

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.10.041

乳酸杆菌在口腔中益生特性的研究*

郭曼丽, 聂红兵[△], 周海静

(西北民族大学口腔医学院/口腔医学国家民委重点实验室, 甘肃兰州 730030)

[关键词] 乳酸杆菌; 菌种类型; 口腔疾病; 益生作用

[中图分类号] R781.05

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)10-1408-03

乳酸杆菌(lactobacilli, LB)广泛存在于人体的口腔、泌尿生殖道及胃肠道内,是一类杆状或球状的革兰阳性、厌氧或兼性厌氧菌,其嗜酸性,因发酵糖类而产生大量的乳酸,生存最适宜 pH 值为 5.5~6.0。有研究证实,在肠道及阴道中 LB 由于能够维持胃肠道、阴道菌落间的平衡,被公认为益生菌。LB 在口腔中对于口腔疾病的发生、发展也发挥重要作用,然目前较少的研究报道其具体益生特性^[1]。以往研究普遍认为由于在患龋部位高检出率的口腔 LB,以及其产酸耐酸特性,因此,被认为它是龋病发展过程中发挥致病作用的主要致病菌之一。但随着越来越多研究对于 LB 益生特性的报道深入,发现将 LB 应用于龋病、牙周病等口腔疾病的临床防治中具有广阔的前景。本文从 LB 在口腔中的种类、来源、对口腔疾病的治疗以及其发挥益生作用的机制等方面的研究现状进行综述。

1 口腔中 LB 的概述

口腔内微生物数量多, LB 约占口腔微生物总数的 1%, 其种类多种多样, 主要存在于唾液及牙菌斑中。在口腔中长期定植的 LB 一般有 4~8 种菌种^[2]、共有 100 多种亚型^[1]、较为常见的有植物 LB、口腔 LB、加氏 LB、唾液 LB、发酵 LB、鼠李糖 LB(LGG)和干酪 LB 等。目前,对于口腔 LB 不同菌种特性的研究不系统且不确定, LB 部分菌种或亚型有强致龋性,部分菌种或亚型则具有益生特性^[3]。除了口腔中嗜酸 LB 是公认的致龋菌,在龋病尤其是牙本质龋中的具有强致龋性外,有报道称干酪 LB、发酵 LB、植物 LB 也为致龋菌^[4],与龋病的发病密切相关。而另有文献报道口腔中干酪 LB、植物 LB HO-69^[5]及发酵 LB 等具有口腔益生特性^[6],能够抑制变异链球菌、牙周病致病菌等致病微生物的生长,能有效的降低龋病发生率、减轻牙周病患者的临床症状。有研究报道副干酪 LB、LGG、唾液 LB 等也具有口腔益生特性^[7]。

2 LB 益生性菌种的生物学特性

口腔是个复杂的微生态环境,多种因素如饮食习惯、年龄、内分泌、唾液成分等改变均可在一定程度上影响到口腔微环境,从而造成细菌的种类、数量及活力等的改变^[8]。在健康人群和患病人群中,口腔微生态动态平衡发生改变,唾液和牙菌斑中的 LB 组成和结构及种属特性也发生一定的变化^[9]。相较于口腔疾病患者,从健康人群中分离出的 LB 菌株具有良好的抑菌效果,可以作为口腔益生菌的来源。Simark Mattsson 等^[10]从健康人群口腔中筛选出 LB,其中 23 株菌株具有抑制变异链球菌生长的作用,其中干酪 LB、植物 LB、LGG 的抑菌效果最明显。杨娟等^[11]从口腔健康人群的牙菌斑样品中分离出一株发酵 LB Y29,通过分析得出该菌能够抑制变异链球菌的生长,并有形成生物膜的能力,在防治龋齿方面具有潜在的益生特性。杨颖等^[5]从无龋无牙周疾病的健康成年人的唾

液中分离出植物 LB HO-69,研究发现该菌株产生的抑菌物质具有光谱抑菌活性,相较于其他 LB 菌种其对变异链球菌有较强的抑制作用。另有两种益生作用明显的菌株副干酪 LB 和发酵 LB 也均是从无龋儿童口腔中分离出来^[12]。另外相似的研究报道表明,具有益生作用的 LB 菌株来源于无龋人群^[13],它们能十分显著的抑制变异链球菌的生长。更进一步的研究表明,从健康人群唾液和龈下菌斑中分离的加氏 LB 对牙周病致病菌的抑制作用较从牙周病中分离出来菌株的抑制作用强^[14]。

