

烟酰胺抑制变异链球菌生长及生物膜形成的研究*

林永旺, 敬美玲, 李雨庆, 周学东[△]

口腔疾病研究国家重点实验室 国家口腔疾病临床医学研究中心 四川大学华西口腔医院(成都 610041)

【摘要】 目的 研究烟酰胺(nicotinamide, NAM)对变异链球菌(*Streptococcus mutans*, *S. mutans*)生长、形成生物膜及合成胞外多糖的影响。方法 通过药敏试验测定NAM对*S. mutans*的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。NAM处理组设置1/2 MIC、1/4 MIC和1/8 MIC三个质量浓度组;设置阴性对照组为不含NAM的培养基;设置阳性对照组为含0.1 mg/mL NaF的培养基(扫描电镜检测除外)。绘制*S. mutans*在不同浓度NAM作用下的生长曲线;结晶紫定量法和蒽酮-硫酸法分别探究NAM对*S. mutans*形成生物膜及合成水不溶性胞外多糖的影响;在扫描电镜下观察NAM对*S. mutans*浮游菌及生物膜的形态和结构的影响。结果 NAM对*S. mutans*的MIC值为32 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 。经过16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (1/2 MIC)、8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (1/4 MIC)、4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (1/8 MIC) NAM处理后, *S. mutans*的生长和生物膜的形成均受到抑制, 其中16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM组的抑制效果最显著。16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM组、8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM组胞外多糖的合成均下降, 与阴性对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$)。扫描电镜观察发现, 经NAM处理后, *S. mutans*的细胞长度缩短, 宽度延长, 长宽比例下降, 16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 和8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的NAM组与阴性对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 在一定浓度的NAM作用下, *S. mutans*的生长、生物膜形成及胞外多糖合成均受到抑制。

【关键词】 烟酰胺 变异链球菌 生物膜 胞外多糖

Inhibitory Effects of Nicotinamide on *Streptococcus mutans* Growth and Biofilm Formation LIN Yong-wang, JING Mei-ling, LI Yu-qing, ZHOU Xue-dong[△]. State Key Laboratory of Oral Diseases, National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: zhouxd@scu.edu.cn

【Abstract】 **Objective** To explore the effects of nicotinamide (NAM) on the growth, biofilm formation and exopolysaccharides (EPS) production of *Streptococcus mutans*. **Methods** The minimum inhibitory concentration (MIC) of NAM on *S. mutans* was determined by the planktonic bacterial susceptibility assay. The NAM mass concentrations were set as 1/2 MIC, 1/4 MIC and 1/8 MIC for three separate treatment groups. Culture medium without NAM was used in the negative control group and culture medium containing 0.1 mg/mL NaF was used for the positive control group (except for the scanning electron microscopy). The growth curves of *S. mutans* under different NAM concentrations were drawn. Crystal violet assay and anthrone-sulfuric acid method were used to explore the effects of NAM on *S. mutans* biofilm formation and water-insoluble EPS production, respectively. The morphology and structure of *S. mutans* planktons and biofilms after NAM treatment were observed by scanning electron microscopy. **Results** The MIC of NAM on *S. mutans* was 32 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. After 16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (1/2 MIC), 8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (1/4 MIC) and 4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (1/8 MIC) NAM treatments, *S. mutans* growth and biofilm formation were inhibited, with the 16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM group displaying the most significant inhibitory effects. The synthesis of EPS decreased significantly in the 16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ and 8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM groups in comparison with that of the negative control group ($P<0.05$). Under scanning electron microscope, the cell length of *S. mutans* was shortened, the cell width was extended, and the length/width ratio was decreased, showing significant difference when comparing the 16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ and 8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM groups with the negative control group ($P<0.05$). **Conclusion** Under the influence of NAM at certain concentrations, the growth, biofilm formation, and EPS synthesis of *S. mutans* were inhibited.

