

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2023.05.003

· 基础研究 ·

2型糖尿病患者龈上菌斑致龋菌分布与功能研究

李玉姣, 王玮, 潘雅婷, 陈力元, 范晓敏, 田宇

军事口腔医学国家重点实验室 口腔疾病国家临床医学研究中心 陕西省口腔医学重点实验室 第四军医大学口腔医院牙体牙髓病科, 陕西 西安(710032)

【摘要】 目的 探讨2型糖尿病患者口腔微生物中致龋菌群分布特征与功能基因,提高对2型糖尿病与龋病关系的认识。方法 试验组选取空军军医大学第一附属医院内分泌科口腔健康的2型糖尿病患者(10例);正常对照组选取社区人群中口腔健康且不患2型糖尿病受试者(10例)。采集口腔健康的2型糖尿病患者组和正常对照组的龈上菌斑样本,分别进行宏基因组学测序,对变异链球菌、乳酸杆菌、黏性放线菌、白色念珠菌等致龋菌进行生物信息学及统计学分析。结果 口腔健康的2型糖尿病患者龈上菌斑样本中变异链球菌、乳酸杆菌、黏性放线菌、白色念珠菌丰度稍低于正常对照组,但差异均无统计学意义($P > 0.05$)。KEGG Pathway 功能代谢差异分析结果显示2型糖尿病患者龈上菌斑微生物的D-精氨酸和D-鸟氨酸代谢、生物膜形成、大肠杆菌代谢、己内酰胺降解、精氨酸生物合成等代谢通路较正常对照组丰富,而硫酸素代谢、硒化合物代谢、丙酮酸代谢等代谢通路较正常对照组降低。结论 口腔健康的2型糖尿病患者的致龋菌含量与正常对照组并无明显差异,功能基因差异代谢途径表明精氨酸代谢通路富集,有助于维持口腔微生态环境的酸碱平衡。

【关键词】 龋病; 2型糖尿病; 龈上菌斑; 宏基因组学; 变异链球菌; 乳酸杆菌; 黏性放线菌; 白色念珠菌

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2023)05-0321-07

【引用著录格式】 李玉姣, 王玮, 潘雅婷, 等. 2型糖尿病患者龈上菌斑致龋菌分布与功能研究[J]. 口腔疾病防治, 2023, 31(5): 321-327. doi:10.12016/j.issn.2096-1456.2023.05.003.

Distribution and function of cariogenic bacteria in supragingival plaque in patients with type 2 diabetes mellitus LI Yujiao, WANG Wei, PAN Yating, CHEN Liyuan, FAN Xiaomin, TIAN Yu. State Key Laboratory of Military Stomatology, National Clinical Research Center for Oral Diseases, Shaanxi Key Laboratory of Stomatology, Department of Operative Dentistry and Endodontics, School of Stomatology, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Corresponding authors: TIAN Yu, Email: tianyu@fmmu.edu.cn, Tel: 86-29-84776476

【Abstract】 Objective To investigate the distribution characteristics and functional genes of cariogenic bacteria in oral microorganisms of patients with type 2 diabetes mellitus and to improve the understanding of the relationship between type 2 diabetes mellitus and dental caries. **Methods** The experimental group included 10 patients with type 2 diabetes treated in the Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Air Force Medical University. The normal control group included healthy oral subjects without type 2 diabetes in the community population (10 cases). Samples of supragingival plaque from patients with type 2 diabetes mellitus and normal controls were collected and sequenced. Bioinformatics and statistical analysis of cariogenic bacteria such as *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, *Actinomyces viscosus* and *Candida albicans* were carried out. **Results** There were slightly fewer cariogenic bacteria such as *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, *Actinomyces viscosus* and *Candida albicans* in supragingival plaque samples of type 2 diabetic patients than in normal controls, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). The results of KEGG pathway functional metabolic differences showed that the metabolic pathways of D-arginine and D-ornithine me-

【收稿日期】 2022-10-20; **【修回日期】** 2022-11-14

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81970929)

【作者简介】 李玉姣, 医师, 硕士, Email: 18336380801@163.com

【通信作者】 田宇, 副主任医师, 博士, Email: tianyu@fmmu.edu.cn, Tel: 86-29-84776476



微信公众号

tabolism, biofilm formation-*Escherichia coli*, carolactam degradation and arginine biosynthesis were more abundant in the T2DM group than in the normal control group, while metabolic pathways such as tyrosine metabolism, selenocompound metabolism and pyruvate metabolism showed the opposite trend. **Conclusion** There was no significant difference in the content of cariogenic microorganisms between type 2 diabetic patients and normal control group. The differential metabolic pathways of the functional genes indicated that an increase in the arginine metabolic pathway was beneficial to the maintenance of acid-base balance in the oral microecological environment.