3 益生性 LB 在口腔疾病中的作用

众多研究发现, LB 作为益生菌在龋病和牙周病的等口腔疾病治疗和防治中发挥着积极的作用:(1) LB 菌种能够降低儿童的患龋率;(2) 部分菌种能够缓解牙周病临床症状,控制牙周炎症,而且还可以控制口腔中白色念珠菌病,有研究提示,它可以用于控制口腔源性口臭的治疗。而长时间摄入含有 LGG 的牛奶可以减少龋病发生的风险^[15]。有研究发现,副干酪 LB、植物 LB、LGG、干酪 LB 和唾液 LB 也具有口腔益生作用,能够抑制变异链球菌的数量和其生物膜的形成,其中以副干酪 LB、植物 LB、LGG 和唾液 LB 的益生作用最为显著,可以起到对龋病的保护预防作用^[6,14]。Stamatova 等^[16]研究显示,口腔 LB 在控制牙周病发展和抑制牙周致病菌生长中也可以发挥同样的益生作用。Shah 等^[17]用益生菌治疗侵袭性牙周炎,表明临床菌斑指数,牙龈指数明显降低,牙周袋深度变浅和临床附着水平升高,患者牙周病临床症状明显减轻。Shimauchi 等^[18]通过对重度牙周病患者给予唾液 LB WB21 含片,设置对照组,8 周后观察牙周袋深度、探针出血指数、牙龈指数和菌斑指数,同时收集龈上龈下菌斑和唾液样本,检测两组间唾液 LB 水平的变化,得出唾液 LB 能够明显地缓解牙周病的临床症状,改善牙周状况的结论。

4 LB 的益生特性的机制

4.1 益生菌抑制致病菌的作用 LB 在发挥益生作用时,分泌一些有机酸、过氧化氢、细菌素,这些物质能够抑制变异链球菌或牙周病致病菌等的生长^[19]。Hasslöf 等^[20]采用琼脂覆盖法研究 10 种益生性 LB 菌种对变异链球菌和白色 LB 的抑制作用,其中植物 LB299v 和植物 LB 931 的抑菌作用最为明显。Juneja 等^[21]将 12~16 岁的 40 名中高龋儿童分成两组,分别给予纯牛奶和含有益生菌 LGG 牛奶,每个时间段收集唾液样本对变异链球菌计数,统计学分析后益生菌能够有效降低唾液中变异链球菌的数量,并对龋病预防有着积极作用。Ritthagol 等^[22]等将服用含有副干酪 LB SD1 的牛奶和不含有益生菌的牛奶人群分为两组,对其进行 28 d 观察,检测发现使用含副干酪 LB SD1 益生菌牛奶的人群中变形链球菌的数量明显少于

* 基金项目:2012 西北民族大学中央高校基本业务费专项资金项目(2y22012098)。 作者简介:郭曼丽(1987-),助教,硕士研究生,主要从事口腔微生物学研究。 [△] 通讯作者, Tel:(0931)2938555; E-mail: yxnhb@xbmu.edu.cn。

对照组,并且在其期间益生菌能够定植到该人群口腔中发挥抑菌作用。杨颖等^[5]对植物 LB HO-69 的口腔益生特性进行研究时发现,该菌株对牙面、牙本质和黏膜的黏附率非常低,具有的较高的表面疏水性能,抑菌实验也证明该菌株对变异链球菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌等具有广谱抑菌活性。一些相关的临床研究证明,唾液 LB WB21 或 LB T12711 能够显著降低唾液和龈下菌斑样本中的牙周病致病菌和黑色素厌氧素^[16]。

4.2 益生菌的黏附作用 LB 在口腔中生长并发挥益生作用的前提条件是能够黏附到唾液生物膜表面、定植和生长,才能发挥抑制口腔致病菌的作用。益生菌能够减少变异链球菌的黏附,并通过阻碍其他细菌的黏附及调控唾液获得性膜中蛋白质组成来影响口腔生态系统,这种解释益生菌防龋机制的提法的被国际上广泛认同^[7]。尽管在牙体组织和黏膜部位,益生菌只有具备良好的黏附能力才能够与致病菌竞争唾液生物膜表面的结合位点,才能减少致病菌的定植黏附和生物膜的形成,但是复杂的口腔微生态环境本身就是一个巨大负载环境,每种变化都受到特定主导优势的驱动。

