

细菌在菌斑形成及致病过程中的相互作用

高哲丰, 雷雅燕, 孙宇, 李丹薇, 和红兵

(昆明医科大学附属口腔医院牙体牙髓科, 云南昆明 650100)

[摘要] 牙菌斑是导致众多口腔疾病的主要因素, 在龋病、牙周病和牙髓疾病中都可以发现由多种细菌组成的菌斑结构。这些菌斑结构及其复杂, 具有丰富的多样性和高度的细菌密度, 称它为牙菌斑生物膜。牙菌斑生物膜中的细菌同其他生物一样可以感知生存环境并与其他细菌进行交流互动, 以此提高对微环境的适应能力和毒力。细菌之间的相互作用包括: 物理和营养协同作用, 拮抗作用, 细胞间通讯和基因转移。就龋病发生过程中菌斑内细菌间相互作用研究进展作一综述。

[关键词] 菌斑生物膜; 细菌; 相互作用

[中图分类号] R781.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2021)07-0150-07

The Interaction of Bacteria in the Process of Plaque Formation and Pathogenicity

GAO Zhe-feng, LEI Ya-yan, SUN Yu, LI Dan-wei, HE Hong-bing

(Dept. of Endodontics, The Affiliated Stomatological Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650100, China)

[Abstract] Dental plaque is the main factor leading to a variety of oral diseases. In oral diseases, periodontal disease, and pulp tissue, we can find plaque structures composed of a variety of bacteria. These plaque structures are extremely complex, with rich differences and a high degree of bacterial density, and we call them plaque biofilms. The bacteria in the plaque biofilm, like other organisms, can sense the living environment and interact with other bacteria, thereby improving the adaptability and virulence to the microenvironment. Bacterial interactions include: physical and nutritional synergies, inhibition of resistance, intercellular communication, and gene transfer. Here are the latest advances in bacterial interactions during caries.

[Key words] Plaque biofilm; Bacteria; Interactions

据文献报道, 细菌及真菌生物膜导致的感染占有所有感染的 65%, 其中包括心内膜炎、牙周炎、中耳炎等疾病^[1]。在口腔生物膜中至少生活着 700 种微生物^[2], 它们与龋病、牙周病等口腔疾病都有着密切关系。牙菌斑是一种附着于牙齿表面的微生物生物膜, 当生物膜动态平衡出现紊乱时, 附着在龈上的牙菌斑可以导致牙齿的脱矿, 龋齿的形成^[3], 而在牙周袋内的菌斑生物膜和免疫系统的改变则可引起牙槽骨的丧失, 牙周病的

发生^[2]。牙菌斑生物膜具有丰富的细菌多样性和高度细菌密度的复杂结构, 它的形成有助于保护其中的细菌抵抗外界不良因素、促进细菌间的协同作用和形成群体感应系统等, 从而使它们具有更高的毒力和环境适应能力。而在生物膜组成细菌的选择上主要通过“先锋菌”选择有利于自身的“合作伙伴”来构建稳定的生态群落^[4]。正是由于细菌之间复杂的相互作用, 使得同一个体牙齿上相邻结构的牙菌斑的组成也大不相同^[1]。因

[收稿日期] 2021-04-15

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81660184)

