

选择性抑制变异链球菌的材料及其研究进展*

翁璐婷^{1,2,3}, 杨德琴^{1,2,3}, 陈亮^{1,2,3△}

1. 重庆医科大学附属口腔医院 牙体牙髓科 (重庆 401147); 2. 口腔疾病与生物医学重庆市重点实验室 (重庆 401147);

3. 重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室 (重庆 401147)

【摘要】 龋病是在以细菌为主的多种因素影响下,牙体硬组织发生慢性进行性破坏的一种疾病。牙菌斑生物膜是龋病发生的关键因素。正常情况下,菌斑内各微生物通过协同、竞争和拮抗作用来保持动态平衡,但当环境发生变化时,生物膜内平衡就会被打破,致龋菌特别是变异链球菌的数量明显增加,导致牙面上大量有机酸生成,牙齿发生脱矿,龋齿形成。因此如何通过选择性抑制变异链球菌进而恢复口腔微生物动态平衡是防治龋病的关键。本文综述了近年来研发的具有选择性抗菌作用材料的研究进展,以期对防治龋病药物的进一步发展提供参考。未来的研究应重点关注机制机理、临床有效性、化学改性以及安全性等几个方面,补充完善相关研究,推进龋病防治药物研发的进程。

【关键词】 变异链球菌 选择性抗菌 特异性靶向抗菌肽 小分子化合物

Materials for Selective Inhibition of *Streptococcus mutans* and Progress in Relevant Research WENG Lu-ting^{1,2,3}, YANG De-qin^{1,2,3}, CHEN Liang^{1,2,3△}. 1. Department of Endodontics, Stomatological Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401147, China; 2. Chongqing Key Laboratory of Oral Diseases and Biomedical Sciences, Chongqing 401147, China; 3. Chongqing Municipal Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Higher Education, Chongqing 401147, China

△ Corresponding author, E-mail: chenliang@hospital.cqmu.edu.cn

【Abstract】 Dental caries is a disease in which chronic progressive destruction of the hard dental tissues occurs under the influence of multiple factors, among which, bacterial infection being the most important one. Dental plaque biofilm is a key factor in the pathogenesis of dental caries. Under normal circumstances, microorganisms within the biofilm maintain a dynamic balance through coordination, competition, and antagonism. However, when the environment changes, the balance in the biofilm will be disrupted, and the number of cariogenic bacteria, especially *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), will increase significantly, thereby causing the production of large amounts of organic acids on the tooth surface, tooth demineralization, and the formation of dental caries. Therefore, finding ways to restore the dynamic balance of oral microorganisms through selective inhibition of *S. mutans* is key to the prevention and treatment of dental caries. Herein, we reviewed the research progress of recent years in the development of materials with selective antibacterial effect, intending to provide references for the further development of drugs for the prevention and treatment of dental caries. Future studies should focus on the following aspects, mechanism, clinical efficacy, chemical modification, and safety, to supplement and make improvements on the existing relevant research, and to promote progress in research and development of drugs for the prevention and treatment of dental caries.

【Key words】 *Streptococcus mutans* Selective antibacterial effect Specifically targeted antimicrobial peptide Small-molecule compounds

龋病是在以细菌为主的多种因素影响下,牙体硬组织发生的慢性进行性破坏的一种疾病。定植于牙菌斑生物膜中的变异链球菌是最主要的致病菌,其致龋的毒力因子主要包括黏附、产酸耐酸、合成胞外多糖、形成生物膜能力以及调控环境的应激机制等^[1-2]。自从20世纪50年代明确了变异链球菌是人类龋病的主要致病菌后,诸多学者从抑制或杀灭变异链球菌药物着手进行了大量研

究,运用抗生素^[3]、氟化物^[4]、免疫制剂^[5]、天然植物提取物^[6]等抗击变异链球菌,这些药物大多具有广谱抗菌活性,虽能杀灭变异链球菌,但也会抑制口腔正常菌群中的有益菌,破坏口腔正常菌群的生态平衡,导致机会致病菌如白色念珠菌(*Candida albicans*)和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的机会感染。因此开发针对变异链球菌的选择性抗菌药物十分有必要,它能够在消除变异链球菌的同时建立健康的口腔生态系统,能长期有效地保护牙齿免受龋病威胁。本文综述了近年来研发的具有选择性抗菌作用材料的研究进展,以期对防治龋病药

* 中国博士后科学基金第68批面上项目(No. 2020M683271)和重庆医科大学未来医学青年创新团队支持计划(No. W0034)资助

△ 通信作者, E-mail: chenliang@hospital.cqmu.edu.cn

物的进一步发展提供参考。

1 小分子化合物

小分子化合物的优点在于具有良好的稳定性、膜通透性和低毒性等。与抗生素通过杀灭细菌阻止生物膜活性的机制不同,小分子化合物能够通过干扰控制生物膜内环境等方式来阻止生物膜形成,从而避免细菌产生耐药性,因此,小分子化合物可作为防治龋病的替代药物^[7]。