Martinen 等^[23]在研究益生性 LB 对变异链球菌影响的实验中发现,PTA 5289 罗伊 LB 和副干酪 LB DSMZ16671 抑制了变异链球菌在羟基磷灰石表面的黏附和生物膜形成。Soderling 等^[24]研究益生性 LB 对变异链球菌生物膜形成的体外实验中发现,LGG、植物 LB 99v 和罗伊 LB PTA 5289 和 SD2112 均能够抑制变异链球菌在玻璃板上黏附和生长,干扰其形成生物膜的能力,其中罗伊 LB SD2112 和 LGG 的抑制能力最为明显。Samot 等^[3]在体外模拟口腔硬组织,研究口腔中 70 种的 LB 菌株在玻璃、羟基磷灰石表面的黏附性,其中 13 株菌株在两种组织表面均具有良好的黏附特性,可以用于降低人群龋病患病风险。国内杨娟等^[11]在研究口腔 LB 和变异链球菌的聚集能力时分析表明,变异链球菌的自聚集能力明显高于 LB,变异链球菌这种较强的聚集能力是造成龋病的因素之一,但是将两种细菌共培养时,LB 能与变异链球菌发生共聚集,并在一定程度上减少了变异链球菌的自聚集性,阻碍了变异链球菌在牙面上的黏附。

4.3 益生菌的耐酸作用 LB 另外一个重要特性是具有耐酸性。口腔微环境中长期存在一定的溶菌酶和过氧化氢等,同时 LB 也能够分泌有机酸、过氧化氢等酸性物质,作为益生菌,LB 必须在酸性条件下具有一定的耐受力,才能在口腔环境中存活^[11]。Keller 等^[25]选择从健康无龋和易患龋成人口腔中分离出变异链球菌菌株,采用琼脂覆盖法将其与益生性的 LB 菌株共同培养观察,结果证明 LB 能够抑制变异链球菌的生产,但这种抑制作用与 pH 值相关,低 pH 值下抑制效果更加明显。Simark Mattsson 等^[10]的研究证明,通过琼脂覆盖法将 LB 和变异链球菌一起培养,20 h 后测量培养基中的 pH 值和变异链球菌的生产,最终的实验数据结果证明在一个低 pH 值的环境下更能有效地表现出对变异链球菌的抑制效果。Strahinic 等^[26]在口腔中收集样本分离出 26 株 LB 菌株,并对其进行益生性研究,发现唾液 BGHO1 和的 BGHO89 有良好的低 pH 值耐受性,是潜在的益生性菌株。LB 还可以通过调节 pH 值或氧化还原电位变化,影响致病菌赖以生存的环境和抑制数量的增长。结合上述研究结果表明,LB 在发挥抑菌性时必须具备耐酸特性,才能在低 pH 生存以及发挥作用,并表现出更大的生长优势^[14]。

5 展 望

目前,具有口腔益生特性菌种的研究只占 LB 种类的很少

部分,具有益生特性的 LB 种类、数量及发挥作用的机制很大程度上仍然未知。因此,明确口腔中 LB 不同菌种与口腔疾病之间的关系,筛选具有益生特性的口腔 LB、寻找新的益生 LB 菌株,在口腔疾病的防治中具有重要意义。