[作者简介] 高哲丰(1993~), 男, 山西太原人, 在读硕士研究生, 主要从事牙体牙髓病相关工作。

[通信作者] 和红兵, E-mail: 1320058043@qq.com

此, 研究生物膜的构成以及细菌间的相互作用有助于了解口腔疾病的发生和发展过程。

1 牙菌斑生物膜的结构及形成过程

牙菌斑生物膜是由链球菌、乳酸杆菌、放线菌等微生物与胞外聚合物组成的三维立体结构黏附、定值于牙面^[5], 利用激光共聚焦显微镜可以观察到其中包含不均质性的蘑菇样微生物群落^[6]。生物膜内部存在空腔和管道系统, 为摄取营养物质和代谢物排放提供条件^[5]。菌斑内的细菌是高度结构化的组合, 丝状菌和杆状菌垂直牙面向外生长, 连续排列在斑块的低端到尖端, 而球菌只存在于它们的尖端从而形成玉米棒或者麦穗样结构, 这样的结构更有利于菌斑的附着和营养物质代谢^[7-8]。目前, 多位国内外学者应用多重荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 技术成功的观察到牙菌斑生物膜中位于底层和中间层的细菌密度高于顶层, 同时由于管道系统分布特点和唾液中抗菌成分的存在, 顶层和底层主要以死菌为主, 而中间层则以活菌为主^[5]。细菌为了抵抗环境变化分泌胞外聚合物 (extracellular polymeric substances, EPS), 胞外多糖是其主要成分。作为形成生物膜的关键结构, 大量的水不溶性多糖构成细菌生长的外环境帮助细菌抵抗外界不利因素, 同时所形成的网状结构可以帮助细菌摄取周围营养物质, 维持新陈代谢^[9], 此外它还可以形成多种细菌结构和协助细菌运动^[10]。同一种细菌为了适应不同的环境可分泌不同的胞外聚合物。Rabin 等^[11]发现, 铜绿假单胞菌形成生物膜所需藻酸盐、Pel 和 Psl 这 3 种胞外多糖, Man-1-P 是 3 种胞外多糖合成的共同的中间介质所以它的生物膜成分将相互影响, 当一种成分增多时剩下两种成分必然减少, 同时单藻酸盐这一种胞外多糖就有 24 个基因控制着它的合成和分泌, 所以胞外聚合物不是一成不变的而是基于参与细菌和环境变化等因素下的动态结构^[12]。

在口腔中的细菌为了获得更高浓度的营养物质、促进自身的遗传交换和自我保护会选择附着于牙齿表面。当细菌距离牙齿表面 10~20 nm 时细菌的氢键、疏水作用、静电相互作用以及鞭毛的动力可以抵消自身所带电荷的排斥力, 当小于 5 nm 时特定的黏附受体可以增强黏附^[13]。最先黏附于牙面的血链球菌、变异链球菌, 戈登链球菌等^[14-15], 它们可以与获得性薄膜中的互补受体唾

液酸化粘蛋白, 富含脯氨酸蛋白, α -淀粉酶, 唾液凝集素和细菌细胞片段相结合, 形成早期定值于牙面的“先锋菌”, 而那些晚期定值于牙面的细菌种类很大程度取决于这些“先锋菌”。细菌之间的共聚不同于在遗传上相同的细胞之间发生的聚集和通过细胞与可溶性分子 (例如抗体) 的相互作用的细胞凝集, 大多数共聚在不同属的细菌之间发生。在此过程中, 链球菌表现出广泛的内部共聚合作用 (例如戈登氏链球菌和口腔链球菌) 和种内伙伴关系 (例如戈登氏链球菌 DL1 和戈登氏链球菌 38), 每种细菌菌株在伙伴关系中也会表现出特异性, 例如一些链球菌能够与某些韦荣球菌共聚, 而其他链球菌不能与那些韦荣球菌共聚, 但与另一组为荣球菌凝聚^[11, 16]。当然不同属的细菌在对“栖息地”的选择上也表现出了特异性, 例如变异链球菌大多存在于牙齿的咬合面上而血链球菌大多存在于牙齿的光滑面上^[17]。

当细菌完成了对牙面最初的黏附后, 就会通过信号传导调整细菌的基因表达, 以此改变生物膜的生理特征, 快速适应周围环境变化^[6]。李雨庆等^[18]发现在变异链球菌和牙龈卟啉单胞菌等口腔细菌中都可以发现含有环状二鸟苷酸 GMP (c-di-GMP) 合成酶的基因, c-di-GMP 作为细菌的第二信使已被证明对多种不同细菌种类中 EPS 产生的调节具有重要意义^[19]。Hengge 等^[20-22]发现全基因组测序显示 GGDEF 和 EAL 结构域在细菌中普遍存在且具有合成和降解 c-di-GMP 的能力从而控制感知和响应环境信号并调节表型输出控制不同细菌物种中的生物膜形成。生物膜的形成也和群体感应系统 (quorum sensing, QS) 有着紧密的联系。QS 信号分子在结构上具有较低的分子量, 包括酰基高丝氨酸内酯 (AHL), 呋喃糖基硼酸酯二酯 (AI-2), 顺式不饱和脂肪酸 (DSF 家族信号) 和肽^[23]。其中自动诱导物 (AI-2) 是由多种细菌产生的 Luxs 酶产生的, 参与细菌调节和细胞膜的形成^[24]。He 等^[25]发现, 构建 Luxs 过表达的变异链球菌和 Luxs 缺陷的变异链球菌与野生的变异链球菌分别和嗜酸乳杆菌形成生物膜然后在 12 h 和 24 h 进行厚度的比较, 发现过表达菌株生物膜明显增厚且与生物膜相关基因明显上调而基因缺陷菌株生物膜明显变薄与生物膜形成相关基因发生下调。

