

• 基础研究 •

唾液对变形链球菌 Mutans 和
变形链球菌 Sobrinus 粘附的影响*

华西医科大学口腔医学院 潘志红** 罗宗莲 张静仪 吉庆勇

摘要 用³H标记变形链球菌遗传分型 I 型 *S. mutans* JBP 和 III 型 *S. sobrinus* 6715, 观察细菌在经唾液液包被的羟基磷灰石(HA)微珠表面的粘附量, 以研究唾液对两种菌粘附的影响。结果表明, *S. mutans* JBP 和 *S. sobrinus* 6715 对经唾液包被的 HA 上的粘附量有明显差异, I 型 JBP 的粘附量显著多于 III 型 6715 ($P < 0.01$), 在无唾液包被的 HA 上, 两者粘附量无明显差异 ($P > 0.05$)。结果说明变形链球菌 I 型 *S. mutans* 粘附的条件, 在口腔唾液环境易于满足, 从而解释 *S. mutans* 在流行病学调查中的优势地位。

关键词 变形链球菌 唾液 粘附

变形链球菌(简称变链)是龋病的主要致病菌。流行病学调查发现, 在变链的检出率中, 遗传型分类的变链 I 型 *mutans* (血清型 c, e, f) 以 70%~90% 的压倒优势高于变链 III 型 *sobrinus* (血清型 d, g) 的 10%~30%, 然而变链 I 型 *mutans* 一直作为变链的代表, 受到重视。近期研究表明, 变链 I 型和 III 型均具有很强的产酸力, 而 III 型的耐酸力更强于 I 型。变链须粘附于牙面, 并定居形成牙菌斑才可能致龋, 不少研究报告表明^[1~4], 唾液与变链的粘附作用有密切关系。探讨两种菌在龋病中的地位, 研究唾液对两者粘附作用的影响是很有意义的。本文报道, 用放射性同位素标记变链 I 型 *mutans* 和 III 型 *sobrinus*, 观察免全唾液对两种菌在羟基磷灰石表面粘附的影响。

1 材料和方法

1.1 免唾液的采集

健康、雄性新西兰大白兔, 臀部肌注 1% 匹罗卡品 2 ml (10 mg/kg), 收集免全唾液, 用 TGL-16G 型台式离心机(上海医用分析仪器厂)离心 (10000 rpm × 30 min), 取上清液, 用孔径 0.22 μm 的微孔膜过滤, 去除

细菌及杂质, 加入 3% NaN₃ 抑菌, 放置 4℃ 保存, 备用。

1.2 细菌的鉴定及标记

菌种: 变链 I 型 *mutans* JBP (血清 c 型),

变链 III 型 *sobrinus* 6715 (血清 g 型)。

以上菌种由美国波士顿 Forsyth 中心提供。

鉴定: 细菌接种于改良 T₂ 液体培养基, 在 N₂ 90%, CO₂ 10% 的条件下, 37℃ 培养 48 h, 分别进行形态学、生化学及血清学鉴定, 证实无误, 进入下一步实验。

标记细菌: I 型 JBP 及 III 型 6715 分别接种于改良 T₂ 培养液, 加入³H-胸腺嘧啶核苷(浓度为 10 μCi/ml)。37℃ 厌氧培养 24 h, 离心 (3000 rpm × 30 min), 弃去上清液, 用磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4) 清洗细胞两次, 再以 PBS 稀释菌悬液浓度达到 5 × 10⁷/ml, 备用。

1.3 细菌的粘附

用 1/10000 精密电子天平称取每组 10 mg 羟基磷灰石微珠 (HA), 置于 96 孔板各孔内, PBS 浸泡过夜。

吸干每孔内液体, 实验组每孔加入免唾液各 125 μl 以包被 HA 微珠 (SHA), 轻微震荡, 对照组不加唾液, 而用 PBS 处理 (BHA), 室温放置 2 h。

吸干液体, 用 PBS 洗 2 次, 再加入牛血清白蛋白 (BSA) 各 125 μl (浓度 2 mg/ml) 以封闭未被唾液包被的 HA 表面, 目的是防止非特异性的细菌粘附^[5]。对照组不加 BSA。轻微震荡, 室温放置 2 h。