1.1 2-氨基咪唑衍生物

2-氨基咪唑(2-aminoimidazole, 2-AI)是天然产物中一类独特的小分子生物碱,其结构中含有密集排布的氮原子,这些小分子大多来源于热带水域的海绵科,在海绵体内作为一种抵御捕食者的化学防御机制^[8]。WORTHINGTON和BRACKETT等^[7,9]的实验证明2-AI衍生物具有抑制革兰阳性菌和革兰阴性菌生物膜活性的作用,属于非杀菌性的生物膜调节化合物,通过扰乱细菌的双重调节系统,影响细菌对周围环境作出反应。目前他们组已经建立了以2-AI结构为中心的抗生物膜小分子库^[10]。

LIU等^[11]对上述2-AI衍生物小分子库中506种化合物进行了筛选,通过结晶紫染色法进行生物膜抑制实验筛选出了8种能够选择性抑制变异链球菌生物膜的分子,这8种分子根据孔板和微孔的编号分别被标记为2A4、2B1、2B5、2B7、3H5、4B9、2D2和2D11。2A4是其中最为有效的抑制剂,其分子结构如图1所示。研究表明,在显著抑制变异链球菌生物膜形成的浓度下,2A4分子对共生菌[血链球菌(*Streptococcus sanguis*)和戈登链球菌(*Streptococcus gordon*)]的生物膜形成没有明显抑制作用。此外,2A4分子显著下调了变异链球菌生物膜形成相关基因*pac*和*gtfB*的表达,而对共生菌相关基因*pac*和*gtfB*未有明显影响。以上结果表明此类化合物具有选择性抑制变异链球菌生物膜活性的功能,但其具体靶向机制尚不明确,LIU等^[11]认为变异链球菌生物膜水通道可能是此类化合物选择性抑制的潜在靶点。

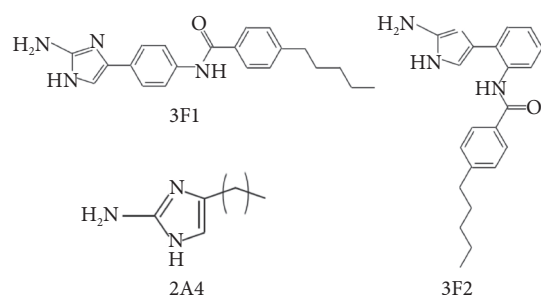


图1 小分子化合物2A4、3F1和结构异构体3F2的化学结构

Fig 1 Chemical structures of small-molecule compounds 2A4, 3F1, and 3F2, a structural analogue of 3F1

GARCIA等^[12]通过生物膜离散实验同样对2-AI衍生物小分子库进行了筛选,鉴定出一种能够特异性离散变异链球菌生物膜的小分子化合物——3F1,其化学结构如图1所示。为了探究3F1化合物的结构对变异生物膜的离散是否具有特异性,课题组合成了1种与3F1结构类似的化合物——3F2。体内和体外研究发现,3F1能够选择性离散变异链球菌生物膜,并且可以有效地维持口腔微生物平衡,预防龋齿,而结构异构体3F2没有此特性。与LIU等^[11]实验中筛选出的小分子化合物所不同的是,3F1不会明显影响基因*pac*和*gtf*表达,对黏附因子Ag I/II和GTF的产生影响较小。目前,3F1化合物对变异链球菌生物膜选择性离散的机制尚不明确,化合物的几何形状和结构在与蛋白质结合中起着关键作用,3F1可能以一种新的生物膜相关蛋白为靶点,抑制变异链球菌与生物膜基质之间的相互作用。

1.2 酶抑制剂类似物

二氢叶酸还原酶(DHFR)在调节叶酸代谢中起着重要作用。因此,DHFR抑制剂常被用作抗癌和抗菌常用药物。ZHANG等^[13]筛选了一个基于DHFR抑制剂三甲曲沙(trimetrexate, TMQ)的类似物小分子库,鉴定出三个能够选择性抑制变异链球菌的化合物——#66、#151和#153,#66是其中最为有效的抑制剂,化学结构如图2所示。研究表明与人二氢叶酸还原酶(hDHFR)相比,该化合物对变异链球菌二氢叶酸还原酶(SmDHFR)有很高的选择性,其对SmDHFR的选择性是TMQ的38倍。此外该化合物在半数抑制浓度(IC_{50})值下对共生链球菌的生长和生物膜形成无抑制作用,而对变异链球菌有明显的抑制作用,以上结果表明该TMQ类似物确实通过靶向DHFR来抑制变异链球菌,但其选择性抑制的机制尚不明确。

葡糖基转移酶(GTFs)是变异链球菌合成的固有酶,可特异性利用蔗糖合成胞外多糖,是变异链球菌致龋毒力因子之一^[14]。黄酮醇是GTFs的抑制剂^[15]。NIJAMPATNAM等^[16]在变异链球菌生物膜实验中筛选了14个黄酮醇的合成前体——查尔酮类化合物。研究发现在A环的第3位带有羟基的查尔酮(化合物7~9)(图3)对变异链球菌具有选择性抑制。在200 μ mol/L时化合物对变异链球菌生物膜的抑制率大于81%,对共生菌(血链球菌和戈登链球菌)生物膜抑制率小于20%。其选择性抑菌机制尚不明确。