参考文献

- [1] Yang R, Argimon S, Li Y, et al. Determining the genetic diversity of lactobacilli from the oral cavity[J]. *J Microbiol Methods*, 2010, 82(2):163-169.
- [2] Yao SG, Fine JB. Probiotics for bacterial disease treatment in the oral environment[J]. *Compend Contin Educ Dent*, 2014, 35(9):658-663.
- [3] Samot J, Lebreton J, Badet C. Adherence capacities of oral lactobacilli for potential probiotic purposes[J]. *Anaerobe*, 2011, 17(2):69-72.
- [4] Kuribayashi M, Kitasako Y, Matin K, et al. Intraoral pH measurement of carious lesions with qPCR of cariogenic bacteria to differentiate caries activity[J]. *J Dent*, 2011, 23(11):584-590.
- [5] 杨颖, 陈卫, 张灏, 等. 植物乳杆菌 HO-69 的口腔益生性质研究[J]. *华西口腔医学杂志*, 2008, 26(5):482-489.
- [6] Elavarasu S, Jayapalan P, Murugan T. Bugs that debugs: Probiotics[J]. *J Pharm Bioallied Sci*, 2012, 4(S2):S319-S322.
- [7] Cagetti MG, Mastroberardino S, Milia E, et al. The use of probiotic strains in caries prevention: a systematic review [J]. *Nutrients*, 2013, 5(7):2530-2550.
- [8] Melfine MH, Noverr MC. Importance of Candida-bacterial polymicrobial biofilms in disease[J]. *Trends Microbiol*, 2011, 19(11):557-563.
- [9] Cogulu D, Topaloglu-Ak A, Caglar E, et al. Potential effects of a multistrain probiotic-kefir on salivary Streptococcus mutans and Lactobacillus spp [J]. *J Dent Sci*, 2010, 5(3):144-149.
- [10] Simark-Mattsson C, Jonsson R, Emilson CG, et al. Final pH affects the interference capacity of naturally occurring oral Lactobacillus strains against mutans Streptococci[J]. *Arch Oral Biol*, 2009, 54(6):602-607.
- [11] 杨娟, 堵国成, 陈坚, 等. 口腔乳酸杆菌的分离及其益生特性[J]. *微生物学报*, 2013, 53(4):403-408.
- [12] Piwat S, Teanpaisan R, Thitasomakul S, et al. Lactobacillus species and genotypes associated with dental caries in Thai preschool children[J]. *Mol Oral Microbiol*, 2010, 25(2):157-164.
- [13] Wescombe PA, Hale JD, Heng NC, et al. Developing oral probiotics from Streptococcus salivarius[J]. *Future Microbiol*, 2012, 7(12):1355-1371.
- [14] Teanpaisan R, Piwat S, Dahlén G. Inhibitory effect of oral Lactobacillus against oral pathogens [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2011, 53(4):452-459.
- [15] Schwendicke F, Dörfer C, Kneist S, et al. Cariogenic effects of probiotic Lactobacillus rhamnosus GG in a dental biofilm model[J]. *Caries Res*, 2014, 48(3):186-192.
- [16] Stamatova I, Meurman JH. Probiotics and periodontal disease[J]. *Periodontology 2000*, 2009, 51(1):141-151.

- [17] Shah MP, Gujjari SK, Chandrasekhar VS. Evaluation of the effect of probiotic (inersan?) alone, combination of probiotic with doxycycline and doxycycline alone on aggressive periodontitis - a clinical and microbiological study[J]. J Clin Diagn Res, 2013, 7(3):595-600.
- [18] Shimauchi H, Mayanagi G, Nakaya S, et al. Improvement of periodontal condition by probiotics with Lactobacillus salivarius WB21: a randomized, double-blind, placebo-controlled study[J]. J Clin Periodontol, 2008, 35(10):897-905.
- [19] Vuotto C, Longo F, Donelli G. Probiotics to counteract biofilm-associated infections: promising and conflicting data [J]. Int J Oral Sci, 2014, 6(4):189-194.
- [20] Hasslöf P, Hedberg M, Twetman S, et al. Growth inhibition of oral mutans streptococci and candida by commercial probiotic lactobacilli—an in vitro study[J]. BMC Oral Health, 2010, 10(18):1-6.
- [21] Juneja A, Kakade A. Evaluating the effect of probiotic containing milk on salivary mutans streptococci levels[J]. J Clin Pediatr Dent, 2012, 37(1):9-14.
- [22] Ritthagol W, Saetang C, Teanpaisan R. Effect of probiotics containing Lactobacillus paracasei SD1 on salivary Streptococci mutans and Lactobacilli in orthodontic cleft patients: a double-blinded, randomized, placebo-controlled study[J]. Cleft Palate Craniofac J, 2014, 51(3):257-263.
- [23] Marttinen AM, Haukioja AL, Keskin M, et al. Effects of Lactobacillus reuteri PTA 5289 and L. paracasei DSMZ16671 on the adhesion and biofilm formation of Streptococcus mutans[J]. Curr Microbiol, 2013, 67(2):193-199.
- [24] Soderling EM, Marttinen AM, Haukioja AL. Probiotic lactobacilli interfere with Streptococcus mutans biofilm formation in vitro[J]. Curr Microbiol, 2011, 62(2):618-622.
- [25] Keller MK, Hasslöf P, Dahlén G, et al. Probiotic supplements (Lactobacillus reuteri DSM 17938 and ATCC PTA 5289) do not affect regrowth of mutans streptococci after full-mouth disinfection with chlorhexidine: a randomized controlled multicenter trial[J]. Caries Res, 2012, 46(2):140-146.
- [26] Strahinic I, Busarcevic M, Pavlica D, et al. Molecular and biochemical characterizations of human oral lactobacilli as putative probiotic candidates[J]. Oral Microbiol Immunol, 2007, 22(2):111-117.