【Key words】 Nicotinamide *Streptococcus mutans* Biofilm Exopolysaccharides

龋病是一种常见的、多发的人类口腔细菌性疾病^[1]。龋病可能引起牙髓炎、根尖周炎、牙齿缺失、颌面部感染, 还可加重或诱发全身疾病^[2], 影响人类健康和生质量, 并增加经济负担^[3]。变异链球菌(*Streptococcus mutans*, *S. mutans*)被认为是主要的致龋性细菌, 其易致龋的生物学特点主要包括: 能够利用蔗糖合成大量的胞

外多糖(exopolysaccharides, EPS)^[4-5]; 运输和代谢多种碳水化合物并产生有机酸(如乳酸等); 具有较强的耐酸能力, 能够在低pH条件下生存和发挥毒力^[6]。EPS的产生, 特别是不溶于水的葡聚糖是*S. mutans*的关键致龋毒力^[6]。*S. mutans*通过葡萄糖基转移酶合成葡聚糖^[7], 能够为细菌提供黏附和结合位点, 并且参与构成生物膜基质^[8]。生物膜基质可容纳各种细菌, 为其提供营养物质, 保护其免受环境胁迫、宿主攻击和抗生素的侵害, 并限制生物膜内营

* 国家自然科学基金项目(No. 32170046)资助

[△] 通信作者, E-mail: zhouxd@scu.edu.cn

营养物质和酸性产物的损失^[9-10]。

氯己定和氟化物是目前临床上广泛应用的防龋药物,它们均可一定程度上抑制*S. mutans*的致龋毒力^[11]。然而,氟在高浓度使用时表现出毒性作用,而氯己定由于其结石形成、牙齿染色等不良影响,亦不适合日常使用^[12]。因此,寻找一种安全有效、毒副作用低的防龋药物尤为重要。

烟酰胺(nicotinamide, NAM)是维生素B3的一种衍生物,为人体必需的水溶性营养素之一,于多种食物中存在^[13]。NAM是皮肤科的常用药,在临床上广泛应用于治疗寻常性痤疮和特应性皮炎等炎症性皮肤病^[14]。此外, NAM的细胞保护作用强大,可能适用于免疫系统功能障碍和糖尿病等多种疾病^[15]。当前已有相关研究证明NAM可抑制某些微生物,且不会引起细菌耐药性和全身副作用。如NAM能够影响细胞壁的结构,抑制白色念珠菌的生长和生物膜形成^[16];在小鼠感染模型和人外周血中, NAM均能促进天然免疫系统对金黄色葡萄球菌的杀伤和清除^[17];除了具有直接的抗菌活性外, NAM还可能通过调节巨噬细胞功能来限制细胞内分枝杆菌的生长^[18]。目前NAM对*S. mutans*的作用尚不清楚。本研究提出假设: NAM对*S. mutans*的生长和生物膜形成有抑制作用,并通过实验验证该假设成立与否,探究NAM在龋病预防和治疗中的应用价值。

1 材料与方法

1.1 实验菌株与试剂

*S. mutans*实验菌株UA159由四川大学口腔疾病国家重点实验室提供。37℃、体积分数5%的CO₂的环境下培养。

烟酰胺(NAM, 索莱宝, 中国), 氟化钠(NaF, 麦克林, 中国), BHI培养基(BD公司, 英国), 蔗糖(成都金山化学试剂有限公司, 中国), 一次性无菌接种环(比克曼生物, 中国), 磷酸缓冲盐溶液(PBS, 索莱宝, 中国), 结晶紫(成都市科隆化工试剂厂, 中国), 萘酚粉末(沪试, 中国), 氢氧化钠(NaOH, 金山化学, 中国), 戊二醛(成都市科隆化学制品有限公司)。

1.2 接种及培养方法

首先于BHI的固体培养基上接种*S. mutans*的菌液,于37℃、体积分数5% CO₂培养24 h。鉴定为纯培养后,将一个*S. mutans*的单菌落挑至2 mL的BHI液体培养基, CO₂培养箱中培养^[19]。分光光度计检测上一步*S. mutans*菌液在600 nm波长处的光密度(OD₆₀₀)值,将培养至对数生长期(OD₆₀₀≈0.6)的*S. mutans*按照体积比1:100稀释

于BHI液体培养基或含1%(质量:体积)蔗糖的BHI液体培养基中继续培养。

1.3 液体二倍稀释法测定*S. mutans*的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)