综上,目前虽然关于小分子化合物如2-AI衍生物、TMQ类似物、查尔酮化合物等,选择性抑制变异链球菌及其生物膜的研究已经取得了一定进展。但是,所有研究仍停留在实验室研究阶段,离临床应用还具有较

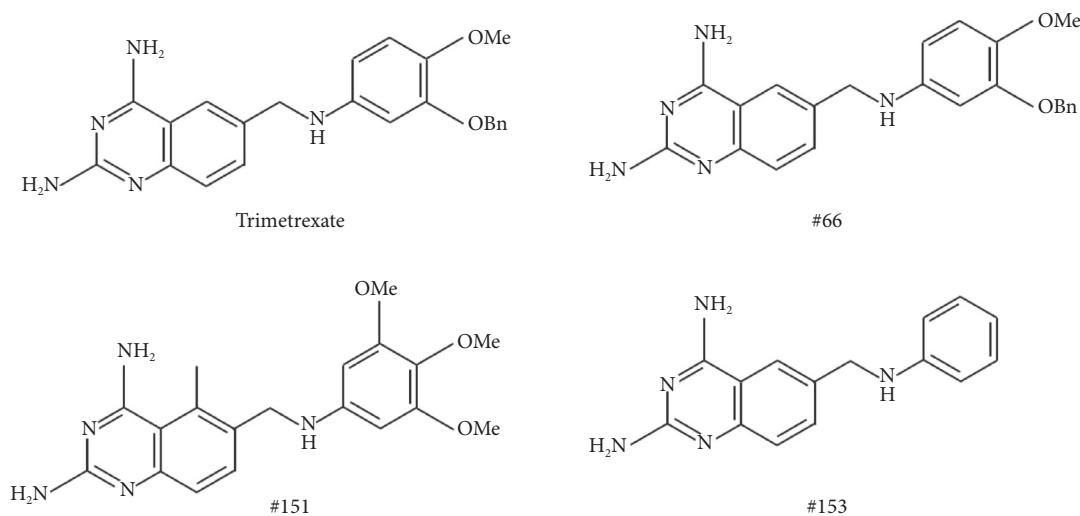


图 2 三甲曲沙和它的类似物#66、#151和#153的化学结构

Fig 2 Chemical structure of trimetrexate (TMQ) and its analogues, #66, #151, and #153

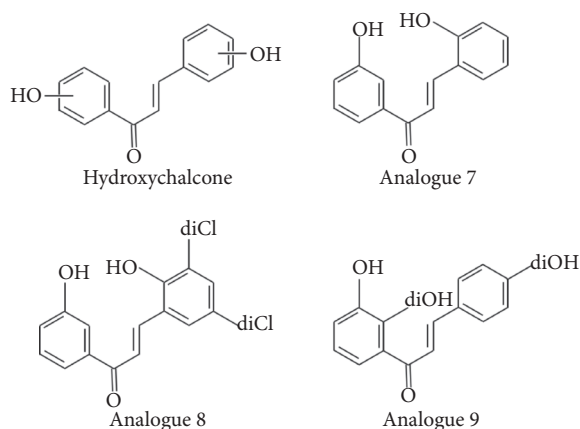


图 3 羟基查尔酮及其类似物7、8和9的化学结构

Fig 3 Chemical structure of hydroxychalcone and its analogues 7, 8 and 9

远的距离。小分子化合物的作用机制、安全性、临床疗效等关键问题尚未明了,这些都限制了小分子化合物的进一步研究和应用。在今后的研究中,学者们有望通过高通量筛选、分子表面改性等手段进一步提升小分子化合物的选择性抑菌作用,为临床应用提供更坚实的理论依据。

2 纳米粒子

纳米粒子是指粒径大小在0.1~100 nm范围内的超微颗粒,在抗菌方面具有表面积大、渗透性好、纳米级别尺寸、发生耐药风险低等优点。至今,已有多种纳米粒子被用作药物载体应用于防龋药物研究,包括纳米粒子、纳米纤维、脂质体、树枝状大分子等,为药物防龋提供了新策略^[17-18]。然而,关于纳米粒子靶向作用的研究主要集中在对牙体硬组织和修复材料表面的靶向粘附作用,针对