* 国家自然科学基金资助项目

** 现在广东省江门市口腔医院

吸干液体,用 PBS 洗 2 次,按分组设计分别加入 JBP 或 6715 菌液各 125 μ l,轻微震荡,室温放置 2 h。

吸干液体,用 PBS 洗 3 次,取出粘附了细菌的 HA 置于 FJ-2107 型液体闪烁计数器(西安二六二厂)中进行液闪计数,减去本底,即为粘附的细菌数。

2 结 果

唾液对变链 JBP 和 6715 粘附的影响见附表和图 1,图 2。

附表 唾液对 JBP 和 6715 粘附的影响

	细菌粘附数($10^2/10\text{mg HA}$)		P
	唾液包被 $\bar{x} \pm s$	PBS 处理 $\bar{x} \pm s$	
JBP	29.26 \pm 0.69	22.44 \pm 1.24	$P < 0.01$
6715	20.97 \pm 0.57	23.08 \pm 1.16	$P < 0.05$
	$P < 0.01$ $P > 0.05$		

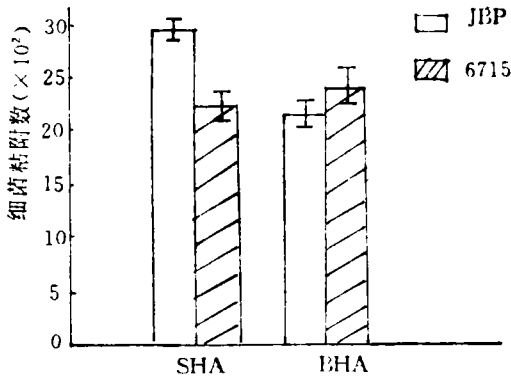


图 1 唾液对 JBP 和 6715 粘附的影响

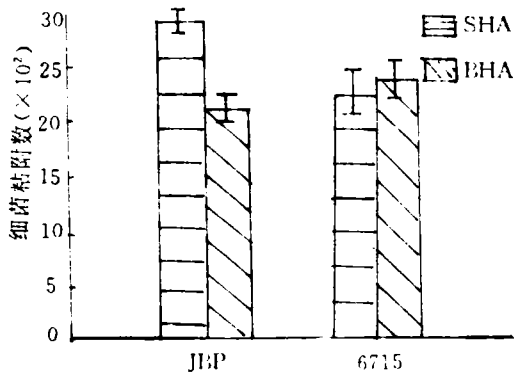


图 2 不同细菌在 SHA 及 BHA 上的粘附情况

附表显示,JBP 和 6715 相比,不用唾液包被时 JBP 和 6715 的粘附数无明显差异($P > 0.05$),但在包被了唾液时 JBP 粘附数显著多于 6715($P < 0.01$);SHA 和 BHA 相比,用唾液包被 HA,可明显增加 JBP 的粘附数($P < 0.01$),但对于 6715,则不但不增加,反而有所降

低($P < 0.05$),见图 1,图 2。

3 讨 论

本实验结果表明,变链 I 型 mutans JBP 在用唾液包被的 SHA 上的粘附量明显多于未经唾液包被 BHA 上的粘附量($P < 0.01$)。变链 III 型 sobrinus 6715 在 SHA 上的粘附量却少于在 BHA 的粘附量($P < 0.05$)。这与 Gibbons 等^[6,7]研究的结果相一致,他们还发现,将取得的唾液,先经变链 I 型 mutans JBP 吸附后,再于 HA 上形成的获得性膜,可以使 mutans JBP 的粘附量减少,但对变链 III 型 sobrinus 6715 的粘附量不变。但是先经变链 III 型 sobrinus 6715 吸附后的唾液所形成的获得性膜,对变链 I 型和 III 型的粘附均无明显影响。说明唾液中的某些成分可促进变链 I 型 mutans 的粘附,但对变链 III 型 sobrinus 的粘附无影响。提示 I 型 mutans 和 III 型的 sobrinus 的粘附机理有所不同。

本实验结果还显示,变链 I 型 mutans JBP 和 III 型 sobrinus 6715 相比较,JBP 在唾液包被的 SHA 上的粘附量明显多于 6715。这一结果,与变链流行病学检查所发现,变链 I 型 mutans (血清 c, e, f 型)的检出率显著大于变链 III 型 sobrinus (血清 a, d, g 型)的结果相一致。可以考虑,变链 I 型 mutans 所要求的某些粘附条件——唾液,在口腔环境易于满足,因此粘附、定居的数量和比例较大,这也从一个方面解释了变链 I 型 mutans 在口腔检出率高的原因。