2 细菌在生物膜中基因的转移

在微生物种类丰富的口腔中, 由于牙菌斑生

物膜的形成可以提高质粒稳定性和控制宿主范围,所以可更好调节和发展他们的基因组内容和潜力,使生物膜中基因转移率明显高于浮游细胞。细菌间的相互作用通过交换遗传物质,获得新的生物学特性^[26],对生物膜的生理和进化具有重要作用。通过多种细菌基因组测序发现,菌斑生物膜中的细菌通过紧密接触可以促进他们之间的基因交换^[11],此过程称为基因的水平转移^[27]。水平基因转移机制包括转化、缀合和转导以及最近描述的囊泡介导的基因转移机制^[28],细胞可以通过直接的接触、DNA 结合质粒或噬菌体感染等方法进行转移^[26]。为了长期存在于细胞基因组中并表达产生表型以建立选择优势,受体细胞会通过细胞膜转运由供体释放的 DNA 并使其参与细胞分裂期的复制,对环境变化产生积极反馈,形成对生物有利的表型。同时水平基因转移机制可以把原本无法整合到生物膜上的基因瞬时转移到已建立的口腔生物膜的细菌上,使基因来源已经消失的基因任然可以长时间存在于口腔中^[28]。实验证明能够进行自然遗传转化的细菌就有能力从周围吸收裸露的 DNA,感受肽链球菌产生溶菌细胞壁水解酶,导致一部分非感受肽链球菌溶解并释放可以被接受的同源基因,为了防止裸露 DNA 被核酸脱氢酶溶解要求需要细菌之间有非常近的距离才能完成^[29-30]。Richards 等^[31]对链球菌基因组的研究发现,最终的基因组受细菌的相关性和环境因素等影响经历动态扩增和部分缺失演变而来,而这往往是一种瞬态的过程^[32]。正是生物膜中细菌之间的选择性聚集、信号传导和基因转移机制促进了细菌生物膜的适应性和多样性。

3 细菌的相互作用对细菌致病性的影响

牙菌斑生物膜中存在很多具有致病性的细菌,它们比浮游的细菌具有更强的毒力特性,包括定植于牙面形成生物膜、产酸和耐酸能力、毒力因子的进化等^[33]。可以通过分析细菌之间大量基因转移和重组、克隆性选择和调节性调节,从而对细菌的致病性和相互作用的机制有更好的理解^[34]。

3.1 细菌相互作用对致龋性的影响

在复杂的口腔环境中,存在于牙菌斑生物膜中的细菌比浮游状态的细菌具有更强的粘附力、产酸和耐酸能力,所以牙菌斑生物膜中的细菌拥有更强的致龋性。变异链球菌是公认的致龋菌,而白色念珠菌常在口腔黏膜中常被发现,在幼儿