【Key words】 dental caries; type 2 diabetes mellitus; supragingival plaque; metagenomics; *Streptococcus mutans*; *Lactobacillus*; *Actinomyces viscosus*; *Candida albicans*

【Trial registration】 ChiCTR2100049715

J Prev Treat Stomatol Dis, 2023, 31(5): 321-327.

【Competing interests】 The authors declare no competing interests.

This study was supported by the grant from National Natural Science Foundation of China(No. 81970929).

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是一种以高血糖为特征的代谢性疾病,其发病率在不断提高^[1]。最近多项研究报道了2型糖尿病与多种口腔疾病易感性之间的密切联系,当患者的血糖控制不佳时,多种口腔疾病的发生率也可能增加^[2-3]。龋病是由于口腔内产酸菌利用碳水化合物产生酸性副产物,从而对牙齿组织造成破坏^[4]。目前,2型糖尿病和龋病之间的关系仍存在争议,关于龋病和2型糖尿病联系的流行病学研究有限,且对2型糖尿病患者龋齿患病率的调查研究也呈现出矛盾的结果^[5]。有研究表明,2型糖尿病患者相对于健康人群表现出更高的龋齿患病率和更大的龋病发生风险^[6-7],然而也有研究发现2型糖尿病和龋齿之间无显著的关联^[8-9],甚至有研究报告2型糖尿病患者的龋齿患病率相比正常人降低^[10]。

近年来与龋病相关的微生物学研究表明,部分产酸耐酸菌(变异链球菌、乳酸杆菌)是龋病发生发展的主要病原体^[11]。此外,白色念珠菌及黏性放线菌也被认为是导致根面龋进展的致病细菌之一^[12]。变异链球菌能感染和定植于牙齿,并在蔗糖存在的情况下促进致龋性生物膜的发展,而其他细菌包括黏性放线菌、乳酸杆菌、白色念珠菌等能通过加强生物膜环境的酸化而促进龋齿的进展^[13]。Kampoo等^[14]研究表明2型糖尿病患者患龋率的升高与产酸耐酸菌属链球菌和乳杆菌的数量呈正相关。然而,在另外一项棋盘式DNA-DNA杂交实验研究中,糖尿病患者和非糖尿病患者唾液中变异链球菌和乳杆菌的数量无显著差异^[15]。查阅文献发现以往对2型糖尿病患者口腔致龋菌变化的研究并不多,且仅局限于菌群变化,未能从功能基因代谢方面进行阐述,对2型糖尿病患者口腔

致龋菌变化的了解还不够完整。宏基因组学测序技术具有更高的分辨率,不仅可以发现一些低丰度的细菌类群,而且能够检测微生物的功能基因,可以更深入地揭示口腔微生物群落的多样性和复杂性。

研究发现,相比唾液微生物,龈上菌斑样本微生物可能更适合龋病微生物的研究^[16-17],因此本研究选取了未罹患口腔疾病的2型糖尿病患者的龈上菌斑样本,利用宏基因组学测序技术对2型糖尿病患者口腔微生物中致龋菌群分布与功能基因进行探究,进一步评估2型糖尿病患者的患龋风险,提高对2型糖尿病与龋病关系的认识。

1 材料和方法

1.1 研究对象

本研究经空军军医大学第一附属医院伦理审查委员会批准(审批号:KY20212053-F-2),所有研究对象均签署知情同意书。试验组选取空军军医大学第一附属医院内分泌科口腔健康的2型糖尿病患者10例,平均年龄(44.70 ± 11.67)岁,男7例,女3例。正常对照组选取社区人群中口腔健康且不患2型糖尿病受试者10例,平均年龄(42.20 ± 11.27)岁,男5例,女5例。研究对象纳入标准:①年龄 ≥ 18岁;②同意参与本实验并自愿签署知情同意书;③全口无龋病、牙周病、口腔脓肿、癌前病变、真菌感染和智齿冠周炎等口腔疾病;④所有受试者的余留牙数均大于等于28,龋失补指数(decayed, missing and filled teeth, DMFT)均为0。研究对象排除标准:①近6个月内全身使用抗生素或免疫抑制剂等;②患有肿瘤、心脑血管疾病等;③患有艾滋病、乙肝、梅毒等传染性疾病;④孕期及

哺乳期的妇女;⑤近6个月内曾有过任何口腔药物及手术治疗史。

1.2 主要试剂和仪器

-80℃冰箱(MDF-382E(N),三洋公司,日本);刮匙器(平宇医疗器械,中国);DNA试剂盒(New England Biolabs,美国);Qubit dsDNA BR分析试剂盒(Invitrogen,美国);荧光光度计(Qubit Fluorometer,美国);超声波破碎仪(Covaris,美国);测序平台(MGISEQ-2000,中国)。

