

中国口腔微生物的研究现状

Current Research Status of Oral Microbiota in China

杨开富 安桂成 许钊科

Kaifu Yang Guicheng An Xingke Xu

大理大学 中国·云南 大理 671013

Dali University, Dali, Yunnan, 671013, China

摘要: 人体口腔微生物群落由 700 余种细菌、真菌、病毒等构成。口腔微生物与龋病、牙周病、牙髓及根尖周感染等多种口腔疾病及心血管等口腔以外部位疾病密切相关。传统观点认为口腔关键致病优势菌是相关疾病发生、发展的关键因素。近年来,随着“人类微生物组计划”的实施及宏基因组学相关项目的开展,加深了对口腔微生物群落的认识支持了群落结构的生态失衡学说将口腔微生物群落大数据信息转化为具有实际运用价值的临床诊疗手段,具有重大意义,从常见口腔及相关系统性疾病微生物群落研究进展入手,介绍了口腔微生物群落与疾病的关系,指出了建立基于微生物群落信息的疾病诊疗系统,实现疾病个体化诊疗的新思路。

Abstract: The human oral microbial community consists of more than 700 kinds of bacteria, fungi, viruses and so on. Oral microorganisms are closely related to dental caries, periodontal disease, pulp and periapical infection and other oral diseases such as cardiovascular diseases. The traditional view is that oral key pathogenic dominant bacteria are the key factors in the occurrence and development of related diseases. In recent years, with the implementation of the “Human Microbiome Project” and the development of metagenomic related projects, the understanding of oral microbial community has been deepened, the ecological imbalance theory of community structure has been supported, and the big data information of oral microbial community has been transformed into clinical treatment means with practical application value, which is of great significance. This paper introduces the relationship between oral microbial community and diseases, and points out the new idea of establishing disease diagnosis and treatment system based on microbial community information to realize individual disease diagnosis and treatment.

关键词: 人类口腔微生物组; 微生物群落; 口腔疾病; 疾病诊疗

Keywords: human oral microbiome; microbial community; oral diseases; disease diagnosis and treatment

DOI: 10.12346/pmr.v5i4.8974

1 引言

在口腔中,大量的微生物由于竞争抑制和共生关系的作用下,趋于一个相对稳定的平衡状态,它们能适应代偿外界的刺激,也参与到宿主的免疫调节中。但当外界的干扰超过了他们的自生调节能力,微生物群落的结构将会失去平衡,这种失衡会在宿主的机体上产生多种表现。越来越多研究表明,慢性肾病,心血管疾病等系统性疾病都和口腔微生物有密切的关系。

2 相关概念及特征的研究

2.1 口腔微生物群落

口腔菌群是指在人类口腔内存在的多种相互作用的菌群,多数以生物被膜的方式构成复合菌群,发挥其生理功能。牙菌斑生物被膜是一种兼具细胞膜结构与生理两方面的复杂微生物群体^[1]。其生成时,一部分细菌首先附着于牙及其周围的组织,被称为“初期附着体”;随后而来的有粘性和竞争性的微生物会附着于较早的附着体,从而产生齿斑。

【作者简介】杨开富(2002-),男,中国四川人,本科,从事口腔生物医学研究。

生物膜对于微生物的早期定植有密切的关系,但机制尚未阐明。

2.2 口腔内微生物特征

口腔内微生物种类包括:细菌、真菌、病毒、支原体等,而细菌种类就高达四十多属、700多种。细菌包括:金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、化脓性链球菌、绿脓假单胞杆菌等。由于种类繁多,临床上难以准确选取药物控制感染。一味运用广谱抗生素在一些口内感染的临床案例上表现有所欠缺,所以口内抗感染药物选取及联用也有巨大的研究潜力。口腔唾液中或可检出 HIV、HTLV-I、HSV、HBV、HCV 以及 CMV 等多种病毒。故应预防通过唾液传播疾病感染的可能性^[2]。

3 口腔微生物群失衡导致的疾病

众多的研究表明,口腔微生物与肿瘤、糖尿病、慢性肾病、心血管疾病等全身性疾病之间存在着密切的联系,致病微生物能通过血道传播,免疫反应,氧化应激等对系统产生影响。因此,维持口腔生态系统的平衡对于维持人体的健康具有非常重要的作用^[3]。