取12支离心管,编号1~12。首先将NAM固体粉末溶于双蒸水中,配制成512 μg/μL的NAM母液,再用BHI液体培养基按二倍稀释法将母液梯度稀释^[20],加入含*S. mutans*菌液进行培养。NAM药液终浓度依次为256、128、64、32、16、8、4、2、1、0.5、0 μg/μL,分别置于1~11号离心管内。第12号离心管为含纯BHI液体的空白对照组。

培养*S. mutans*至对数生长期,按照体积比1:100倍稀释于1~11号离心管内,第12号离心管内不加菌液,37℃、5% CO₂培养箱孵育24 h。使用分光光度计测定培养0 h、24 h时各离心管内的OD₆₀₀值,计算24 h后的OD增长值,即ΔOD₆₀₀值^[21]。实验重复3次,取平均值。根据统计学结果,并结合以肉眼观察离心管内无沉淀或浑浊,液体清亮的最低药物质量浓度为NAM的MIC值。根据统计学结果,选择后继实验的药物质量浓度。

1.4 *S. mutans*生长曲线测定

设置NAM处理组为含NAM终浓度为16 μg/μL、8 μg/μL、4 μg/μL的BHI液体培养基,阴性对照组设置为不含NAM的BHI液体培养基。NaF是临床常用的防龋药物,已有相关研究证明NaF能有效抑制*S. mutans*的致龋毒力,故本研究设置阳性对照组为含0.1 mg/mL NaF的BHI液体培养基^[22]。按照体积比1:100的比例将培养至对数生长期的*S. mutans*菌悬液分别接种到上述各组中,于37℃、5% CO₂培养箱孵育18 h,每2 h读取一次OD₆₀₀值,实验重复3次,记录数值并绘制*S. mutans*的生长曲线^[23]。

1.5 NAM对*S. mutans*形成生物膜的影响

通过结晶紫染色法定性观察和定量测定加入NAM培养12 h后对*S. mutans*形成生物膜的影响。设置NAM处理组为含NAM终浓度为16 μg/μL、8 μg/μL、4 μg/μL的BHI蔗糖液体培养基,阴性对照组设置为不含NAM的BHI蔗糖液体培养基,设置阳性对照组为含0.1 mg/mL NaF的BHI液体培养基。按照体积比1:100的比例将培养至对数生长期的*S. mutans*菌悬液分别接种到上述各组中,在24孔板内培养生物膜,每孔1 mL,每组至少3个重复。培养12 h后取出24孔板,小心吸去各孔中的上清液, PBS缓冲液清洗孔板底部的生物膜3遍。然后向各孔内加入1 mL 0.1%的结晶紫染色液,60 r/min振荡15 min。将染色后的孔板再用PBS清洗3次,然后加入1 mL体积分数为33%的乙酸溶液,温和振荡30 min^[24]。最后从上一步的

24孔板中吸取200 μL 溶液,使用酶标仪读取 OD_{575} 的数值^[25], OD_{575} 值越大,说明生物膜量越多。

1.6 NAM对*S. mutans*产EPS的影响

采用萘酮-硫酸法对*S. mutans*生物膜中不溶于水的EPS的含量进行定量分析。设置NAM处理组为含NAM终浓度为16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的BHI蔗糖液体培养基,阴性对照组设置为不含NAM的BHI蔗糖液体培养基,设置阳性对照组为含0.1 mg/mL NaF的BHI液体培养基。按照体积比1 : 100的比例将培养至对数生长期的*S. mutans*菌悬液分别接种到上述各组中,在24孔板内培养生物膜,每组取1 mL溶液加入孔中,每组至少3个重复孔。培养12 h后取出24孔板,吸去上清液并清洗孔板底部的生物膜后,分别将各孔底部的生物膜全部刮下至1.5 mL EP管内,4 000 r/min离心10 min。离心后弃上清,沉淀用PBS溶液重悬并清洗2~3次。再次离心并弃上清。配制0.4 mol/L NaOH溶液,每管内加入1 mL,将底部沉淀彻底混匀后,于37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h。将上述溶液液于4 $^{\circ}\text{C}$ 、6 000 r/min离心10 min。将200 μL 上清液吸取至另一个干净EP管中,加入600 μL 萘酮试剂(50 mL浓硫酸溶解100 mg萘酮),混匀后于干热仪中95 $^{\circ}\text{C}$ 加热8 min。室温下冷却后取200 μL ,加入96孔板中,读取 OD_{625} 值^[9], OD_{625} 值越大说明合成的水不溶性EPS越多。