变异链球菌靶向抑制的报道则相对较少。近年来,一种超顺磁氧化铁纳米粒子Ferumoxytol开始受到学者们越来越多的关注,它具有典型的核壳结构,核心为 Fe_3O_4 ,外层为羧甲基右旋糖苷,粒径约为30 nm。目前该药品已被美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于治疗慢性缺铁性疾病^[19]。与传统广谱金属纳米粒子广谱抗菌性不同,LIU等^[20]研究表明Ferumoxytol对变异链球菌具有选择性抑制作用,对其他共生链球菌影响较小。其可能的作用机制如下:变异链球菌表面高度表达的葡聚糖结合蛋白(GbpA和GbpC)与Ferumoxytol表面修饰物右旋糖苷结合,使变异链球菌更容易与Ferumoxytol纳米粒子结合;在酸性环境下,Ferumoxytol纳米粒子通过催化过氧化氢产生活性氧(ROS)来杀灭变异链球菌。此外,由于Ferumoxytol可以将无色的3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)氧化成蓝色的反应产物,因此可用来进行变异链球菌生物膜检测。

Ferumoxytol由于同时具有补铁和选择性抗菌功能在治疗慢性缺铁性疾病协同口腔防龋方面具有广阔的前景,但是反复局部并全身应用Ferumoxytol的临床疗效以及对生物安全性的影响还需要进一步临床研究。此外,通过化学改性来增强Ferumoxytol防龋作用也是目前研究的另一热点,例如利用葡聚糖涂层或生物制剂(酶或抗菌肽)增强催化能力等^[21-22]。

尽管通过分子合成技术,研究者可以将不同的生物分子用于修饰纳米粒子表面,如抗体、适配体、多肽和小分子等,从而实现纳米粒子对目标的靶向作用。但目前特异性抗变异链球菌方面,尚未见相关报道,并且这种方法存在修饰分子设计难度大,所需化学合成技术繁琐、

效率低、成本高等问题。除此之外, 尽管体外、体内实验已证实纳米粒子可以具有较好的生物安全性, 但是对于纳米粒子在生物体内长期应用的安全性至今仍未有明确结论。这些问题都有待进一步研究解决, 才能设计出更加安全有效的纳米粒子, 为临床上药物防龋带来新的替代方法。

3 特异性靶向抗菌肽 (STAMPs) —— C16G2

抗菌肽是一类由生物体产生的用于对抗外界感染物质的多肽类物质及其衍生物, 广泛存在于各种生物中。近年来, 越来越多的学者开始关注抗菌肽在龋病防治中的作用。其优点在于种类繁多、来源广泛、不易产生耐药性, 同时具有广谱的抗菌活性, 对多种口腔病原菌具有抑制作用。缺点在于广谱抗菌作用会破坏口腔微环境内生态平稳, 导致局部菌群失调, 机会性感染增加^[23]。因此, 对抗菌肽进行改性设计, 从而增加其对目标病原菌的靶向性, 已成为目前抗菌肽防龋研究的热点之一。

特异性靶向抗菌肽(STAMPs)由靶向肽片段(KH)、广谱抗菌肽片段(AMP)和(或)连接体组成。针对变异链球菌的STAMPs的KH区域主要是变异链球菌感受态刺激肽(CSP), CSP是变异链球菌密度感应系统组成成分之一, 它能够与细胞膜上组氨酸激酶受体ComD结合, 进行信号分子的传递和诱导, 调节细菌基因的表达、细菌内酶的释放和毒力因子的产生, 调控微生物群体的生理过程^[24-25]。研究表明, STAMPs特异性与变异链球菌特异性结合并不依赖于ComD受体, 而是在CSP片段与ComD受体相互作用之前, 与细菌表面另一种受体(脂质、碳水化合物、蛋白质)结合, 但具体机制尚不清楚^[26]。AMP区域是生物体免疫系统产生的一类抵抗外界病原体感染的多肽类及其衍生物, 其种类繁多, 来源广泛, 且具有高效广谱的抗菌活性, 大量抗菌肽如nisin^[27]、Pep19-4LF^[28]和GH12^[29]已被证实对变异链球菌具有强大的抑制作用, 并且研究表明一些抗菌肽如GH12还能够在不干扰牙菌斑正常微生物群的情况下, 抑制牙菌斑的致龋特性^[30]。连接体区域通常由柔性氨基酸, 如甘氨酸和丝氨酸组成。它能够连接两个功能区域, 避免由于氨基酸的相互作用干扰两个独立的功能区发挥作用, 但KH和AMP区域之间是否需要连接体, 应根据实际选用的KH和AMP决定^[31]。

C16G2是首例报道的变异链球菌特异性靶向抗菌肽, 它是由变异链球菌CSP C端16个氨基酸序列组成的靶向结构域、抗菌肽novispirinG10的16个残基片段组成的“G2”抗菌域和3个甘氨酸(-GGG-)组成的连接域构成^[26]。

C16G2是一种两亲性阳离子 β 螺旋肽, 其抗菌机制与传统抗菌肽类似, C16G2利用静电作用吸附于带负电的细菌细胞壁表面, 其疏水端与胞膜磷脂分子的疏水头基结合并插入到细胞膜中, 亲水部分与胞膜磷脂结合构成通道内壁, 从而形成跨膜通道, 破坏细菌细胞膜的完整性, 导致细胞内容物外流, 胞内渗透压改变, 细菌死亡^[32]。