3.1 龋病

龋齿是一种最常见的口腔传染病,龋齿发生发展的各个时期,正常人釉质、白垩斑和龋损表面上,菌斑的菌群结构有显著的变化,并且随着时间的推移,其数量呈递减趋势^[3]。有项目组前期对龋病患者和无龋患者正常人牙齿表面菌斑进行了研究,结果表明龋病患者口腔正常人牙齿表面定植细菌的“共生”与正常人有显著差异,但龋病患者龈上菌斑的微生物网络拓扑比正常人少。在龋病和非龋齿群体中,菌群的总体功能基因组和多样性没有显著变化,但在有机酸合成、多糖合成、复杂糖类降解、氨基酸合成和代谢、嘌呤和嘧啶合成、异戊二烯合成和辅因子合成等方面存在显著变化(尚未报道)^[4]。徐健等人对低龄儿童的口腔龋病进行了长期随访,根据结果建立了模型,首次提出了“龋病细菌群指数”(MiC),它可以提前预警龋病的发病危险,为未来的龋病防治提供了新思路。

3.2 牙周病

牙周病属于一种常见的口腔感染性疾病,主要是由于细菌群落结构与功能发生了变化^[5]。牙龈炎是一种非常普遍的口腔疾病,它是一种严重的慢性炎症,徐健等人通过对50例正常人的口腔正常人和正常人的口腔粘膜菌群进行对比分析,建立了口腔粘膜菌群指标(MiG),并对41例正常人人进行了95%的正确性检验^[6]。另外,研究人员还在8种菌种中建立了两种菌种对牙龈炎的敏感性差异的菌种模型。发现龈下菌斑是导致牙周炎发生的主要原因。牙周细菌的病原学与龋病的病原学相似。其中,以 *P.gingivalis*、福赛斯坦纳氏菌和齿垢密螺旋菌为主的几种革兰氏阳性球菌已引起了人们的高度重视。但是,越来越多的证据表明,

牙周炎是一种多重致病菌的感染,而且是全部致病菌在龈下形成的。

4 口腔微生物组研究新技术

目前,人们对口腔菌群的了解主要依靠实验方法。Staley 等认为,室内条件下仅能存在1%以下的细菌,表明基于细菌分离技术的口腔微生物群落结构及遗传多样性分析存在较大的偏差^[7]。为适应标本的复杂性提高可检细菌的范围,人们开始转变思路因为微生物的DNA具有高度多样性,一系列基因检测技术,比如16SrRNA基因技术、高通量指纹技术、元基因组学技术以及第二代测序技术应运而生,在扩大可检测微生物范围的前提下也更能适应标本成分和结构的复杂性。

4.1 16S rRNA 基因测序技术

基因编码序列为16SrRNA的细菌染色体的DNA序列就是所谓的16SrDNA基因,其基因序列上存在恒定区和可变区。恒定区呈现高度的保守性,但是可变区显示出较大的差异,所以成为了细菌鉴定的基本原理,核酸是由两种途径获取,第一种是利用特异的引物特异性扩增得到,另一种是利用常规的鸟枪测序器对其进行常规的全基因组测序得到;第二种方法虽然可以删除PCR反应错误但是会使16SrRNA序列降低。相较于以往的变性梯度凝胶电泳(DGGE)技术高通量测序法能够对微生物群落进行更加广域详尽的阐述,减少技术局限性。

4.2 宏基因组学技术

“宏基因组”是指生命活动中所有微观生物的遗传材料之和,因此它能涵盖不可培养的微生物。宏基因组学的基本技术方法是对目标为生物的宏基因组进行DNA提取、文库创建、文库筛选,以对微生物环境中的基因组组合进行分析。从而在这种方法的帮助下我们能对口腔内不能培养的微生物做更加全面的研究。

4.3 焦磷酸测序技术

该技术是一种新型的高通量测序技术,利用核酸与模板产生的焦磷酸启动酶学信号,从而激发生物信息学信号并据此进行分析。焦磷酸酯测序技术的发展和利用,为微生物的测序和排列提供了更高效准确的方法。其原理主要依靠荧光信号的生物发光,将模板进行PCR扩增后,与相应的引物杂交,并与三磷酸腺苷双磷酸酶、DNA聚合酶、ATP硫酸化酶、荧光素酶、底物荧光素酶和5'-磷酸硫腺苷共同孵育,然后进行相应的酶促反应;在每次实时测序实验中,模板只与一种脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP)进行配对反应,在此酶促反应中,DNA聚合酶以该dNTP作为原料合成互补链,会释放出等物质的量的焦磷酸基团^[8]。焦磷酸序列测序技术与其他常用的序列测序技术相比,具有可靠性高、分辨率高、序列片段速度快、数据准确性高等优点,因此被广泛应用于生物学、分子生物学和基因组学研究中。