龋中发现变异链球菌和白色念珠菌之间存在一定的联系^[35]。白色念珠菌不能有效代谢蔗糖,当与变异链球菌共培养时就可直接利用变异链球菌的代谢产物葡萄糖和果糖进行自身代谢^[36],同时变异链球菌的 GTFB 酶可与白色念珠菌表面的甘露聚糖受体结合增加其黏附力,表现为双物种生物膜中变异链球菌数量的增加,增加了生物膜的致龋潜力^[37]。并且在变异链球菌和白色念珠菌的双物种生物膜中变异链球菌的蔗糖代谢和白色念珠菌的葡萄糖代谢都会导致菌斑内 pH 值降低,因此这种双物种生物膜比单一的变异链球菌短时间内产酸更多,同时白色念珠菌产生的蛋白酶可以破坏牙本质的胶原,加速龋损的进展^[36]。干酪乳杆菌和放线菌在晚期龋齿中和根面龋中常被发现,在体外研究中发现它们都不能单独定植于牙齿表面,而变异链球菌可以大大增加它们对牙面的定值和聚集^[38],从而增加牙菌斑生物膜中的产酸量,增加致龋潜力。生物膜中的细菌不但有很高的产酸的能力,同时还具有很好的耐酸能力。在低 pH 的条件下,游离状态下的变异链球菌已经丧失了分解代谢糖的能力,然而生物膜中变异链球菌的 *gtfbc* 基因表达仍明显增加,可产生更多的水不溶性多糖,维持其代谢活性^[5]。

3.2 细菌毒力因子的表达与进化

细菌毒力是高度动态变化且依赖环境。对细菌的致病性的研究一般从两个方面进行,病原-宿主之间的权衡互动或是微生物群体之间的相互作用从而影响其毒性。大部分细菌中都含有毒力因子,但是毒力因子并不等于毒力。Kuboniwa 等^[39]发现体外的可溶性介质 4-氨基苯甲酸/对氨基苯甲酸(pABA)可以促进牙龈卟啉单胞菌产生叶酸和纤维黏附蛋白高表达,并且在小鼠口腔中 pABA 可促进牙龈卟啉单胞菌的定植和存活,同时也可抑制细菌细胞外多糖的产生,降低其致病性。说明毒力大小和细菌数量并不是一定相关。毒力因子需要基因表达并且避开宿主的一系列防御机制才能形成一定的毒力并且损伤宿主。所以除毒力因子外,宿主的易感性是另一个重要因素。细菌的毒力因子的进化主要来源于 2 个方面:其一是通过改变细菌的基因型增强毒力;其二是不改变基因型而是通过改变表现型从而改变毒力^[40]。有研究表明细菌毒力依赖于遗传变异。通过细菌与细菌之间的基因的转移,无论是导致基因片段的增加或是丧失都会引起细菌基因的进化。质粒和噬菌体等移动遗传元件在基因水平转移中发挥着

重要的作用, 它们可以清除对宿主有害的基因, 增强宿主的适应性, 其中包括宿主的毒力性状的增强^[41-42]。Hao 等^[43]发现, 在变异链球菌基因水平转移的过程中可获得 106 个基因, 包括编码与运输蛋白相关的基因、果聚糖水解酶和苹果酸乳酸酶基因、编码丝状蛋白的基因等, 来提高对糖的摄取, 分解代谢能力, 黏附能力和在低 pH 条件下的生存能力。

在不改变细菌的基因型只改变表现型也可以增强细菌毒力, 这种现象称之为细菌的“可塑性”^[40]。当细菌处于感染细胞或组织部位时可能会遇到不同的微环境, 各个细菌之间的基因表达和表现特性就会存在差异^[44]。为了更好地适应环境, 增加其生长速率和毒性, 变异链球菌可以通过 mRNA 和 sRNA 控制基因的转录和翻译, 实现毒力因子基因表达的微调^[45]。

作为宿主防御反应之一, 宿主也会通过一些细菌的定植来拮抗致病菌从而保证宿主的健康。例如血链球菌作为早期定植于牙面的细菌之一, 会通过产生过氧化氢来抑制变异链球菌的生长繁殖, 从而降低牙菌斑生物膜的致龋性^[46]。当一种细菌或宿主产生有毒化合物影响了其他的细菌时, 其他细菌就会选择性和可以分解此毒性化合物的细菌产生共聚, 这些敏感菌株会受到抗性菌株的保护。当有毒化合物存在时, 细菌的物种丰富度会朝着可以分解这些毒化物的细菌转变。从而减少生态群落中的有毒物质, 减轻细菌致病性。同时也从另一个角度说明了生物膜中的细菌组成是具有选择性和动态性的^[12, 47]。