处于生物膜状态下的细菌对抗生素的耐药性要高出浮游细菌100到1000倍^[33]。研究显示, C16G2对浮游状态下和生物膜状态下变异链球菌都具有强大的选择性抑制作用^[26]。GUO等^[34]进一步研究了C16G2的抗菌特异性, 扩大了测试菌种的范围, 他们采用了一个包含100多种微生物, 接近人类口腔微生物组多样性和整体代谢功能的唾液体外模型, 在一个群落中检测了C16G2对变异链球菌的选择性抗菌活性, 探究了选择性清除变异链球菌对多种口腔微生物群落整体结构的影响。口腔生态系通过细菌间的协同、竞争和拮抗来维持动态平衡, 因此一个或几个细菌种群的消失可能会潜在地影响其他细菌物种的生长, 并导致生态系内微生物组成的整体转移^[35]。研究表明经C16G2处理后, 口腔链球菌属中变异链球菌群丰度下降, 轻链球菌群包括轻链球菌(*Streptococcus mitis*)、嗜链球菌(*Streptococcus cristatus*)、口腔链球菌(*Streptococcus oralis*)、血链球菌等丰度增加。变异链球菌群与轻链球菌群, 特别是与血链球菌和戈登链球菌有相互拮抗的作用, 如变异链球菌的杀菌素——变链素能杀伤与其共生的血链球菌。因此变异链球菌群数量降低, 能增强轻链球菌群的生长优势^[36]。此外, C16G2还能诱导口腔生态系总体微生物群发生显著变化, C16G2处理后的口腔生态系微生物多样性降低。许多革兰氏阴性菌, 如韦荣菌属(*Veillonella*)的丰度急剧下降, 牙周梭杆菌属(*Fusobacterium periodonticum*)、弯曲菌属(*Campylobacter*)、孪生球菌属(*Gemella*)、奈瑟菌属(*Neisseria*)等在口腔生态系中丰度降低, 低于5%。这一结果可能与C16G2的非特异性抗菌作用和变异链球菌属丰度降低相关。例如, 变异链球菌的代谢产物乳酸是韦荣菌生长所必需的, 因此, 变异链球菌属数量的减少会对韦荣菌的生长产生负面影响。轻链球菌属丰度的增加使得微环境中产生过量过氧化氢, 从而对革兰氏阴性菌如梭杆菌属、弯曲菌属等产生抑制作用^[37]。以上研究表明, C16G2可通过选择性杀灭变异链球菌, 逆转因变异链球菌过度生长而导致的口腔微生物失调, 实现龋病的精准防控。

SULLIVAN等^[38]评估了C16G2的体内和临床疗效, 发现C16G2具有良好的生物相容性, 其安全治疗浓度为25 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$, 在此浓度范围下C16G2对颊和牙龈组织几乎

无毒性。其次, C16G2在1×PBS和唾液中都具有良好的稳定性, 在4℃下能够过夜保存。此外, 本实验还进一步体内验证了C16G2漱口液对变异链球菌的选择抑制作用, 并且发现它对预防牙釉质脱矿具有显著作用。

经过前期广泛的基础实验, C16G2已通过FDA审批进入临床I期试验。临床I期试验重点评估了C16G2的安全性以及临床效用, 共有127名受试者参加了研究。研究者们将C16G2应用于漱口水、口腔凝胶和清漆中, 发现其中C16G2清漆临床效果较好, 并且未有不良反应的报道。该C16G2清漆类似于牙医通常使用的含氟清漆, 特别适合于龋高危人群。目前, C16G2的临床I期试验已结束, 临床II期试验正在进行中^[39]。

以C16G2为代表的靶向变异链球菌的STAMP是目前研究较为深入, 技术较为成熟的选择性抗菌系统, 是龋病精准防治领域的巨大进步, 有望代替广谱抗生素在临床上的应用。另外, STAMP技术不仅仅限于调节口腔微生态, 它可以扩展到其他复杂的微生物群落, 如胃肠道微生物菌群。目前, 靶向大肠杆菌^[40]、幽门螺杆菌^[41]、粪肠球菌^[42]、铜绿假单胞菌^[43]、金黄色葡萄球菌^[44]等细菌的抗菌肽已被研发出来, 但由于生产成本低、合成不稳定、生物安全性等问题, 它们在临床上的发展与应用受到限制, 需要进一步的探索与研究。

4 益生菌

大部分口腔微生物都是条件致病菌。当口腔内微生态长期受到一定条件刺激, 例如长期高糖饮食时, 就会导致变异链球等致龋菌逐渐成为优势菌, 口腔微生态平衡被打破, 如果这种平衡破坏一直得不到改善, 就会导致龋病的发生。益生菌是一类可以通过调节微生态平衡维持或改善人体健康的微生物。因此益生菌在平衡口腔微生态系统, 预防龋病发生发展方面具有较大的潜力。研究证实口腔益生菌可以通过抑制致龋菌的生长、致龋生物膜形成等机制发挥防龋作用, 其安全性也是得到长期临床研究数据的支持^[45-47]。近年来, 在特异性抑制变异链球菌方面, 乳酸杆菌的作用开始受到学者们的关注。

