaces after exposure to fluoride[J]. *Journal of Dental Research*, 1980, 59(2): 151-158.
- [27] BROWN LR, WHITE JO, HORTON IM, DREIZEN S, STRECKFUSS JL. Effect of continuous fluoride gel use on plaque fluoride retention and microbial activity[J]. *Journal of Dental Research*, 1983, 62(6): 746-751.
- [28] CAI YL, LIAO Y, BRANDT BW, WEI X, LIU HY, CRIELAARD W, van LOVEREN C, DENG DM. The fitness cost of fluoride resistance for different *Streptococcus mutans* strains in biofilms[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1630.
- [29] LIAO Y, BRANDT BW, ZHANG M, LI JY, CRIELAARD W, van LOVEREN C, DENG DM. A single nucleotide change in the promoter mutp enhances fluoride resistance of *Streptococcus mutans*[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2016, 60(12): 7509-7512.
- [30] van LOVEREN C, LAMMENS AJ, TEN CATE JM. *In vitro* induced fluoride resistance of *Streptococcus mutans* and dental caries in rats[J]. *Caries Research*, 1989, 23(5): 358-364.
- [31] MITSUHATA C, PUTERI MM, OHARA Y, TATSUKAWA N, KOZAI K. Possible involvement of enolase in fluoride resistance in *Streptococcus mutans*[J]. *Pediatric Dental Journal*, 2014, 24(1): 12-16.
- [32] LU M, XIANG Z, GONG T, ZHOU X, ZHANG Z, TANG B, ZENG J, WANG L, CUI T, LI Y. Intrinsic fluoride tolerance regulated by a transcription factor[J]. *Journal of Dental Research*, 2020, 99(11): 1270-1278.
- [33] LI C, QI C, YANG SR, LI ZY, REN B, LI JY, ZHOU XD, CAI HW, XU X, PENG X. F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATPase contributes to the fluoride tolerance and cariogenicity of *Streptococcus mutans*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 12: 777504.
- [34] BAKER JL, SUDARSAN N, WEINBERG Z, ROTH A, STOCKBRIDGE RB, BREAKER RR. Widespread genetic switches and toxicity resistance proteins for fluoride[J]. *Science*, 2012, 335(6065): 233-235.
- [35] LI SS, SMITH KD, DAVIS JH, GORDON PB, BREAKER RR, STROBEL SA. Eukaryotic resistance to fluoride toxicity mediated by a widespread family of fluoride export proteins[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(47): 19018-19023.

- [36] SINGH P, GUPTA ND, BEY A. Dental fluorosis and periodontium: a game of shadows?[J]. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 2014, 4(1): 47-48.
- [37] CUNHA-CRUZ J, NADANOVSKY P. Dental fluorosis increases caries risk[J]. *The Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 2005, 5(3): 170-171.
- [38] WANG Q, CHEN XL, HU H, WEI XY, WANG XF, PENG ZH, MA R, ZHAO Q, ZHAO JC, LIU JG, DENG FL. Structural changes in the oral microbiome of the adolescent patients with moderate or severe dental fluorosis[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 2897.
- [39] LIU SS, SONG QS, ZHANG CC, LI MW, LI ZZ, LIU YD, XU L, XIE XF, ZHAO LL, ZHANG RX, WANG QL, ZENG GJ, ZHANG YF, ZHANG K. Saliva microbiome alterations in dental fluorosis population[J]. *Journal of Oral Microbiology*, 2023, 15(1): 2180927.
- [40] NORDSTRÖM A, MYSTIKOS C, RAMBERG P, BIRKHED D. Effect on *de novo* plaque formation of rinsing with toothpaste slurries and water solutions with a high fluoride concentration (5 000 ppm)[J]. *European Journal of Oral Sciences*, 2009, 117(5): 563-567.
- [41] XUE VW, YIN IX, NIU JY, LO ECM, CHU CH, ZHAO IS. Effects of a 445 nm diode laser and silver diamine fluoride in preventing enamel demineralisation and inhibiting cariogenic bacteria[J]. *Journal of Dentistry*, 2022, 126: 104309.
- [42] ESTEBAN FLOREZ FL, TROFIMOV AA, IEVLEV A, QIAN S, RONDINONE AJ, KHAJOTIA SS. Advanced characterization of surface-modified nanoparticles and nanofilled antibacterial dental adhesive resins[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 9811.
- [43] HONG Q, PIERRE-BEZ AC, KURY M, CURTIS ME, HIERS RD, ESTEBAN FLOREZ FL, MITCHELL JC. Shear bond strength and color stability of novel antibacterial nanofilled dental adhesive resins[J]. *Nanomaterials*, 2022, 13(1): 1.
- [44] WANG Q, LI PF, TANG PF, GE X, REN FZ, ZHAO CC, FANG J, WANG KF, FANG LM, LI Y, BAO CY, LU X, DUAN K. Experimental and simulation studies of strontium/fluoride-codoped hydroxyapatite nanoparticles with osteogenic and antibacterial activities[J]. *Colloids and Surfaces B, Biointerfaces*, 2019, 182: 110359.
- [45] ESTES BRIGHT LM, GARREN MRS, ASHCRAFT M, KUMAR A, HUSAIN H, BRISBOIS EJ, HANDA H. Dual action nitric oxide and fluoride ion-releasing hydrogels for combating dental caries[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2022, 14(19): 21916-21930.
- [46] ZHENG LY, LI K, NING CQ, SUN J. Study on antibacterial and fluoride-releasing properties of a novel composite resin with fluorine-doped nano-zirconia fillers[J]. *Journal of Dentistry*, 2021, 113: 103772.
- [47] LIN CH, LUAN F, SU SJ, JIANG AL, TAN WQ, GUO ZY. Water-soluble fluorine-functionalized chitooligosaccharide derivatives: synthesis, characterization and antimicrobial activity[J]. *Carbohydrate Research*, 2023, 533: 108935.
- [48] IRSHAD N, JAHANZEB N, ALQASIM A, BOUSALEH R, ALMEHRIJ M, GHAFOR S, NAWAZ M, AKHTAR S, SHAH AT, KHAN AS. Synthesis and analyses of injectable fluoridated-bioactive glass hydrogel for dental root canal sealing[J]. *PLoS One*, 2023, 18(11): e0294446.