4 细菌间的信号传导

在牙菌斑生物膜中生活着大约 700 种细菌^[48], 这些细菌不是随机的堆积而是通过相互的交流和协调形成的选择性群落。为了生存细菌会通过群体感应系统 (quorum sensing, QS) 感知口腔系统环境变化, 细菌可以分泌、释放、响应小的化学信号分子 AIs, 当其密度达到一定的阈值时就会被环境中其他细菌感知, 以此来调节基因表达、生物膜的形成及毒力的表达^[49-50]。Autoinducer-2 (AI-2) 由 LuxS 合成存在于变形链球菌、牙龈卟啉单胞菌、戈登链球菌等细菌中^[4, 48]。目前已经证实 AI-2 和细菌的毒力产生、细胞运动和生物膜的形成有关^[51]。Hu 等^[52]发现 LuxS 基因的缺乏会导致的变异链球菌的乳酸脱氢酶产量下降, 形

成的生物膜中存在较大的间隙并且表面更加粗糙^[53]。在金黄色葡萄球菌的例子中, AI-2 在受到正反馈信号时可以促进 AgrA 的磷酸化从而增加外毒素分泌^[54], 而外源性 AI-2 可以增加铜绿假单胞菌生物膜基因和毒力基因的表达, 但是过度增加 AI-2 的浓度也会抑制生物膜的形成^[4, 54-55]。因此可以认为 AI-2 对于细菌生物膜的形成和毒力的表达有重要意义。

变异链球菌中存在失活感受态刺激肽 (Csp) 和 sigX 诱导肽 (XIP) 两种群体感应信号, 这些信号分别通过 comDE 和 comRS 双组份调节系统进行调节^[56]。Wenderska 等^[30, 57-59]发现通过 comRS 和 comDE 双组份调节系统分泌寡肽, 通过正反馈回路到达细胞外环境中, 直到积累至克服阈值浓度时激活各个系统, 调节变异链球菌的遗传能力和毒力, 并参与合成基因转录的启动子、抑制非致龋菌生长的变链素和调控多个细菌素基因, 并且表现出高度的特异性。Csp 最初被描述为群体感应信号, 使个体细胞具有能够调节相应密度的能力, 但在最近的研究表明 Csp 除了感受密度外还可感受环境中的 pH 值、抗生素、细胞的历史信息等, 同时参与细胞的重组和“自相残杀”, 获取可以抵抗不利环境的优势基因。

环二磷酸腺苷单磷酸 (c-di-AMP) 和环状二鸟苷酸 GMP (c-di-GMP) 作为细菌的第二信使, 控制着细菌的信号传导。它们在变异链球菌中的功能尚不明确, 但是 Cheng 等^[60]发现, 当变异链球菌中 cdaA 基因的缺失会导致 c-di-AMP 水平降低, 同时有 200 多个基因上调或者下调, 对过氧化氢敏感性增加, 细胞外多糖产量上升, 影响生物膜形成。Yan 等^[61]发现, 细胞外 c-di-GMP 不会进入细胞, 通过 c-di-GMP 受体或者摄取影响信号传导系统, 在不影响细菌的生长速率的前提下可以抑制变异链球菌在非生物表面上生物膜的形成。所以研究 c-di-AMP 和 c-di-GMP 信号传导系统对预防治疗龋病提供了新的思路。

5 小结

生物膜的性质主要取决于先锋菌, 它在共聚作用中决定了其他合作细菌的种类, 共聚作用使细菌之间紧密接触, 促进不同种微生物之间的相互作用。在真正的合作伙伴关系中, 所有物种都会从其他物种中受益。细菌的相互作用就是选择共同利益的细菌一起抵抗外界不良环境, 维持自

身的存活和发展。由于牙菌斑中微生物具有复杂的多样性,存在着复杂的相互作用,但最终会形成稳定的生物群落,这是在微生态系统中所有微生物长期持续“战争与和平”的结果。研究明确菌斑内微生物间的相互作用有利于更好的理解牙菌斑致病的过程和机制,对于治疗龋病及牙周病具有重要意义。