乳酸杆菌是一类革兰阳性兼性厌氧菌, 是人类常驻菌群的重要成员, 广泛分布于人体消化道、泌尿系统及生殖系统。乳酸杆菌可以与变异链球菌结合或阻止变异链球菌的定植, 起着占位、争夺营养或拮抗作用, 从而抑制变异链球菌生物膜的形成, 降低患龋风险^[48]。LANG等^[49]通过对642株乳酸杆菌菌株进行筛选, 发现有6株乳酸杆菌能够在体外与变异链球菌发生特异性共聚集, 这6株菌株均属于副干酪乳杆菌和鼠李糖乳杆菌, 其中以副干酪

乳杆菌DSMZ16671为典型, 这种特异性的共聚集为钙依赖性的, 并且不受新鲜唾液、pH值、高温、蛋白酶、蔗糖或者其他糖替代品的影响。但其机制机理尚不明确, 可能与外膜表面组分有关^[50]。以此为基础, TANZER等^[47]进一步对高温灭活的DSMZ16671在体内的抗菌效果进行检测, 研究发现饮食中加入高温灭活的DSMZ16671能够明显抑制大鼠口腔内变异链球菌菌群的恢复, 并且毒理学检测显示灭活的DSMZ16671不具有明显的毒性和致突变性, 证明高温灭活的DSMZ16671安全有效。为达到临床应用要求, 研究者们还需对DSMZ16671进行更多试验来确定菌株的防龋效果、安全性、最适剂量以及最佳摄入方式等问题。

虽然益生菌在靶向抗变异链球菌研究方面取得一定的进展。但是, 研究证实益生菌的抗菌性质具有菌株特异性, 即使同一菌种, 不同菌株的抗菌特殊也会有较大差异, 因此需要大量的筛选和研究才能确定真正有益的菌株。此外, 目前已面世的益生菌类产品, 都需要人体多次、重复、长期使用才能发挥作用。而且, 益生菌也存在导致机体产生不良反应, 甚至感染的可能。所以, 这些都阻碍了益生菌在防治龋病方面进一步的发展, 需要更深入的研究。

5 总结与展望

龋病与口腔常驻菌群在致病条件下过度生长, 导致口腔微生态失衡进而导致机会致病密切相关。选择性抑制引起口腔微生态失衡的相关细菌, 是恢复口腔微生态平衡, 实现龋病精准治疗的有效途径。STAMPs是目前研究较为深入, 技术较为成熟的选择性抗菌系统, 是龋病精准防治领域的巨大进步, 但是其生产成本低、合成不稳定、合成率低、潜在生物安全性问题等缺点限制了它在临床上的发展与应用, 因此进一步探寻具有选择性抑制变异链球菌作用的材料及特异性识别位点, 对推动选择性抗菌技术在龋病防治方面的发展具有重要意义。相信在不久的将来通过人们对选择性抗菌技术进一步探索与研究, 更新型、更适合龋病防治的药物将会诞生, 会给口腔医学带来更美好的明天。

* * *

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] KOO H, FALSETTA M, KLEIN M. The exopolysaccharide matrix: A virulence determinant of cariogenic biofilm. *J Dent Res*, 2013, 92(12): 1065-1073.