1.3 样本采集

所有受试者采样前一天晚饭后刷牙,然后禁饮食、禁止刷牙,直至第二天早上进行龈上菌斑样本的采集。龈上菌斑样本:使用无菌刮匙刮取受试者上下颌前牙、前磨牙、磨牙颊舌侧牙颈部菌斑,并置于含有PBS缓冲液的1.5 mL无菌EP管中。对所有采集到的样本进行分组编号(2型糖尿病组命名为T2DM,正常对照组命名为HC,共20个样本)后置于液氮里冷冻,并在2 h内送至实验室,放于-80℃冰箱内保存。

1.4 样本DNA提取

通过NEBNext微生物组DNA富集试剂盒提取唾液及龈上菌斑样本微生物群落DNA。使用Qubit dsDNA BR分析试剂盒和荧光光度计对微生物群落DNA进行定量,并在1%琼脂糖凝胶上进行质量检查。

1.5 宏基因组学测序

DNA提取和纯化使用Qubit dsDNA BR分析试剂盒,按照说明进行。用超声波破碎仪将1 μg基因组DNA碎裂,使用磁珠选择其样本条带平均大小为200~400 bp的片段。对筛选出的片段进行末端修复、3'-腺苷酸化、接头连接和聚合酶链式反应,产物用磁珠纯化。双链聚合酶链式反应产物经热变性得到单链环状产物。去除未环化的线状DNA分子后,得到最终文库,并通过质量控制进行鉴定。在MGISEQ-2000平台(华大基因-深圳)上对合格文库进行测序。

1.6 宏基因组数据分析和统计学分析

所有原始数据用SOAPnuke(v.1.5.2)进行合并和修剪,使用SOAP(v.2.0)软件将修剪后的读数映射到宿主基因组,以识别和移除源自宿主的读数。用MetaGeneMark(v.2.1.0)软件对以上重叠群基因进行预测。利用R语言包(v.4.0.5)在物种、功能基因和KO水平上进行分析,根据reporter score评分值确定差异富集的KEGG通路,以评分绝对

值 ≥ 1.65 作为显著性检测阈值。使用SPSS 26.0软件进行统计学分析,通过Wilcoxon秩和检验比较不同组间致龋菌分布的特征, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床特征

由表1可知2型糖尿病患者组与正常对照组在样本量、性别比和年龄之间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 T2DM组和HC组之间临床特征

Table 1 The clinical characteristics of the T2DM and HC groups

Group	n	Male/Female	Age (year)
T2DM	10	7/3	44.70 ± 11.67
HC	10	5/5	42.20 ± 11.27
P	-	0.650	0.632

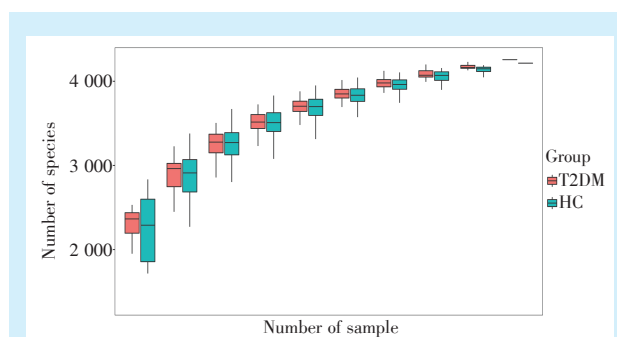
T2DM: type 2 diabetes mellitus; HC: healthy control

2.2 稀疏曲线分析

为了检验样本量是否足够,对2型糖尿病组和正常对照组龈上菌斑样本的测序物种数目进行稀疏曲线分析,如图1结果所示:稀疏曲线末端随着样本量的增加逐渐平缓,说明本实验样本量足够。

2.3 4种致龋菌变化

评估2型糖尿病组和正常对照组龈上菌斑中变异链球菌、乳酸杆菌、黏性放线菌和白色念珠菌等致龋菌丰度数值之间的关系(图2)。数据采用中位数(上下四分位数)描述,并进行Wilcoxon秩和检验,结果显示2型糖尿病组的变异链球菌($P = 0.257$)、黏性放线菌($P = 0.257$)、乳酸杆菌($P =$



With the increase in the number of samples, the number of species detected did not increase, and the end of the rarefaction curve was stable. T2DM: type 2 diabetes mellitus; HC: healthy control