[参考文献]

- [1] Renata Chalas I, Mmailhal J W, Justyna G, et al. Dental plaque as a biofilm – a risk in oral cavity and methods to prevent[J]. *Postepy Hig Med Dosw*, 2015, 13(69): 1140–1148.
- [2] Ng H M, Kin L X, Dasgper S G, et al. Bacterial interactions in pathogenic subgingival plaque[J]. *Microb Pathog*, 2016, 94(2): 60–69.
- [3] Moschoini M, Pansegrau W, Barocchi M A. Adhesion determinants of the streptococcus species[J]. *Microb Biotechnol*, 2010, 3(4): 370–388.
- [4] 周学东, 施文元. 人体口腔微生物组群与牙菌斑生物膜[J]. *华西口腔医学杂志*, 2010, 28(2): 115.
- [5] 张锦龙 胡, 王成龙 崔 伟. 牙菌斑生物膜概述[J]. *临床军医杂志*, 2016, 44(7): 767.
- [6] 梁景平. 牙菌斑生物膜特性研究进展[J]. *上海交通大学学报*, 2007, 27(2): 123.
- [7] Maek Welch J L, Rossetti B J, Rieken C W, et al. Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(6): E791–800.
- [8] Bereswill S, Zijngje V, Van Leeuwen, et al. Oral biofilm architecture on natural teeth[J]. *PLoS ONE*, 2010, 5(2): e9321.
- [9] 黎卫兰. 粪肠球菌生物膜细胞外聚合物的研究进展[J]. *国际口腔医学杂志*, 2011, 38(4): 426–429.
- [10] Gao M, Coggin A, Yagnik K, et al. Role of specific quorum-sensing signals in the regulation of exopolysaccharide II production within *Sinorhizobium meliloti* spreading colonies[J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e42611.
- [11] Nira rabin Y Z, Herman. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents[J]. *Future Medicinal Chemistry*, 2015, 7(4): 493–512.
- [12] Giaouris E, Heir E, Desvaux M, et al. Intra- and inter-species interactions within biofilms of important foodborne bacterial pathogens[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 20(6): 841.
- [13] Palmer J, F; int S, Brooks J. Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2007, 34(9): 577–588.
- [14] Dige I, Nilsson H, Kilian M, Nyvad B. In situ identification of streptococci and other bacteria in initial dental biofilm by confocal laser scanning microscopy and fluorescence in situ hybridization[J]. *European Journal of Oral Sciences*, 2007, 115(6): 459–467.
- [15] Dige I, Raarup M K, Nyengaard J R, et al. *Actinomyces naeslundii* in initial dental biofilm formation[J]. *Microbiology*, 2009, 155(Pt 7): 2116–2126.
- [16] Kolenbrander P E, Palmer R J Jr, Periasamy S, et al. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance[J]. *Nature reviews Microbiology*, 2010, 8(7): 471–480.
- [17] Fiorillo L. We Do Not Eat Alone: Formation and Maturation of the Oral Microbiota[J]. *Biology*, 2020, 9(1): 17.
- [18] 李雨庆 程 徐 周. 环二腺嘌呤核苷酸信号系统及其在口腔细菌致病机制中的研究展望[J]. *国际口腔医学杂志*, 2017, 44(6): 647–652.
- [19] Römmling U, Galperin M Y, Gomelsky M. Cyclic di-GMP: the first 25 years of a universal bacterial second messenger[J]. *Microbiology and molecular biology reviews: Microbiol Mol Biol Rev*, 2013, 77(1): 1–52.
- [20] Hengge R. Principles of c-di-GMP signalling in bacteria[J]. *Nature reviews Microbiology*, 2009, 7(4): 263–273.
- [21] Boyd C D, O’ Toole G A. Second messenger regulation of biofilm formation: Breakthroughs in understanding c-di-GMP effector systems[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2012, 28(1): 439–462.
- [22] Schäper S, Steinchen W, Krol E, et al. AraC-like transcriptional activator CuxR binds c-di-GMP by a PilZ-like mechanism to regulate extracellular polysaccharide production[J]. *PNAS Early Edition*, 2017, 114(24): E4822–E4831.
- [23] Solano C, Echeverez M, Lasa I. Biofilm dispersion and quorum sensing[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2014, 18(1): 96–104.
- [24] Cuadra GA, Frantellizzi AJ, Gaesser KM, Tammariello SP, Ahmed A. Autoinducer-2 detection among commensal or-