- [2] LIN Y, ZHOU X, LI Y. Strategies for *Streptococcus mutans* biofilm dispersal through extracellular polymeric substances disruption. *Mol Oral Microbiol*, 2021, 37(1): 1–8.
- [3] GAD EL-RAB S, ASHOUR A, BASHA S, *et al.* Well-orientation strategy biosynthesis of cefuroxime-silver nanoantibiotic for Reinforced BiodentineTM and its dental application against *Streptococcus mutans*. *Molecules* (Basel, Switzerland), 2021, 26(22): 6832[2022-02-15]. <https://doi.org/10.3390/molecules26226832>.
- [4] HOSIDA T, PESSAN J, CAVAZANA T, *et al.* Effect of sodium hexametaphosphate and fluoride on dual-species biofilms of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. *Biofouling*, 2021: 1–10[2022-02-15]. <https://doi.org/10.1080/08927014.2021.19168>.
- [5] NAKAMURA T, IWABUCHI Y, HIRAYAMA S, *et al.* Roles of membrane vesicles from *Streptococcus mutans* for the induction of antibodies to glucosyltransferase in mucosal immunity. *Microb Pathog*, 2020, 149: 104260[2021-09-05]. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104260>.
- [6] NOWACZYK P, BAJERSKA J, LASIK-KURDYŚ M, *et al.* The effect of cranberry juice and a cranberry functional beverage on the growth and metabolic activity of selected oral bacteria. *BMC Oral Health*, 2021, 21(1): 660.
- [7] WORTHINGTON R, RICHARDS J, MELANDER C. Small molecule control of bacterial biofilms. *Org Biomol Chem*, 2012, 10(37): 7457–1474.
- [8] SEIPP K, GESKE L, OPATZ T. Marine pyrrole alkaloids. *Mar Drugs*, 2021, 19(9): 514.
- [9] BRACKETT S, COX K, BARLOCK S, *et al.* Meridianin D analogues possess antibiofilm activity against *Mycobacterium smegmatis*. *RSC Med Chem*, 2020, 11(1): 92–97.
- [10] RICHARDS J, MELANDER C. Synthesis of a 2-aminoimidazole library for antibiofilm screening utilizing the Sonogashira reaction. *J Orgchem*, 2008, 73(13): 5191–5193.
- [11] LIU C, WORTHINGTON R, MELANDER C, *et al.* A new small molecule specifically inhibits the cariogenic bacterium *Streptococcus mutans* in multispecies biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(6): 2679–2687.
- [12] GARCIA S, BLACKLEDGE M, MICHALEK S, *et al.* Targeting of *Streptococcus mutans* biofilms by a novel small molecule prevents dental caries and preserves the oral microbiome. *J Dent Res*, 2017, 96(7): 807–814.
- [13] ZHANG Q, NGUYEN T, MCMICHAEL M, *et al.* New small-molecule inhibitors of dihydrofolate reductase inhibit *Streptococcus mutans*. *Int J Antimicrob Agents*, 2015, 46(2): 174–182.
- [14] MA Q, PAN Y, CHEN Y, *et al.* Acetylation of glucosyltransferases regulates *Streptococcus mutans* biofilm formation and virulence. *PLoS Pathog*, 2021, 17(12): e1010134[2022-02-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010134>.
- [15] LOBO C, LOPES A, KLEIN M. Compounds with distinct targets present diverse antimicrobial and antibiofilm efficacy against *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*, and combinations of compounds potentiate their effect. *J Fungi* (Basel), 2021, 7(5): 340.
- [16] NIJAMPATNAM B, CASALS L, ZHENG R, *et al.* Hydroxychalcone inhibitors of *Streptococcus mutans* glucosyl transferases and biofilms as potential anticaries agents. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(15): 3508–3513.
- [17] DE SOUSA F F, FERRAZ C, RODRIGUES L K, *et al.* Nanotechnology in dentistry: Drug delivery systems for the control of biofilm-dependent oral diseases. *Curr Drug Deliv*, 2014, 11(6): 719–728.
- [18] ALLAKER R. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. *J Dent Res*, 2010, 89(11): 1175–1186.
- [19] LIU Y, NAHA P, HWANG G, *et al.* Topical ferumoxyl nanoparticles disrupt biofilms and prevent tooth decay *in vivo* via intrinsic catalytic activity. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2920.
- [20] LIU Y, HUANG Y, KIM D, *et al.* Ferumoxyl nanoparticles target biofilms causing tooth decay in the human mouth. *Nano Lett*, 2021, 21(22): 9442–9449.
- [21] HUANG Y, LIU Y, SHAH S, *et al.* Precision targeting of bacterial pathogen via bi-functional nanozyme activated by biofilm microenvironment. *Biomaterials*, 2021, 268: 120581[2022-02-15]. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120581>.
- [22] NAHA P, LIU Y, HWANG G, *et al.* Dextran-coated iron oxide nanoparticles as biomimetic catalysts for localized and pH-activated biofilm disruption. *ACS Nano*, 2019, 13(5): 4960–4971.
- [23] 霍丽珺, 凌均荣. 特异性靶向抗菌肽的抗变异链球菌作用. *国际口腔医学杂志*, 2009, 36(5): 550–553.
- [24] HWANG I, LEE H, HUANG J, *et al.* Engineering microbes for targeted strikes against human pathogens. *Cell Molec Life Sci*, 2018, 75(15): 2719–2733.
- [25] EVEN-TOV E, BENDORI S, VALASTYAN J, *et al.* Social evolution selects for redundancy in bacterial quorum sensing. *PLoS Biol*, 2016, 14(2): e1002386[2022-02-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002386>.
- [26] ECKERT R, HE J, YARBROUGH D, *et al.* Targeted killing of *Streptococcus mutans* by a pheromone-guided "smart" antimicrobial peptide. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(11): 3651–3657.
- [27] ZHAO M, QU Y, LIU J, *et al.* A universal adhesive incorporating antimicrobial peptide nisin: Effects on *Streptococcus mutans* and saliva-derived multispecies biofilms. *Odontology*, 2020, 108(3): 376–385.
- [28] JANNADI H, CORREA W, ZHANG Z, *et al.* Antimicrobial peptides Pep19–2.5 and Pep19–4LF inhibit *Streptococcus mutans* growth and biofilm formation. *Microb Pathog*, 2019, 133: 103546[2022-02-15]. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103546>.
- [29] JIANG W, WANG Y, LUO J, *et al.* Effects of antimicrobial peptide GH12 on the cariogenic properties and composition of a cariogenic multispecies biofilm. *Appl Environ Microbiol*, 2018, 84(24): e01423-18[2022-02-15]. <https://doi.org/10.1128/AEM.01423-18>.
- [30] JIANG W, WANG Y, LUO J, *et al.* Antimicrobial peptide GH12 prevents dental caries by regulating dental plaque microbiota. *Appl Environ Microbiol*, 2020, 86(14): e00527–20[2022-02-15]. <https://doi.org/10.1128/AEM.00527-20>.