1.7 扫描电镜观察NAM对*S. mutans*浮游菌和生物膜的影响

利用扫描电镜分别对浮游状态和生物膜状态下*S. mutans*的表面形态和结构进行观察。

用扫描电镜观察*S. mutans*细菌的表面形态。将对数生长期的*S. mutans*菌悬液按照体积比1 : 100的比例分别接种至NAM质量浓度为16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 和0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (对照组)的BHI液体中,培养12 h。4 000 r/min离心10 min后收集菌沉淀,用PBS洗涤细菌2次后重悬于

2.5%的戊二醛溶液,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育12 h。将固定的细胞在乙醇中连续脱水,并用金涂层溅射,在扫描电镜下观察标本。使用ImageJ和ObjectJ插件相结合的软件包从SEM图像中测量细菌细胞的长度和宽度。每组随机挑选100个浮游菌细胞进行测量^[26]。

利用扫描电镜对*S. mutans*生物膜和EPS的结构进行定性评价。将对数生长期的*S. mutans*菌悬液按照体积比1 : 100的比例分别接种至NAM质量浓度为16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 和0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (对照组)的BHI液体中,培养12 h生物膜,于24孔板内培养,孔板底部放置玻璃片。生物膜用PBS洗涤2次后,4 $^{\circ}\text{C}$ 、2.5%戊二醛溶液,固定12 h,然后在乙醇中连续脱水,再用金涂层溅射,在扫描电镜下放大观察标本^[27]。

2 结果

2.1 NAM对*S. mutans*生长的影响

图1A显示 ΔOD_{600} 值的结果,32~256 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的NAM处理组(第1~4管) ΔOD_{600} 值与不加菌液和药物的第12管空白对照组相比差异无统计学意义;0~16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的NAM处理组(第5~11管) ΔOD_{600} 值与空白对照组相比差异有统计学意义($P < 0.0001$)。测得NAM对*S. mutans*的MIC值为32 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 。

根据NAM对*S. mutans*的MIC值,选择16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM进行后续实验研究。图1B显示*S. mutans*在不同浓度NAM作用下的生长曲线。经NAM处理后,*S. mutans*的生长速率减慢,在第18 h的 OD_{600} 值降低。16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的NAM对*S. mutans*生长的抑制效果较阳性对照组更显著。

2.2 NAM对*S. mutans*形成生物膜的影响

图2显示结晶紫法检测12 h *S. mutans*生物膜的结果。NAM对*S. mutans*生物膜的形成具有一定的抑制作

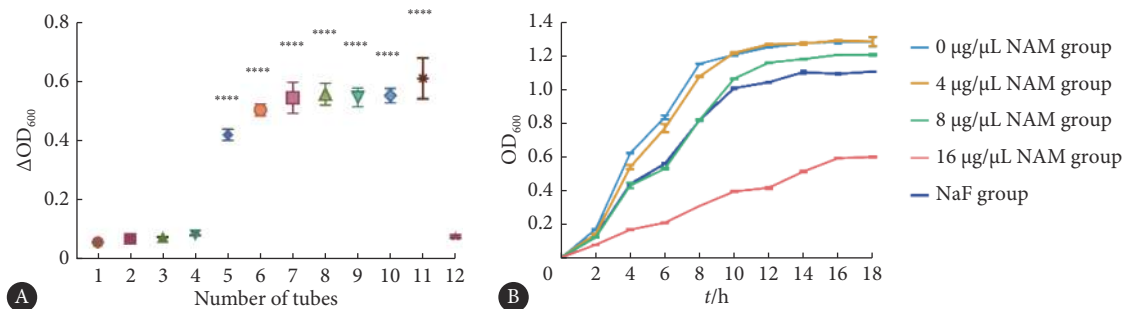


图 1 NAM对*S. mutans*生长的影响

Fig 1 Effect of NAM on the growth of *S. mutans*

A: ΔOD_{600} value of *S. mutans* at different NAM mass concentrations ($n=5$; **** $P < 0.0001$, vs. tube 12). The final mass concentration of NAM in tube 1-11 was 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, and 0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, respectively. Tube 12 is a blank control group containing pure BHI liquid. B: Growth curves of *S. mutans* at different NAM mass concentrations ($n=3$).