- al streptococci is dependent on pH and boric acid[J]. *Microbiol*, 2016, 54(7): 492–502.
- [25] He Z Y, Zhou W, Huang Z W, et al. The effect of *Streptococcus mutans luxS* gene on mixed-species biofilm communities[J]. *Shanghai journal of stomatology*, 2019, 28(2): 113–117.
- [26] Roberts AP, Kreth J. The impact of horizontal gene transfer on the adaptive ability of the human oral microbiome[J]. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2014, 4(124): 1–9.
- [27] Hausner M, Wuertz S. High rates of conjugation in bacterial biofilms as determined by quantitative in situ analysis[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65(8): 3710–3713.
- [28] Stevens R H. Transduction-mediated horizontal gene transfer in the oral microbiome[J]. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2015, 10(5): 12.
- [29] Wei H, Håvarstein L S. Fratricide is essential for efficient gene transfer between pneumococci in biofilms[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(16): 5897–5905.
- [30] Salvadori G, Junges R, Åmdal H A, et al. High-resolution profiles of the *Streptococcus mitis* CSP signaling pathway reveal core and strain-specific regulated genes[J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 453.
- [31] Richards V P, Palmer S R, Pavinski Bitar P D, et al. Phylogenomics and the dynamic genome evolution of the genus *Streptococcus*[J]. *Genome Biol Evol*, 2014, 6(4): 741–753.
- [32] Son M, Ghoreishi D, Ahn S J, et al. Sharply tuned pH response of genetic competence regulation in *Streptococcus mutans*: a microfluidic study of the environmental sensitivity of comX[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81(16): 5622–5631.
- [33] 凌均荣. 三磷酸腺苷结合盒外排子对变异链球菌毒力因子影响的研究进展[J]. *中华口腔医学研究杂志*, 2015, 9(3): 247–251.
- [34] Sitkiewicz I. How to become a killer, or is it all accidental? Virulence strategies in oral streptococci[J]. *Mol Oral Microbiol*, 2018, 33(1): 1–12.
- [35] Falsetta M L, Klein M I, Colonne P M et al. Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms in vivo[J]. *Infect Immun*, 2014, 82(5): 1968–1981.
- [36] Lobo C I V, Rinaldi T B, Christiano C M S, et al. Dual-species biofilms of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* exhibit more biomass and are mutually beneficial compared with single-species biofilms[J]. *J Oral Microbiol*, 2019, 11(1): 1581520.
- [37] Lemos J A, Palmer S R, Zeng L, et al. The biology of *Streptococcus mutans*[J]. *Microbiol Spectr*, 2019, 7(1): 10.
- [38] Wen Z T, Liao S, Bitoun J P, et al. *Streptococcus mutans* displays altered stress responses while enhancing biofilm formation by *Lactobacillus casei* in mixed-species consortium[J]. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2017, 20(7): 524.
- [39] Kuboniwa M, Houser J R, Hendrickson E L, et al. Metabolic crosstalk regulates *Porphyromonas gingivalis* colonization and virulence during oral polymicrobial infection[J]. *Nat Microbiol*, 2017, 2(11): 1493–1499.
- [40] Brown S P, Cornforth D M, Mideo N. Evolution of virulence in opportunistic pathogens: generalism, plasticity, and control[J]. *Trends Microbiol*, 2012, 20(7): 336–342.
- [41] Rankin D J, Rocha EP, Brown S P. What traits are carried on mobile genetic elements, and why? [J]. *Heredity (Edinb)*, 2011, 106(1): 1–10.
- [42] Nogueira T, Rankin D J, Touchon M, et al. Horizontal gene transfer of the secretome drives the evolution of bacterial cooperation and virulence[J]. *Curr Biol*, 2009, 19(20): 1683–1691.
- [43] Marri P R, Hao W, Golding G B. Gene gain and gene loss in *Streptococcus*: is it driven by habitat? [J]. *Mol Biol Evol*, 2006, 23(12): 2379–2391.
- [44] Bumann D. Heterogeneous host-pathogen encounters: act locally, think globally[J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 17(1): 13–19.
- [45] Bedoya-Correa C M, Rincón Rodríguez R J, Parada-Sánchez M T. Genomic and phenotypic diversity of *Streptococcus mutans*[J]. *J Oral Biosci*, 2019, 61(1): 22–31.
- [46] 张梦洁, 侯梦瑶, 姜秀, 等. 耐酸链球菌拮抗变异链球菌作用机制的初步研究[J]. *医学研究生学报*, 2017, 30(4): 371–375.
- [47] Neu T R, Manz B, Volke F, Dynes J J, et al. Advanced imaging techniques for assessment of structure, composition and function in biofilm systems[J]. *European Microbiological Societies*, 2010, 72(1): 1–21.