(收稿日期:2014-10-08 修回日期:2015-01-16)

雾化吸入抗癌药物治疗肺部肿瘤的研究进展

周 芊 综述, 王 东[△] 审校

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所肿瘤中心, 重庆 400042)

[关键词] 雾化吸入; 药物疗法; 抗肿瘤药物; 肺肿瘤

[中图分类号] R453.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)10-1410-04

雾化吸入抗肿瘤药物为肺癌及肺转移瘤的治疗, 提供了一种有效、低毒的治疗方法。本文重点介绍了雾化吸入抗肿瘤药物的种类、常见不良反应, 以及脂质体药物的进展, 对临床推广和规范雾化吸入抗肿瘤药物治疗肺部恶性肿瘤具有重要意义。非小细胞肺癌 (non-small cell lung carcinoma, NSCLC) 是原发于肺部的高度异质性肿瘤, 全球发病率和致死率最高, 5 年生存率仅 15%。尽管随着新的治疗途径和新药物剂型的不断发展, 但临床上 NSCLC 患者的治疗有效性进入一个平台期^[1]。当前肿瘤分子靶向治疗为 NSCLC 治疗的一个亮点, 但尚未取得人们期许的结果。主要存在的问题是细胞突变所致的肿瘤生物学改变^[2-3], 故目前分子靶向药物仅有小部分人群获益。因此, 越来越多的学者致力于研究细胞毒药物其他的给药方式。理想的化疗药物应是能直接和持续最大限度地发挥药物对癌细胞的杀伤效应, 而对正常的组织无损伤。雾化吸入可以将药物无创地直接投送到肺部, 在治疗非肿瘤疾病方面已得到广泛应用。雾化吸入抗肿瘤药物为 NSCLC 及肺转移瘤的治疗, 提供了一种有效、低毒、简便的方法, 现将其研究近况综述如下。

1 常用雾化化疗药物

1.1 5-氟尿嘧啶 (5-Fu) 5-Fu 属于抗代谢类, 对增殖细胞各

期均有杀伤作用, 以 S 期癌细胞最为敏感。为呼吸系统恶性肿瘤化疗常用药物。Tatsumura 等^[4]最早将 5-Fu 用于雾化吸入治疗肺癌。其后进一步研究将 5-Fu 给犬及肺癌患者雾化吸入, 探讨其对肺癌的治疗作用, 结果吸入 4~6 h 后肿瘤组织 5-Fu 浓度为 0.086 mg/g, 而 5-Fu 抗肿瘤作用剂量浓度为 0.05 mg/g, 证明该方法可使 5-Fu 在癌组织、肺门支气管及其淋巴结内达到高浓度; 而血浆 5-Fu 浓度极低, 肺组织标本未见明显病理损害^[5]。近几年国内外学者热衷于研究亚微米治疗, 许多如 5-Fu 的脂质体包膜和脂质体纳米等剂型也随之出现, 研究发现其呼吸系统的不良反应与剂型无关, 仅与 5-Fu 本身有关。5-Fu 最主要的问题就是支气管损害^[5]。有研究发现, 患者经过多次纤维支气管镜检查均提示肿瘤消退明显, 并且气雾剂可以分布到整个气道, 但主要气流会因为肿瘤结构发生转向, 因而需要考虑到肿瘤表面要有足够高的药物浓度与细胞外基质作用, 最终才能诱导肿瘤消退^[6]。故这个化疗药物气雾剂型需要进一步研究, 证实其与静脉用药相比较的效果和安全性。

1.2 顺铂和卡铂 顺铂为周期非特异性药物, 是目前治疗肺癌最有效的药物之一, 对癌细胞的杀伤能力强于 5-Fu。同时药物体内半衰期顺铂较 5-Fu 长, 因此顺铂在癌灶内更易聚集,