用。图2A中, 16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM组的生物膜结晶紫染色浅淡。16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的NAM组与阴性对照组相比, 差异有统计学意义($P<0.05$, 图2B)。

萘酮-硫酸法检测 *S. mutans* 生物膜中EPS的含量, 结果如图2C所示, 随着NAM浓度增高, *S. mutans* EPS的合成减少。16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM组、8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM组以及阳性对照组EPS的合成均显著下降, 与阴性对照组相比差异有统计

学意义($P<0.05$)。

2.3 扫描电镜观察

见图3。经过NAM处理12 h后, *S. mutans*细胞形态变圆, 而对照组细胞呈卵圆形(图3A)。通过ImageJ进一步量化分析细胞形态, 结果显示: 16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 和8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的NAM处理*S. mutans*后, 菌体长度下降、宽度增加、长度/宽度比例减小, 与对照组相比差异均有统计学意义($P<0.05$);

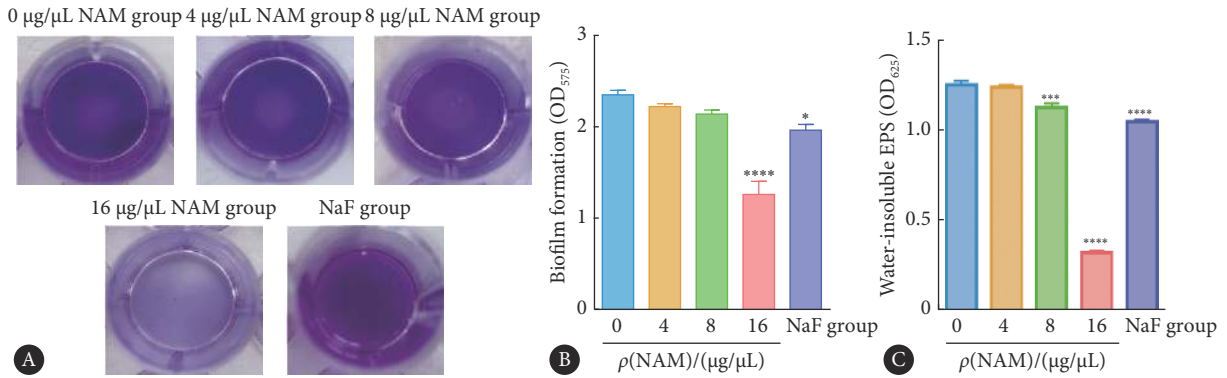


图 2 NAM对*S. mutans* 12 h生物膜的影响

Fig 2 Effect of NAM on the biofilm formation of *S. mutans* at 12 h

A: The visual images of the biofilm formation of *S. mutans* biofilm at 12 h at different NAM mass concentrations; B: The quantitative analysis of the biofilm formation of *S. mutans* at 12 h at different NAM mass concentrations ($n=3$; * $P<0.05$, **** $P<0.0001$, vs. negative control [0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM] group); C: The quantitative analysis of *S. mutans* EPS production at different NAM mass concentrations ($n=3$; *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$, vs. negative control [0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM] group).