- org/10.1128/AEM.00527-20.
- [31] MUHLE S, TAM J. Design of Gram-negative selective antimicrobial peptides. *Biochemistry*, 2001, 40(19): 5777–5785.
- [32] KAPLAN C, SIM J, SHAH K, *et al.* Selective membrane disruption: Mode of action of C16G2, a specifically targeted antimicrobial peptide. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(7): 3446–3452.
- [33] DONLAN R, COSTERTON J. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*, 2002, 15(2): 167–193.
- [34] GUO L, MCLEAN J, YANG Y, *et al.* Precision-guided antimicrobial peptide as a targeted modulator of human microbial ecology. *Proc Natl Acad*, 2015, 112(24): 7569–7574.
- [35] 陈婧, 程磊, 周学东, 等. 龋病微生物因素研究进展. *华西口腔医学杂志*, 2018, 36(1): 104–108.
- [36] NIZHARADZE N, MAMALADZE M. Caries genesis in the era of "omics". *Georgian Med News*, 2021, 316–317: 64–69[2022-02-15]. https://geomednews.com/Articles/2021/7-8_2021/64-69.
- [37] YANG K, WANG Y, ZHANG S, *et al.* Oral microbiota analysis of tissue pairs and saliva samples from patients with oral squamous cell carcinoma--A pilot study. *Front Microbiol*, 2021, 12: 719601[2022-02-15]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.719601>.
- [38] SULLIVAN R, SANTARPIA P, LAVENDER S, *et al.* Clinical efficacy of a specifically targeted antimicrobial peptide mouth rinse: Targeted elimination of *Streptococcus mutans* and prevention of demineralization. *Caries Res*, 2011, 45(5): 415–428.
- [39] BAKER J, HE X, SHI W. Precision reengineering of the oral microbiome for caries management. *Adv Dent Res*, 2019, 30(2): 34–39.
- [40] TOUTI F, LAUTRETTE G, JOHNSON K, *et al.* Antibody-bactericidal macrocyclic peptide conjugates to target gram-negative bacteria. *Chembiochem*, 2018, 19(19): 2039–2044.
- [41] XIONG M, BAO Y, XU X, *et al.* Helicobacter pylori Selective killing of with pH-responsive helix-coil conformation transitionable antimicrobial polypeptides. *Proc Natl Acad*, 2017, 114(48): 12675–12680.
- [42] QIU X, ZHANG J, WANG H, *et al.* A novel engineered peptide, a narrow-spectrum antibiotic, is effective against vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(3): 1184–1189.
- [43] ZHU X, SHAN A, MA Z, *et al.* Bactericidal efficiency and modes of action of the novel antimicrobial peptide T9W against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(6): 3008–3017.
- [44] MCCARTHY K, KELLY M, LI K, *et al.* Phage display of dynamic covalent binding motifs enables facile development of targeted antibiotics. *J Am Chem Soc*, 2018, 140(19): 6137–6145.
- [45] ROSSONI R, VELLOSO M, DE BARROS P, *et al.* Inhibitory effect of probiotic *Lactobacillus* supernatants from the oral cavity on *Streptococcus mutans* biofilms. *Microb Pathog*, 2018, 123: 361–367[2022-02-15]. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.07.032>.
- [46] WASFI R, ABD EL-RAHMAN O, ZAFER M, *et al.* Probiotic *Lactobacillus* sp. inhibit growth, biofilm formation and gene expression of caries-inducing *Streptococcus mutans*. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(3): 1972–1983.
- [47] TANZER J, THOMPSON A, LANG C, *et al.* Caries inhibition by and safety of *Lactobacillus paracasei* DSMZ16671. *J Dent Res*, 2010, 89(9): 921–926.
- [48] CIANDRINI E, CAMPANA R, BAFFONE W. Live and heat-killed *Lactobacillus* spp. interfere with *Streptococcus mutans* and *Streptococcus oralis* during biofilm development on titanium surface. *Arch Oral Biol*, 2017, 78: 48–57[2022-02-15]. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.02.004>.
- [49] LANG C, BÖTTNER M, HOLZ C, *et al.* Specific *Lactobacillus*/Mutans *Streptococcus* co-aggregation. *J Dent Res*, 2010, 89(2): 175–179.
- [50] DING Q, SUN X, CAO S, *et al.* Heat-killed *Lactobacillus acidophilus* mediates *Fusobacterium nucleatum* induced pro-inflammatory responses in epithelial cells. *FEMS Microbiol Lett*, 2021, 368(5): fnaa160[2022-02-15]. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa160>.

(2022-01-04收稿, 2022-05-25修回)

编辑 吕 熙