Figure 1 Analysis diagram of the species rarefaction curve

图1 物种稀疏曲线分析图

0.496)、白色念珠菌($P = 0.879$)丰度均略低于正常对照组,但差异均无统计学意义(表2)。

2.4 功能基因代谢途径分析

为了进一步探索2型糖尿病组和正常对照组龈上菌斑微生物的具体功能基因代谢通路差异,进行KEGG pathway功能基因富集差异通路分析,得到两组间共有47个差异代谢通路(reporter score绝对值 > 1.65),作功能代谢通路差异分布图(图3)。结果显示2型糖尿病患者龈上菌斑微生物中代谢通路增强的有:鞭毛组件(flagellar assembly)、D-精氨酸和D-鸟氨酸代谢(D-arginine and D-ornithine metabolism)、生物膜形成-大肠杆菌(biofilm formation-escherichia coli)、双组件系统(two-component system)、己内酰胺降解(caprolactam degradation)、精氨酸生物合成(arginine biosynthesis)、生物被膜形成-铜绿假单胞菌(biofilm formation)、II型聚酮主链的生物合成(biosynthesis of type II polyketide II)、酪氨酸代谢(tyrosine metabolism)等。而硫胺素代谢(thiamine metabolism)、硒化合物代谢(selenocompound metabolism)、丙酮酸代谢(pyruvate me-

tabolism)、同源重组(homologous recombination)等代谢通路途径在2型糖尿病组是降低的。

3 讨论

2型糖尿病是一种胰岛素分泌和作用缺陷引起的以高血糖为特征的慢性代谢性疾病。这种长期的慢性高血糖会导致碳水化合物、脂肪和蛋白质代谢的缺陷,最终会导致多种并发症的发生,如心血管疾病、肾病、周围神经病变、视网膜病变、中风、牙周病等^[18]。已有研究表明牙周病与2型糖尿病有密切联系,牙周病已被列为糖尿病的第六大常见并发症^[19]。但目前对2型糖尿病和龋病的研究并不多,两者之间的关系仍然存在争议。为了进一步了解2型糖尿病患者与龋病之间的关系,本研究对未罹患口腔疾病的2型糖尿病患者的龈上菌斑微生物中的致龋菌进行分析,评估2型糖尿病患者的患龋风险,提高临床上对2型糖尿病与龋病关系的认识。