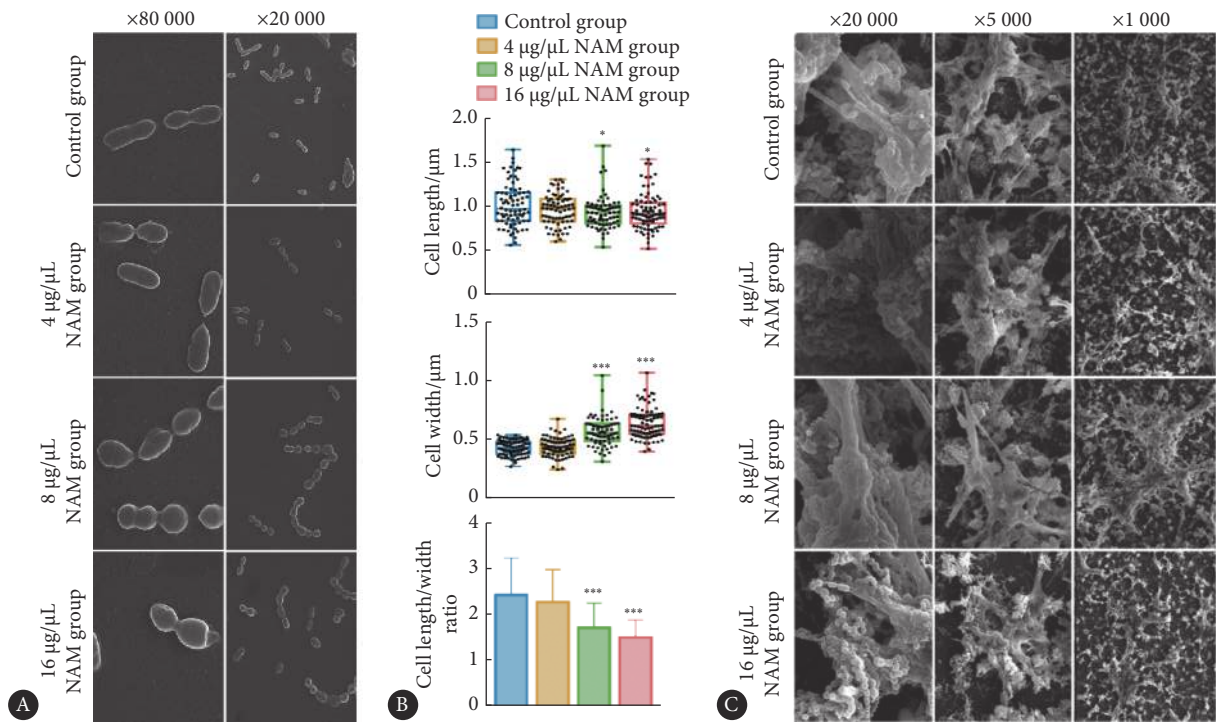


图 3 NAM对*S. mutans*细胞及生物膜形态的影响

Fig 3 The effect of NAM on *S. mutans* cells and the morphology of biofilm

A: Scanning electron microscope images of *S. mutans* cells after 12 h cultivation at different NAM mass concentrations. B: The quantitative analysis of *S. mutans* cell length and width, and the cell length/width ratio. C: The effect of NAM on the morphology and the structure of *S. mutans* biofilm. Control group: 0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM group. * $P<0.05$, *** $P<0.001$, vs. control group, $n=100$.

4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的NAM处理 *S. mutans* 后与对照组相比呈菌体长度下降、宽度增加的趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$) (图3B)。

图3C为扫描电镜下12 h *S. mutans*生物膜表面观。对照组中形成的生物膜致密,细菌被大量的胞外基质包裹。随着NAM浓度增高, *S. mutans*形成的生物膜逐渐减少。16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM对生物膜的抑制效果最为显著,在该药物浓度下,生物膜胞外基质减少,生物膜稀疏。

3 讨论

本研究结果表明NAM对*S. mutans*的生长和生物膜形成均有抑制作用,研究结果支持作者提出的假设。本文首先研究了NAM对*S. mutans*的抑菌性, MIC值为32 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$,在亚最低抑菌浓度的药物作用下, *S. mutans*的生长明显受到了抑制。本研究发现, NAM有效抑制了*S. mutans*生物膜的形成及水不溶性EPS的合成; NAM处理后的*S. mutans*的细胞形态出现异常,生物膜基质的合成明显减少。已有研究证明了NAM对结核分枝杆菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌等微生物的抑制作用,其作用机制可归纳为两种,机制一, NAM具有宿主保护效应,可通过免疫调节作用促进微生物的清除^[16, 28]; 机制二, NAM是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖的去乙酰化酶的抑制剂^[17]。有研究表明NAM能抗白色念珠菌,并能有效抑制其生物膜的形成。NAM对白色念珠菌的作用可能归因于调节组蛋白H3 Lys56的乙酰化^[29]。此外, NAM还能抑制布鲁氏锥虫的生长并改变了其形态,这种作用可能与抑制了一种组织b纤蛋白酶有关^[30]。由于NAM具有抑制去乙酰化酶活性的能力,推测NAM作用于*S. mutans*内与生长、生物膜形成有关的酶,从而对其生长、形成生物膜及产EPS等致龋毒力产生影响。

