



益生菌与口腔微生态调控的研究进展

张倩霞 王胜朝*

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: 口腔疾病的发生和发展与口腔微生物群落的失衡密切相关。益生菌是一类对人体健康有益的活的微生物,主要通过分泌抗菌物质、与致病菌竞争性定殖、调节毒力相关基因表达、调节宿主免疫反应、调节氧化应激反应、参与硝酸盐—亚硝酸盐—一氧化氮代谢循环通路、调整生物膜 pH 值等过程发挥其益生效能。研究发现,益生菌疗法能够降低龋齿的风险、改善牙周状况、提高口腔黏膜病的治疗效果,有望成为防治口腔疾病的潜在途径。本文就近年来益生菌与口腔微生态调控相关的研究情况做一综述。

关键词: 益生菌, 口腔微生态, 龋病, 牙周病, 口腔黏膜病, 口腔微生物

Probiotics and regulation of oral microecology: a review

ZHANG Qianxia WANG Shengchao*

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, Shaanxi 710032, China

Abstract: It has been unequivocally proved that the occurrence and development of oral diseases are strongly associated with the imbalance of oral microbiota. Probiotics are live microorganisms that confer health benefits on the host, which exert the probiotic efficacy by the process of secreting antibacterial substances, interfering with the colonization of pathogenic bacteria, modulating the expression of virulence-associated genes, modulating host immune responses, regulating oxidative stress response, involving nitrate-nitrite-nitric oxide pathway, and adjusting the pH value of biofilms. Studies have found that probiotic therapy could reduce the risk of dental caries, promote the periodontal status, and improve the therapeutic effect of oral mucosal diseases, which is expected to be the potential way to prevent and treat oral diseases. This article reviews the researches progress on the relationship between probiotics and oral microecological regulation in recent years.

Keywords: probiotics, oral microecology, dental caries, periodontal disease, oral mucosal diseases, oral microorganism

Foundation items: Project of State Key Laboratory of Military Stomatology of China (2017ZB02, 2020YF08)

***Corresponding author:** Tel: 86-29-84776475; E-mail: wangshengchao@fmmu.edu.cn

Received: 08-10-2020; **Accepted:** 30-11-2020; **Published online:** 11-03-2021

基金项目: 军事口腔医学国家重点实验室课题(2017ZB02, 2020YF08)

***通信作者:** Tel: 029-84776475; E-mail: wangshengchao@fmmu.edu.cn

收稿日期: 2020-10-08; **接受日期:** 2020-11-30; **网络首发日期:** 2021-03-11

口腔是消化道的起始部分,是人体微生物定殖生存的重要生态位,其微生物种类的多样性和复杂性较高。人类口腔中定殖了大约 700 种不同的微生物物种,包括细菌、病毒、真菌、支原体等,而且以细菌为主^[1]。龋病、牙周病、口腔黏膜病等是常见的口腔感染性疾病,影响着人类口腔和全身健康。有研究表明,口腔微生物区系的失衡是导致许多口腔疾病的重要原因,因此生态防治显得尤为重要^[2]。

益生菌(Probiotics)是服用一定数量后对人体健康产生有益影响的活的微生物,因其良好的益生特性已被广泛应用于多种全身系统性疾病的防治。大量的研究表明,口腔中的益生菌通过分泌抗菌物质、与致病菌竞争生物膜表面的结合位点等过程抑制口腔致病菌的生长与活性,从而对口腔疾病的防治发挥积极的作用^[3]。本文就益生菌对常见口腔疾病微生态的调控作用及机制进行回顾和展望,以期益生菌应用于口腔疾病的防治提供更多的证据支持。

1 益生菌概述

2001 年,联合国粮农组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)和世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将益生菌(Probiotics)定义为:通过食物中摄取适当的量,对宿主的健康能发挥有效作用的活的微生物(尤指细菌)^[4]。2014 年,国际益生菌与益生元科学联合会(International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics, ISAPP)发布了关于益生菌的共识,并突出强调了益生菌的 3 个核心特征,即足够数量、活菌状态、有益健康功能^[5]。益生菌存在于人体多个系统,如肠道、口腔及生殖系统等,也可通过添加到食品或药物制剂(片剂等)中服用,调节肠道、口腔等微生态平衡,从而产生有利影响^[6]。益生菌在食品领域主要应用于发酵乳制品(如酸奶、奶酪、活性乳酸菌饮料等)、膳食补充剂(如固体饮料、胶囊、片剂等)、益生菌类保健食品等。目前