众所周知,在牙齿表面定植和存活、分解糖和产生酸性代谢物及耐酸的能力被认为是致龋菌引

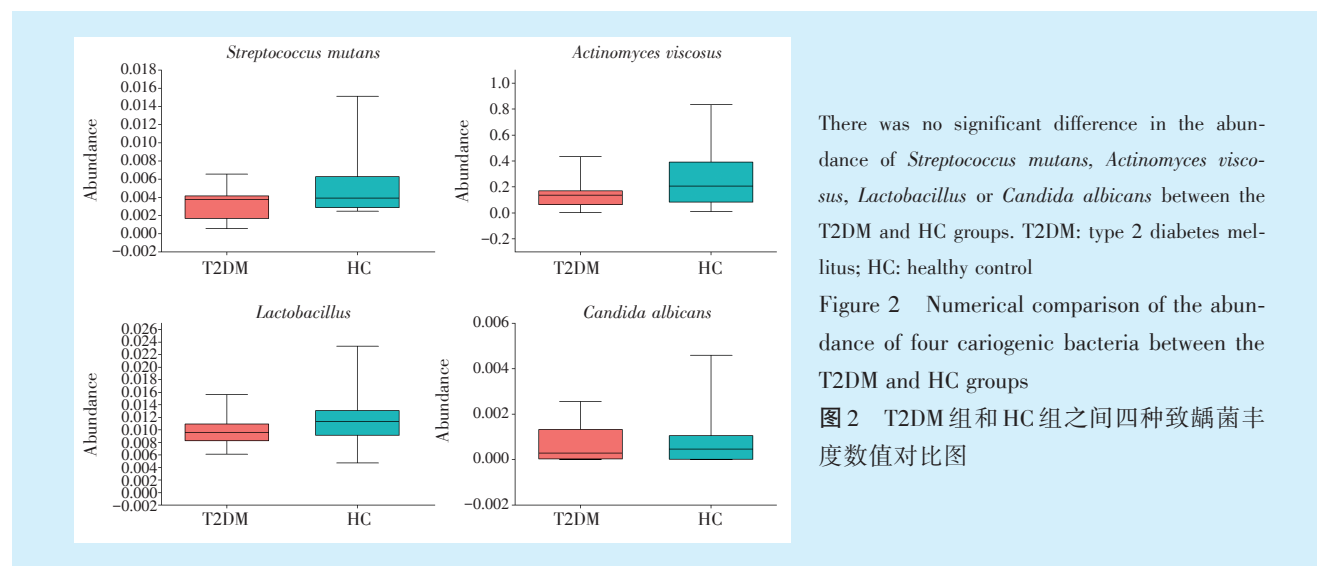
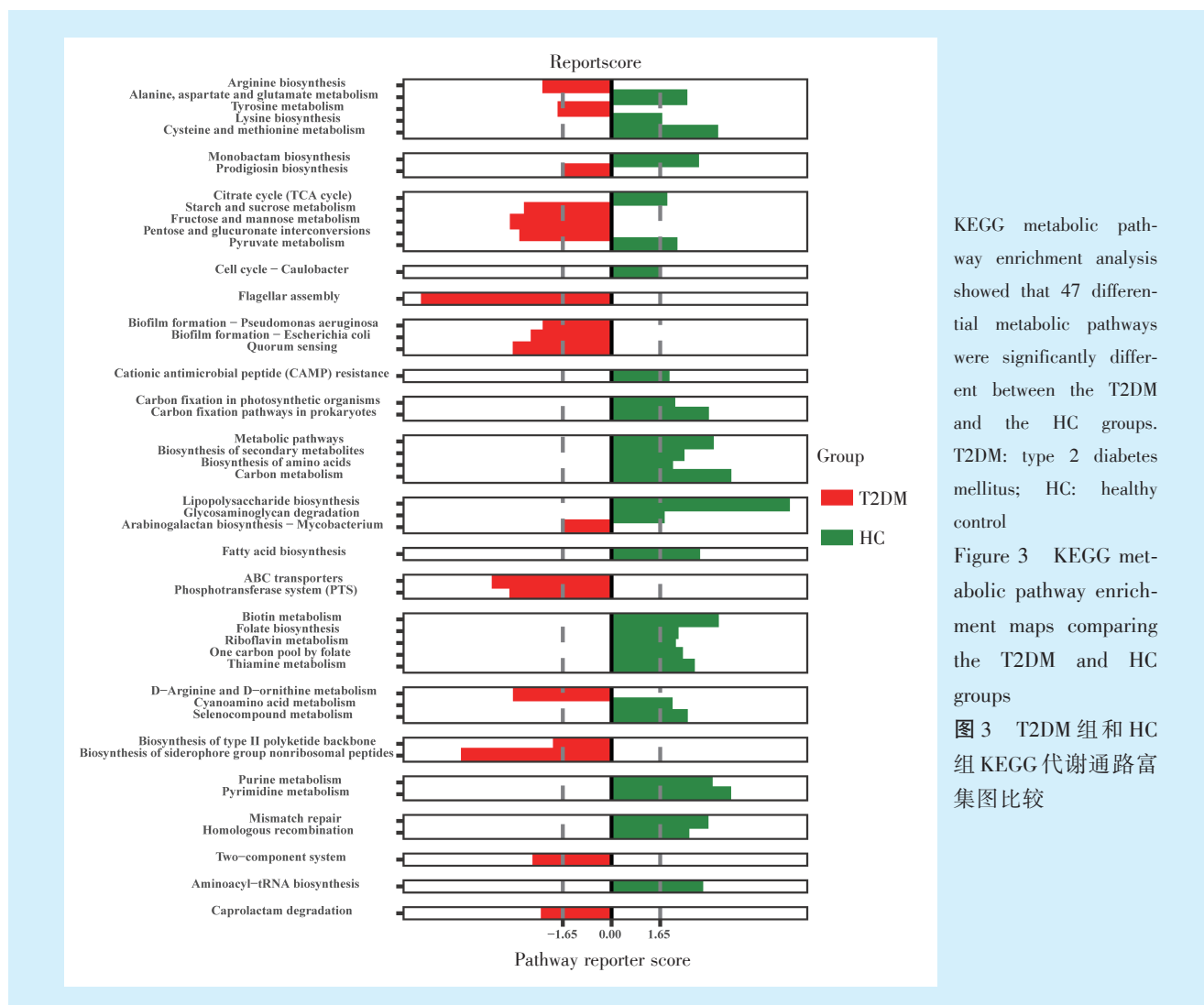


表2 T2DM组和HC组四种致龋菌具体丰度数值对比

Table 2 Numerical comparison of the specific abundance of four cariogenic bacteria

Group	between the T2DM and HC groups			
	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>actinomyces Viscosus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Candida albicans</i>
T2DM	0.003 8 (0.001 6, 0.004 4)	0.135 5 (0.063 1, 0.181 6)	0.009 6 (0.008 1, 0.011 1)	0.000 3 (0.000 0, 0.001 5)
HC	0.003 9 (0.002 9, 0.006 5)	0.207 4 (0.076 8, 0.401 6)	0.011 3 (0.008 2, 0.013 2)	0.000 5 (0.000 0, 0.001 4)
Z	1.134	1.134	0.680	0.152
P	0.257	0.257	0.496	0.879