目前的研究发现变链 I 型 mutans 和变链 III 型 sobrinus 在人体牙面定居的部位,在菌斑中的比例和在牙列上的分布均有所不同^[8]。这与两种菌在牙面粘附的特性不同可能有关^[2,9]。有作者发现,变链 S. mutans 与唾液形成获得性膜的粘附,可以由菌细胞的粘附素(adhesion)与唾液膜中的多糖成份受体(receptor)结合,介导完成。而变链 S. sobrinus 细胞与唾液获得性膜的粘附,可以由葡萄糖基转移酶与唾液膜中的葡聚糖受体相结合,介导完成^[6,4]。本实验的粘附环境,不存在蔗糖,因此也缺乏由变链合成的

葡聚糖,故变链 *sobrinus* 在 SHA 上的粘附量,明显少于变链 *mutans*。这也提示变链 I 型 *mutans* 的粘附,由唾液所促进,而 III 型 *sobrinus* 的粘附,不由唾液促进,尚需其它条件如糖的存在。可以考虑 *sobrinus* 对糖的关系更为密切,这也是今后深入研究的一个方面。

4 参考文献

- 1 McCabe MM. Comments on adherence of *Streptococcus mutans*. *J Dent Res*, 1976; 55: c 226
- 2 Gibbons RJ, Etherden I. Enzymatic modification of bacterial receptors on saliva-treated hydroxyapatite surface. *Infect Immun*, 1982; 36(1): 52
- 3 Emilson CG, Ciardi JE, Olsson J, et al. The influence of saliva on infection of the human mouth by *mutans* *Streptococci*. *Arch Oral Biol*, 1989; 34(5): 335
- 4 Rolla G, Ciardi JE, Schultz SA, et al. Adsorption of glycosyltransferase to saliva coated HA: possible mechanism for sucrose dependent bacterial colonization of teeth. *Scand J Dent Res*, 1983; 91(2): 112
- 5 Yen S, Gibbons RJ. The influence of albumin on adsorption of bacteria on hydroxyapatite beads in vitro and human tooth surfaces in vivo. *Arch Oral Biol*, 1987; 32(7): 531
- 6 Gibbons RJ, Cohen L, Hay DI. Strains of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* attach to different pellicle receptors. *Infect Immun*, 1986; 52(2): 555
- 7 Liu T, Gibbons RJ, Hay DI. Selective binding of "Mutans" *Streptococci* to salivary components adsorption on apatite surfaces. *J Dent Res*, 1990; 69(special issue): 141
- 8 Linquist B, Emilson CG. Distribution of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* on teeth surfaces in humans harboring both species. *Caries Res*, 1989; 23(6): 451
- 9 Pratt-Terpstra IH, et al. The effects of pellicle formation on *Streptococcal* adhesion to human enamel and artificial substrata with various surfaces free-energies. *J Dent Res*, 1989; 68(3): 463

(1992-12-25 收稿)

The Effect of Saliva on Adherence of *S. mutans* and *S. sobrinus*

Pan Zhihong, Luo Zonglian, Zhang Jingyi, Ji Qingyong

Stomatological College, West China University of Medical Sciences

Abstract

An adhesive study was tested with *S. mutans* and *S. sobrinus* radiolabeled by [³H]. The adsorptive behavior of *S. mutans* JBP and *S. sobrinus* 6715 to pellicles formed from saliva of rabbit on hydroxyapatite beads was observed. The results showed that the saliva pellicles markedly enhanced attachment of *S. mutans* but not enhanced attachment of *S. sobrinus* ($P < 0.01$) and both organisms showed no difference on HA beads without saliva pellicles ($P > 0.05$).

It seems that the saliva could satisfy some conditions for the adherence of *S. mutans* JBP and this may be one reason to explain the dominance of *S. mutans* in epidemiological investigation.

全国第四次口腔正畸学术交流会征文通知

经中华医学会批准,全国第四次口腔正畸学术交流会将于 1994 年 10 月 29~31 日在杭州举行。会议将对近年来我国口腔正畸学的进展进行学术交流,并将邀请国际著名口腔正畸学专家作学术讲演。

征文内容:1. 口腔正畸的临床研究和经验总结;2. 口腔正畸的基础研究;3. 口腔正畸的矫治器制作研究及经验总结;4. 口腔正畸的临床护理经验总结;5. 典型病例报告及模型展示。

投稿者请寄全文及 500 字以内摘要一份(典型病例报告需附矫治前后牙模,正侧位照片)。截稿日期为 1994 年 6 月 15 日。稿件请寄:北京海淀区魏公村北京医科大学口腔医学院口腔正畸科贾玲玲(邮编:100081),信封上请注明“会议征文”。

(中华口腔科学会口腔正畸学组)