有大量研究证实了益生菌对人体全身系统有益的各种功能,包括调节宿主肠道菌群微生态平衡,改善腹泻、炎症性肠病、癌症、泌尿生殖系统感染、代谢综合征等疾病病情^[7]。目前常用的益生菌菌株主要有乳杆菌、双歧杆菌、芽孢杆菌、酵母菌等。人类对益生菌种类及功效的探索和评价是一个长期、科学、严谨的过程。

益生菌的安全性已得到大量权威研究报道的支持。目前其已被欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)、美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)、中国国家卫生健康委员会(National Health Commission of China, NHC)等权威机构认可为“公认为安全”及可应用于食品的菌种。益生菌作为药物在临床上的应用日益广泛,同时尚未见文献报道益生菌有严重的毒副反应。然而,即便益生菌产品在健康人群中的使用是安全的,但并不建议在有特定风险的患者中使用,例如免疫功能低下的患者或患有心脏瓣膜疾病的患者等^[8]。在对口腔益生菌进行研究时,应充分考虑其潜在的危害,如潜在的致龋性、代谢活动的变化和对内在基因的影响等,最大限度地保证口腔益生菌在应用中的安全性^[9]。

2 益生菌在口腔微生态调控中的作用

2.1 益生菌与龋病

近年来,益生菌的防龋作用得到了大量研究的证实。特定的益生菌菌株,如鼠李糖乳杆菌、双歧杆菌、罗伊氏乳杆菌、副干酪乳杆菌等,已被证实能够减少唾液和菌斑生物膜中变异链球菌和乳酸杆菌等致龋菌的数量,从而预防龋齿^[10]。Nadelman 等^[11]通过一项针对乳制品中添加益生菌对口腔及唾液指标影响的系统评价与 META 分析,发现益生菌乳制品能够有效降低变异链球菌数量,提高唾液 pH 值。Megha 等^[12]对 30 名 8-15 岁的儿童进行安慰剂对照双盲研究,发现连续 2 周每日食用益生菌酸奶(嗜酸乳杆菌 La-1、La-2)有助于降低固定矫治儿童唾液和菌斑中变异链球菌的水平。Sidhu

等^[13]通过 1 年的随访发现,在定期摄入益生菌后,10–15 岁儿童口腔内的变异链球菌和唾液乳杆菌的浓度发生了显著变化。Lodi 等^[14]评估了益生菌发酵乳(Batavito[®])对口腔微生物和牙釉质的影响,结果表明,该发酵乳可减少口腔中的微生物数量和牛牙釉质中的矿物质流失,因此推测益生菌可能通过降低致龋菌数量、抑制釉质脱矿、减少矿物质流失而发挥防龋作用。此外,基于独立于分离培养的宏基因组学技术研究,益生菌的防龋作用也取得了更多证据支持。Hu 等^[15]收集了 10 名无龋齿年轻人持续饮用含有干酪乳杆菌的益生菌饮料 28 d 前、后及期间的牙菌斑样本,并进行了 16S rRNA 基因测序分析,结果显示,益生菌的摄入改变了一些龋病相关细菌如韦荣氏球菌、金氏菌属、纤毛菌属等的丰度。

然而一些研究却发现,上述部分益生菌菌株对相关致龋菌的丰度水平并没有明显影响。Lexner 等发现,短期内每天摄入添加鼠李糖乳杆菌 LB21 的牛奶对龋齿活跃的青少年唾液和龈上菌斑样本中的微生物谱没有显著影响^[16]。Nozari 等认为,在酸奶中加入动物双歧杆菌并不能显著降低儿童唾液中变异链球菌和乳杆菌的数目^[17]。我们推测,益生菌治疗的剂量、持续时间、随访时间和载体等不同,会在一定程度上导致各个研究结果不一致。因此,益生菌的防龋效果和安全性有待进一步研究。