The abundance of *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Lactobacillus* and *Candida albicans* in the T2DM group was slightly lower than that in the healthy control group, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). T2DM: type 2 diabetes mellitus; HC: healthy control



KEGG metabolic pathway enrichment analysis showed that 47 differential metabolic pathways were significantly different between the T2DM and the HC groups. T2DM: type 2 diabetes mellitus; HC: healthy control

Figure 3 KEGG metabolic pathway enrichment maps comparing the T2DM and HC groups

图3 T2DM组和HC组KEGG代谢通路富集图比较

起龋损的基本特征。致龋微生物区系的特点是产酸和耐酸的种类不成比例地增加,包括变异链球菌、乳杆菌、黏性放线菌、白色念珠菌等^[20]。变异链球菌是公认的主要致龋微生物之一,具有形成生物膜、产生有机酸和抵抗各种环境应激(如酸性环境、氧化应激)的能力。近年来也发现了乳杆菌的产酸能力,以及其对弱酸和低pH环境的耐受能力^[21]。与变异链球菌相比,乳杆菌能够在pH 4.0的条件下生长^[22]。黏性放线菌是一种早期在根面定植的微生物,也是根面龋病的重要致病菌^[12],其致龋因素包括很强的细胞黏附能力和代谢碳水化合物的能力,导致大量酸的产生和牙体硬组织的快速脱矿^[23]。白色念珠菌是口腔、呼吸道、消化系统、泌尿生殖系统常见的共生真菌^[12]。根面病损中白色念珠菌的分离检出率约为40%^[24]。白色念珠菌具有高产酸、黏附和溶解羟基磷灰石的能力,可穿透牙本质小管并与胶原蛋白结合,在酸性条

件下分泌水解酶降解胶原蛋白,促进龋齿过程^[25]。

本研究结果显示,2型糖尿病患者龈上菌斑微生物中变异链球菌、乳酸杆菌、黏性放线菌、白色念珠菌等常见的龋病致病菌与正常对照组均无明显差异。Hintao等^[15]通过棋盘DNA-DNA杂交法对2型糖尿病组和正常对照组的龈上菌斑进行检测,发现常见的可疑致龋菌如变异链球菌、乳酸杆菌和酵母菌在两组受试者之间并没有显著差异。然而,也有研究发现2型糖尿病患者相比于健康人群表现出更丰富的致龋菌或者更高的龋齿患病率^[6-7],可能是因为研究对象的选择、采样方式或微生物测序方式的不同。以往研究使用的方法是单纯细菌培养或16S rDNA测序技术,并且选择的并非是口腔健康状况良好的研究对象。通过本研究结果,初步推测口腔健康的2型糖尿病患者的患龋病风险与正常人群可能并无明显差别,可能和2型糖尿病患者的生活饮食习惯有关^[26],糖尿病饮食

中限制精制碳水化合物的摄入,更不容易诱发龋齿。但是,由于本实验所选研究对象均无龋病,且样本量有限,后续还需要进行更全面、样本量更大的纵向研究,以便更深入探究2型糖尿病与龋病之间的关系。

以往研究只能对2型糖尿病患者口腔致龋菌的物种分布特征进行分析,缺乏功能基因水平的研究。本研究通过宏基因组学测序技术在功能基因代谢水平上对相关龋病微生物群进行了更深入的研究,观察到致龋微生物菌群组成结构变化和功能基因代谢通路富集之间存在相关性。2型糖尿病患者口腔微生物中变异链球菌、乳酸杆菌、黏性放线菌、白色念珠菌等常见的龋病致病菌与正常对照组无明显差异;在功能基因水平上,有关代谢途径精氨酸代谢通路等也在2型糖尿病患者显著富集,有利于维持口腔微生态环境的酸碱平衡,这有助于解释2型糖尿病患者为何致龋菌并未发生明显变化。精氨酸的代谢是龈上菌斑生物膜中碱性环境的主要来源之一^[27]。越来越多证据表明,碱的产生,特别是通过精氨酸代谢产生氨的过程,在pH稳态中发挥了重要作用^[28]。精氨酸主要由精氨酸脱亚胺酶系统(arginine deiminase system, ADS)分解,释放鸟氨酸、氨和二氧化碳,有助于提高环境pH值,保护细胞免受致死性酸化,且可能影响变异链球菌、乳杆菌等产酸耐酸菌的生长及致龋潜能^[29]。因此,口腔微生物的代谢活动受口腔微生态环境的影响,全身系统性及口腔局部环境的改变都可能增强或者减弱细菌的致病性,从而诱导微生态环境选择适合的优势微生物群。口腔疾病的发生也许不能只观察某种独特的口腔病原体,还应考虑到整个口腔微生物群落及其功能代谢活动。