- [48] Xie H, Lin X, Wang B Y, et al. Identification of a signalling molecule involved in bacterial intergeneric communication[J]. *Microbiology*, 2007, 153(Pt 10): 3228–3234.
- [49] Junges R, Sturød K, Salvadori G, et al. Characterization of a signaling system in *Streptococcus mitis* that mediates interspecies communication with *Streptococcus pneumoniae*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2019, 85(2): 2297–2318.
- [50] Suzuki Y, Nagasawa R, Senpuku H. Inhibiting effects of fructanase on competence-stimulating peptide-dependent quorum sensing system in *Streptococcus mutans*[J]. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2017, 23(9): 634–641.
- [51] Cuadra G A, Frantellizzi A J, Gaesser K M, et al. Autoinducer-2 detection among commensal oral streptococci is dependent on pH and boric acid[J]. *J Microbiol*, 2016, 54(7): 492–502.
- [52] Hu X, Wang Y, Gao L, Jiang W, et al. The impairment of methyl metabolism from luxS mutation of *Streptococcus mutans*[J]. *Front Microbiol*, 2018, 12(9): 404.
- [53] Merritt J, Qi F, Goodman S D, et al. Mutation of luxS affects biofilm formation in *Streptococcus mutans*[J]. *Infect Immun*, 2003, 71(4): 1972–1979.
- [54] Todd O A, Fidel P L Jr, Harro J M. *Candida albicans* augments *Staphylococcus aureus* virulence by engaging the *Staphylococcal agr* quorum sensing system[J]. *mBio*, 2019, 10(3): e00910–e00919.
- [55] Li H, Li X, Wang Z, Fu Y. Autoinducer-2 regulates *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm formation and virulence production in a dose-dependent manner[J]. *BMC Microbiol*, 2015, 29(15): 192.
- [56] Szafránski S P, Deng Z L, Tomasch J, et al. Quorum sensing of *Streptococcus mutans* is activated by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and by the periodontal microbiome[J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 238.
- [57] Moreno-Gómez S, Sorg R A, Domenech A, et al. Quorum sensing integrates environmental cues, cell density and cell history to control bacterial competence[J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 854.
- [58] Wenderska I B, Latos A, Pruitt B, et al. Transcriptional profiling of the oral pathogen *Streptococcus mutans* in response to competence signaling peptide XIP[J]. *mSystems*, 2017, 2(1): e00102–e00116.
- [59] Kaspar J R, Walker A R. Expanding the vocabulary of peptide signals in *Streptococcus mutans*[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2019, 6(9): 194.
- [60] Cheng X, Zheng X, Zhou X et al. Regulation of oxidative response and extracellular polysaccharide synthesis by a diadenylate cyclase in *Streptococcus mutans*[J]. *Environmental microbiology*, 2016, 18(3): 904–922.
- [61] Yan W, Qu T, Zhao H, et al. The effect of c-di-GMP(3' – 5' –cyclic diguanylic acid) on the biofilm formation and adherence of *Streptococcus mutans*[J]. *Microbiol Res*, 2010, 165(2): 87–96.