2.2 益生菌与牙周疾病

越来越多的研究支持益生菌疗法来预防或治疗牙龈炎和牙周炎。罗伊氏乳杆菌、干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、唾液乳杆菌和一些芽孢杆菌等被评估为牙周疾病的益生菌,其中一些已经取得了改善牙周状况的效果,包括牙周袋深度、临床附着水平、探诊出血指数、牙龈和菌斑指数等^[10]。Tobita 等^[18]进行了一项随机对照双盲临床试验,即选取 16 名健康志愿者随机分为 2 组,连续 4 周分别每天服用卷曲乳杆菌 KT-11 食品片和安慰剂食品片,评估临床参数(唾液中主要牙周病菌数、菌斑指数、牙

龈状况等),结果表明每天摄入该益生菌可以通过改善口腔条件来预防牙周病。Becirovic 等^[19]使用棋盘法评估了益生菌乳饮料对口腔龈上和龈下生物膜中细菌种类组成的影响,发现食用益生菌饮料 3 周后,龈上菌斑及龈下菌斑中有多种细菌显著减少,提示益生菌对口腔生物膜中牙周病原菌有良好的抑制作用。Krasse 等^[20]的研究表明,对于患有中度到重度牙龈炎的患者,每日给予一定数量的罗伊氏乳杆菌,2 周后牙龈指数和菌斑指数有明显下降,因此推测罗伊氏乳杆菌对中度、重度牙龈炎具有较好的疗效。Ho 等^[21]通过一项系统综述和荟萃分析,探索益生菌作为牙周非手术治疗(Nonsurgical Periodontal Therapy, NSPT, 包括口腔卫生指导、牙周刮治及根面平整)的辅助药物与对照组(仅 NSPT)相比的长期疗效,结果显示服用益生菌 2–4 周的患者在 3 个月时临床附着水平显著增加,而且牙周探诊深度显著降低,但 2 组间牙周病原菌水平差异无统计学意义。另一项荟萃分析调查了益生菌对牙周病原体数量的影响,发现益生菌组和对照组之间并没有统计上的显著差异^[22]。

综上所述,益生菌可以改善慢性牙龈炎和牙周炎的临床和微生物学结果,但益生菌对微生物学和免疫学变量结果的长期影响值得进一步研究,以评估最佳给药的剂量、频率和过程。

2.3 益生菌与口腔黏膜疾病

益生菌在口腔黏膜疾病的防治中也起着重要的作用。Sanghvi 等^[23]评价了无牙颌患者连续 60 d 口服益生菌胶囊前后唾液量的变化,发现益生菌可增加无牙颌患者的唾液量,对口干、口臭患者有一定的治疗作用。Mousquer 等^[24]以挥发性硫化物(Volatile Sulphur Compound, VSC)水平等指标来评价使用益生菌对口臭水平的影响,结果显示益生菌可能有益于治疗口臭。Benic 等^[25]通过一项前瞻性、随机、三盲、安慰剂对照试验研究,在基线、干预(1 个月)结束和 3 个月随访时评估挥发性硫化物水平,结果显示,口腔益生菌唾液链球菌 M18

降低了正畸牙套患者的口臭水平。口腔念珠菌病是常见的口腔疾病,多发于体弱、老年患者。Kraft-Bodi 等^[26]纳入 215 名疗养院的老年患者进行了随机对照试验,发现每天服用含罗伊氏乳杆菌的益生菌含片可以降低体弱老年人群中口腔念珠菌数量。Zhao 等^[27]采用纸片扩散试验、共焦激光扫描显微镜等评价了益生菌制剂对口腔念珠菌的体外抑制作用,发现枯草芽孢杆菌 R0179 对口腔念珠菌有明显的抑制作用,提示枯草芽孢杆菌作为益生菌在预防和治疗口腔念珠菌病方面潜在的应用前景。