总之,通过对口腔健康的2型糖尿病患者口腔微生物的宏基因组学测序结果表明,2型糖尿病组的致龋微生物含量与正常对照组并无明显差异,功能基因差异代谢途径中精氨酸代谢通路增加,能够提高酸性环境pH值,有助于维持口腔微生态环境的酸碱平衡,初步推测口腔健康的2型糖尿病患者的患龋风险与正常人群可能并无明显差别。对2型糖尿病患者口腔致龋微生物群落的结构特征和功能基因进行分析,可为2型糖尿病患者龋病甚至全身疾病的预防和治疗带来全新的思路和方法。本研究采用的宏基因组学测序技术对2型糖尿病口腔微生物代谢活动的描述尚不够全面,且

样本量有限,后续仍需进一步采用代谢组学的方法继续深入探究2型糖尿病患者口腔微生物的具体代谢通路。

【Author contributions】 Li YJ collected, analyzed the data and wrote the article. Wang W analyzed the data. Pan YT, Chen LY and Fan XM collected and measured the data. Tian Y designed the study and revised the article. All authors read and approved the final manuscript as submitted.

参考文献

- [1] Williams R, Karuranga S, Malanda B, et al. Global and regional estimates and projections of diabetes-related health expenditure: results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2020, 162: 108072. doi: 10.1016/j.diabres.2020.108072
- [2] Laouali N, El Fatouhi D, Aguayo G, et al. Type 2 diabetes and its characteristics are associated with poor oral health: findings from 60,590 senior women from the E3N study[J]. *BMC Oral Health*, 2021, 21(1): 315. doi: 10.1186/s12903-021-01679-w.
- [3] González-Moles MÁ, Ramos-García P. State of evidence on oral health problems in diabetic patients: a critical review of the literature [J]. *J Clin Med*, 2021, 10(22): 5383. doi: 10.3390/jcm10225383.
- [4] Mathur VP, Dhillon JK. Dental caries: a disease which needs attention[J]. *Indian J Pediatr*, 2018, 85(3): 202-206. doi: 10.1007/s12098-017-2381-6.
- [5] D'Aiuto F, Gable D, Syed Z, et al. Evidence summary: the relationship between oral diseases and diabetes[J]. *Br Dent J*, 2017, 222(12): 944-948. doi: 10.1038/sj.bdj.2017.544.
- [6] Ribeiro BA, Vieira LC, Alves LS, et al. Impact of detection criteria on coronal and root caries estimates in adults with and without type 2 diabetes mellitus[J]. *Clin Oral Investig*, 2022, 26(4): 3687-3695. doi: 10.1007/s00784-021-04339-z.
- [7] Varughese A, Kavitha R, Sravan KY, et al. Prevalence and severity of coronal and radicular caries among patients with type 2 diabetes mellitus: a cross sectional study[J]. *Med J Armed Forces India*, 2022, 78(Suppl 1): S179-S185. doi: 10.1016/j.mjafi.2020.09.012.
- [8] Coelho AS, Amaro IF, Caramelo F, et al. Dental caries, diabetes mellitus, metabolic control and diabetes duration: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Esthet Restor Dent*, 2020, 32(3): 291-309. doi: 10.1111/jerd.12562.
- [9] Ahmadinia AR, Rahebi D, Mohammadi M, et al. Association between type 2 diabetes (T2D) and tooth loss: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Endocr Disord*, 2022, 22(1): 100. doi: 10.1186/s12902-022-01012-8.
- [10] Lin BP, Taylor GW, Allen DJ, et al. Dental caries in older adults with diabetes mellitus[J]. *Spec Care Dentist*, 1999, 19(1): 8-14. doi:10.1111/j.1754-4505.1999.tb01361.x.
- [11] Philip N, Suneja B, Walsh L. Beyond *Streptococcus mutans*: clinical implications of the evolving dental caries aetiological paradigms and its associated microbiome[J]. *Br Dent J*, 2018, 224(4):