NAM是一种常见的维生素类化合物,在临床中应用广泛,其毒副作用低,可高剂量使用^[31]。NAM的推荐膳食每日摄入量为15~20 mg,在治疗皮肤疾病时的每日口服剂量可达到500 mg^[32]。本研究的体外抑菌实验中,8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、16 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NAM对变异链球菌的生长及生物膜形成有较明显的抑制作用,但该质量浓度NAM的生物安全性及龋病防治效果尚有待进一步研究。后续研究还可将NAM与现有的防龋策略相结合如与氟化物、纳米小分子等联用,期望提高NAM的抑菌效果、减小药物的使用浓度。

综上,本研究证明了NAM对*S. mutans*生长、产糖、形成生物膜等致龋相关的特性均有抑制作用,为NAM应用于临床及生活中的龋病预防提供了实验依据,同时为新

防龋药物、抑菌药物的开发提供了研究思路。然而, NAM对*S. mutans*的抑菌机制仍需要进一步研究,此外, NAM作为龋病防治药物的具体应用形式及作用效果也需要深入探究。

* * *

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] PITTS N B, ZERO D T, MARSH P D, *et al.* Dental caries. *Nat Rev Dis Primers*, 2017, 3: 17030[2021-11-03]. <https://www.nature.com/articles/nrdp201730>. doi: 10.1038/nrdp.2017.30.
- [2] 何金枝, 徐欣, 周学东. 口腔微生物与全身健康研究进展. *微生物与感染*, 2017, 12(3): 139-145.
- [3] COLLABORATORS G B D O D, BERNABE E, MARCENES W, *et al.* Global, regional, and national levels and trends in burden of oral conditions from 1990 to 2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease 2017 Study. *J Dent Res*, 2020, 99(4): 362-373.
- [4] JAKUBOVICS N S, GOODMAN S D, MASHBURN-WARREN L, *et al.* The dental plaque biofilm matrix. *Periodontol* 2000, 2021, 86(1): 32-56.
- [5] KLEIN M I, HWANG G, SANTOS P H, *et al.* *Streptococcus mutans*-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. *Front Cell Infect Microbiol*, 2015, 5: 10[2021-11-03]. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00010>.
- [6] LEMOS J A, PALMER S R, ZENG L, *et al.* The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Spectr*, 2019, 7(1): GPP3-0051-2018[2021-11-03]. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018>.
- [7] BOWEN W H, KOO H. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries Res*, 2011, 45(1): 69-86.
- [8] LIN Y, CHEN J, ZHOU X, *et al.* Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by strategies targeting the metabolism of exopolysaccharides. *Crit Rev Microbiol*, 2021, 47(5): 667-677.
- [9] CHEN J, ZHANG A, XIANG Z, *et al.* EpsR negatively regulates *Streptococcus mutans* exopolysaccharide synthesis. *J Dent Res*, 2021, 100(9): 968-976.
- [10] CUGINI C, SHANMUGAM M, LANDGE N, *et al.* The role of exopolysaccharides in oral biofilms. *J Dent Res*, 2019, 98(7): 739-745.
- [11] 李帆. 不同抑菌剂对变形链球菌毒力因素影响的研究进展. *临床口腔医学杂志*, 2019, 35(11): 701-703.
- [12] LIU Y, REN Z, HWANG G, *et al.* Therapeutic strategies targeting cariogenic biofilm microenvironment. *Adv Dent Res*, 2018, 29(1): 86-92.
- [13] ROLFE H M. A review of nicotinamide: Treatment of skin diseases and potential side effects. *J Cosmet Dermatol*, 2014, 13(4): 324-328.
- [14] 余辉, 中国庆. 烟酰胺在皮肤科的应用进展. *药学与临床研究*, 2014(3): 262-265.
- [15] MAIESE K, CHONG Z Z, HOU J, *et al.* The vitamin nicotinamide: Translating nutrition into clinical care. *Molecules*, 2009, 14(9): 3446-3485.
- [16] XING X R, LIAO Z B, TAN F, *et al.* Effect of nicotinamide against