5 口腔与肠道微生物之间的研究综述

5.1 口腔微生物肠道移位参与系统性疾病发展

由于口腔与肠道是相通的，肠道微生物也可以经过粪-口传播到达口腔，所以二者很容易互相产生影响。已有研究表明，大多消化道疾病与消化道菌群的变化有密切关系。唾液链球菌作为一种最早的细菌，能在肠道内定殖，并能抑制 NF-KB 活性，对维持肠道免疫平衡起着关键的调控作用。研究表明，在肝硬化合并 HBV 感染的病人中，Salmonella 可以转移到病人的肠道中，并在病人体内大量繁殖，这可能是导致肝硬化的一个主要原因。一些学者利用问卷调查结果表明，不良的口腔健康护理习惯可以让口腔中的菌群发生变化，从而造成了肠道细菌的失衡，从而造成了炎性肠病的出现。

5.2 口腔与肠道微生物共同参与疾病进展

众多的证据表明，不仅牙周菌群在 AS 的发病过程中起着重要作用，近年来也发现，肠道菌群也起到了重要作用：利用 16SrRNA 对该疾病进行深入研究，结果显示，该疾病发生过程中，患者的口腔和肠道均可检测到该疾病的主要病原菌，提示该疾病的发生不仅源于口腔，还源于肠道。二者共同的作用使 AS 发生发展。

口腔微生物和肠道微生物的相互作用与骨关节炎也有密切的关系。目前研究发现，口腔和肠道生态失调与骨关节炎联系的病理生理机制可能有两种，一种是口腔和肠道微生物的代谢产物进入血液循环，另一种是口腔和肠道微生物或其 DNA 从口腔、肠道到关节的移位，这两种机制都可激活宿主的免疫系统，产生关节局部和全身的炎症反应，从而影响骨关节炎的发生发展^[9]。

6 结语

口腔微生物作为人体第二大生物组织群，与机体有许多相互作用，但由于其复杂性和多样性，使研究难度大幅提升。传统培养分离技术过于局限，所以合理利用相关生化分析技术及分子学技术，真实反映各类微生物致病的作用机制，才能深度揭示口腔微生物组与人体健康与疾病的关系，为临床的治疗工作提供理论依据。

参考文献

- [1] Gilbert Klaczko C, Alkhars N, Zeng Y, et al. The Oral Microbiome and Cross-Kingdom Interactions during Pregnancy. [J]. Journal of dental research, 2023.
- [2] 周陆军, 陈柏延, 李雨霖, 等. 口腔微生物与全身系统性疾病的关系 [J]. 四川大学学报(医学版), 2023, 54(1): 1-6.
- [3] 舒蓉, 陈方淳. 口腔微生物和口腔黏膜癌变相关性的研究进展 [J]. 医学理论与实践, 2023, 36(1): 40-42.
- [4] 廖俏云, 归崎峰. 口腔微生物群与肠道微生物群的交互作用及其意义 [J]. 微生物与感染, 2022, 17(5): 327-332.
- [5] 王双双, 宋凤, 魏晓文, 等. 人体口腔微生物运用于法医学个体识别的研究进展 [J]. 法医学杂志, 2022, 38(4): 526-532.
- [6] 闫福华, 张杨珩, 钱俊. 口腔微生物与炎症性肠病关系的研究进展 [J]. 口腔医学研究, 2022, 38(6): 491-496.
- [7] 高航, 刘春莹. 口腔及肠道微生物与自身免疫性疾病的研究进展 [J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(6): 724-727.
- [8] 王玉静, 陆梓涔, 陈俊煜, 等. 高通量测序技术的发展及其在临床检测中的应用 [J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2021, 60(5): 811-820.
- [9] 王欣妍, 杜信眉, 周学东. 口腔-肠道微生物与骨关节炎关系的研究新进展 [J]. 四川大学学报, 2023, 54(1): 49-53.