- 219-225. doi: 10.1038/sj.bdj.2018.81.
- [12] Xiong K, Zhu H, Li Y, et al. The arginine biosynthesis pathway of *Candida albicans* regulates its cross-kingdom interaction with *Actinomyces viscosus* to promote root caries[J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10(4): e0078222. doi: 10.1128/spectrum.00782-22.
- [13] Hajishengallis E, Parsaei Y, Klein MI, et al. Advances in the microbial etiology and pathogenesis of early childhood caries[J]. *Mol Oral Microbiol*, 2017, 32(1): 24-34. doi: 10.1111/omi.12152.
- [14] Kampoo K, Teanpaisan R, Ledder RG, et al. Oral bacterial communities in individuals with type 2 diabetes who live in southern Thailand[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80(2): 662-671. doi: 10.1128/AEM.02821-13.
- [15] Hintao J, Teanpaisan R, Chongsuvivatwong V, et al. The microbiological profiles of saliva, supragingival and subgingival plaque and dental caries in adults with and without type 2 diabetes mellitus [J]. *Oral Microbiol Immunol*, 2007, 22(3): 175-181. doi: 10.1111/j.1399-302X.2007.00341.x.
- [16] Yang X, He L, Yan S, et al. The impact of caries status on supragingival plaque and salivary microbiome in children with mixed dentition: a cross-sectional survey[J]. *BMC Oral Health*, 2021, 21(1): 319. doi: 10.1186/s12903-021-01683-0.
- [17] 李玉姣, 程小刚, 钱飞, 等. 健康成人口腔微生物组成及功能的宏基因组学研究[J]. *口腔疾病防治*, 2022, 30(8): 533-541. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2022.08.001.
- Li YJ, Cheng XG, Qian F, et al. Metagenomic study on the composition and function of oral microorganisms in healthy adults[J]. *J Prev Treat Stomatol Dis*, 2022, 30(8): 533-541. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2022.08.001.
- [18] Harding JL, Pavkov ME, Magliano DJ, et al. Global trends in diabetes complications: a review of current evidence[J]. *Diabetologia*, 2019, 62(1): 3-16. doi: 10.1007/s00125-018-4711-2.
- [19] Ramakrishnan H, Nandini VV, Ayyadurai MM, et al. A clinical study to assess the severity of periodontal disease in relation to glycemic status of type II diabetic individuals[J]. *J Pharm Bioallied Sci*, 2022, 14(Suppl 1): S356-S359. doi: 10.4103/jpbs.jpbs_73_22.
- [20] Khoury ZH, Vila T, Puthran TR, et al. The role of *Candida albicans* secreted polysaccharides in augmenting *Streptococcus mutans* adherence and mixed biofilm formation: *in vitro* and *in vivo* studies [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 307. doi: 10.3389/fmicb. 2020.00307.
- [21] Wen ZT, Huang X, Ellepola K, et al. Lactobacilli and human dental caries: more than mechanical retention[J]. *Microbiology (Reading)*, 2022, 168(6). doi: 10.1099/mic.0.001196.
- [22] Horiuchi M, Washio J, Mayanagi H, et al. Transient acid-impairment of growth ability of oral *Streptococcus*, *Actinomyces*, and *Lactobacillus*: a possible ecological determinant in dental plaque[J]. *Oral Microbiol Immunol*, 2009, 24(4): 319 - 324. doi: 10.1111/j.1399-302X.2009.00517.x
- [23] Deng L, Li W, He Y, et al. Cross-kingdom interaction of *Candida albicans* and *Actinomyces viscosus* elevated cariogenic virulence[J]. *Arch Oral Biol*, 2019, 100: 106 - 112. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.02.008.
- [24] Beighton D, Ludford R, Clark D T, et al. Use of CHROMagar *Candida* medium for isolation of yeasts from dental samples[J]. *J Clin Microbiol*, 1995, 33(11): 3025-3027. doi: 10.1128/jcm.33.11.3025-3027.1995.
- [25] Pereira D, Seneviratne CJ, Koga-Ito CY, et al. Is the oral fungal pathogen *Candida albicans* a cariogen?[J]. *Oral Dis*, 2018, 24(4): 518-526. doi: 10.1111/odi.12691.
- [26] Almeida-Santos A, Martins-Mendes D, Gayà-Vidal M, et al. Characterization of the oral microbiome of medicated type-2 diabetes patients[J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 610370. doi: 10.3389/fmicb.2021.610370.
- [27] Agnello M, Cen L, Tran NC, et al. Arginine Improves pH homeostasis via metabolism and microbiome modulation[J]. *J Dent Res*, 2017, 96(8): 924-930. doi: 10.1177/0022034517707512.
- [28] Huang X, Zhang K, Deng M, et al. Effect of arginine on the growth and biofilm formation of oral bacteria[J]. *Arch Oral Biol*, 2017, 82: 256-262. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.06.026.
- [29] Chakraborty B, Burne RA. Effects of Arginine on *Streptococcus mutans* growth, virulence gene expression, and stress tolerance[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2017, 83(15): e00496-17. doi: 10.1128/AEM.00496-17.

(编辑 罗燕鸿)



官网