- Candida albicans*. *Front Microbiol*, 2019, 10: 595[2021-11-03]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00595>.
- [17] KYME P, THOENNISSSEN N H, TSENG C W, *et al*. C/EBPepsilon mediates nicotinamide-enhanced clearance of *Staphylococcus aureus* in mice. *J Clin Invest*, 2012, 122(9): 3316–3329.
- [18] SIMMONS J D, PETERSON G J, CAMPO M, *et al*. Nicotinamide limits replication of *Mycobacterium tuberculosis* and Bacille Calmette-Guerin within macrophages. *J Infect Dis*, 2020, 221(6): 989–999.
- [19] GONG T, TANG B, ZHOU X, *et al*. Genome editing in *Streptococcus mutans* through self-targeting CRISPR arrays. *Mol Oral Microbiol*, 2018, 33(6): 440–449.
- [20] 吴菊, 王玲, 刘兴容. 黄芩苷对变异链球菌UA159体外的抑制作用. *口腔疾病防治*, 2021, 29(7): 462–467.
- [21] ZHANG Z, ZENG J, ZHOU X, *et al*. Activity of *Ligustrum robustum* (Roxb.) Blume extract against the biofilm formation and exopolysaccharide synthesis of *Streptococcus mutans*. *Mol Oral Microbiol*, 2021, 36(1): 67–79.
- [22] REN Z, CUI T, ZENG J, *et al*. Molecule targeting glucosyltransferase inhibits *Streptococcus mutans* biofilm formation and virulence. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(1): 126–135.
- [23] GONG T, HE X, CHEN J, *et al*. Transcriptional profiling reveals the importance of RcrR in the regulation of multiple sugar transportation and biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *mSystems*, 2021, 6(4): e0078821[2022-02-13]. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00788-21>.
- [24] 税钰森, 杨燃. 积雪草酸抑制变异链球菌生物膜形成及致龋能力的研究. *口腔医学研究*, 2021, 37(5): 401–406.
- [25] ZHANG K, WANG S, ZHOU X, *et al*. Effect of antibacterial dental adhesive on multispecies biofilms formation. *J Dent Res*, 2015, 94(4): 622–629.
- [26] XIANG Z, LI Z, REN Z, *et al*. EzrA, a cell shape regulator contributing to biofilm formation and competitiveness in *Streptococcus mutans*. *Mol Oral Microbiol*, 2019, 34(5): 194–208.
- [27] LI Z, XIANG Z, ZENG J, *et al*. A GntR family transcription factor in *Streptococcus mutans* regulates biofilm formation and expression of multiple sugar transporter genes. *Front Microbiol*, 2018, 9: 3224[2021-11-03]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03224>.
- [28] MURRAY M F. Nicotinamide: An oral antimicrobial agent with activity against both *Mycobacterium tuberculosis* and human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*, 2003, 36(4): 453–460.
- [29] WURTELE H, TSAO S, LEPINE G, *et al*. Modulation of histone H3 lysine 56 acetylation as an antifungal therapeutic strategy. *Nat Med*, 2010, 16(7): 774–780.
- [30] UNCITI-BROCETA J D, MACEIRA J, MORALES S, *et al*. Nicotinamide inhibits the lysosomal cathepsin b-like protease and kills African trypanosomes. *J Biol Chem*, 2013, 288(15): 10548–10557.
- [31] BROWNFOOT F, BINDER N, HASTIE R, *et al*. Nicotinamide and its effects on endothelial dysfunction and secretion of antiangiogenic factors by primary human placental cells and tissues. *Placenta*, 2021, 109: 28–31[2021-11-03]. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2021.04.007>.
- [32] NIREN N M, TOROK H M. The Nicomide Improvement in Clinical Outcomes Study (NICOS): Results of an 8-week trial. *Cutis*, 2006, 77 (1 Suppl): 17–28.

(2021 – 10 – 01收稿, 2022 – 02 – 17修回)

编辑 吕熙