以上研究均能说明益生菌对口腔的有益作用,因此,我们推测某些益生菌可以调控口腔微生态,改善口腔内微环境,从而促进口腔健康。

3 益生菌对口腔微生态调控的可能机制

结合文献回顾与前期研究,我们推测益生菌在口腔疾病的防治及口腔微生态的调控中可能需要主要从几个方面发挥作用。

3.1 分泌抗菌物质

一些益生菌,如乳酸杆菌等在口腔中可以生成抗菌物质或保护性的成分,如有机酸、过氧化氢、细菌素、唾液素、短链脂肪酸、抗菌肽、抑菌素等^[3]。这些抗菌物质能够抑制口腔中致病菌的生长,并降低其对宿主的毒性。细菌素能够抑制致病细菌形成生物被膜,并导致细胞因子、胶原酶、弹性蛋白酶和前列腺素 E2 等促炎因子水平的降低,使得益生菌更牢固地附着在口腔生物膜表面,并防止新的病原体定殖,从而产生新的微生物平衡,形成健康的生物膜^[28]。短链脂肪酸能够改变跨膜 pH 梯度,抑制病原体生长;抗菌肽可插入病原体细胞膜中,导致细菌溶解^[29]。罗伊氏乳杆菌产生的抑菌素能够通过中和牙龈卟啉单胞菌中的脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)来保持口腔微生物群的平衡,从而保持间充质干细胞(Mesenchyma Stem Cells, MSCs)的迁移、自我更新能力、成骨分化和细胞增殖的潜力,抑制炎症并促进伤口愈合^[30]。

3.2 竞争性抑制致病菌的黏附定殖

生物膜中微生物之间的相互作用是动态平衡和生物失调的核心驱动力,对维持健康或疾病的发展具有重要影响。益生菌可黏附于生物膜表面,通过与致病菌竞争表面结合位点及营养物质,降低致病菌的粘附率^[31-32]。Busscher 等^[33]发现在体外环境中,嗜酸乳杆菌和干酪乳杆菌可有效粘附于牙釉质表面,从而减少致龋菌的定殖。Comelli 等^[34]发现试验益生菌中存在的乳酸乳球菌 NCC2211 能够有效地将自身整合到口腔生物膜中,并抑制远缘链球菌 OMZ176 的生长。Tahmourespour 等^[35]发现,嗜酸乳杆菌 DSM20079 作为益生菌菌株能够降低链球菌的黏附力,从而降低口腔链球菌致龋潜能。因此我们推断,某些益生菌可竞争和对抗致病菌,抑制其繁殖和致病性,减轻口腔生物膜的微生态失调,从而改善口腔微生态环境,有利于口腔疾病的防治。

3.3 调节毒力相关基因表达

益生菌能够改变口腔致病菌毒力相关因子的转录谱,抑制促炎细胞因子的下游激活作用,从而干扰其定殖于宿主并破坏免疫反应的能力。

变异链球菌具有较强的产酸和耐酸能力,以及产生细胞外多糖的能力,一直以来是公认的主要致龋菌。变异链球菌产生的细胞外多糖(Extracellular Polysaccharides, EPS)有助于形成口腔生物膜,从而加速龋齿的发生和发展。变异链球菌生物膜的致龋特性受多种必需基因的调节。Wasfi 等^[36]研究了益生菌乳酸杆菌对变异链球菌的抗菌和抗生物膜特性,以及对生物膜形成、群体感应等相关变异链球菌基因表达的抑制情况,结果发现,乳酸杆菌属可调控几种变异链球菌毒力基因的下调,包括耐酸基因(*atpD* 和 *aguD* 基因)、产生 EPS 的基因(*gtfBCD* 和 *sacB*)和群体感应基因(*vicKR* 和 *comCD*),从而干预生物膜的形成,限制变异链球菌的生长和毒力特性,进一步抑制龋齿的发生和发展。De Alvarenga 等^[37]研究了副乳杆菌(*Lactobacillus paracasei* 28.4)

在结冷剂中抑制变异链球菌的益生作用,发现该益生菌可通过下调变异链球菌 *luxS*、*brpA*、*gbpB* 和 *gtfB* 基因的转录水平,进而抑制生物膜的形成。以上提示了乳酸杆菌、副乳杆菌等益生菌在防止变异链球菌生长、生物膜形成及致龋因子的产生方面潜在的益生作用,有望将其应用于龋病的防治。

牙龈卟啉单胞菌被认为是牙周炎的关键病原体,能够诱导破坏性炎症反应和逃避宿主反应,从而导致牙周组织的破坏^[38]。牙龈卟啉单胞菌的致病潜力与荚膜、主要菌毛(FimA)、群体感应成分(LuxS)和金属肽酶(FtsH)等因素的表达有关^[39]。FimA 与病原体对上皮细胞的粘附、侵袭有关,其可通过与 TLR2 和 TLR4 受体结合而被宿主细胞识别,下游激活促炎细胞因子^[40]。有研究发现,在牙龈卟啉单胞菌 ATCC 33277 中,乳杆菌和双歧杆菌总体上下调了编码 FimA 的基因(*fimA*)的表达,导致牙龈假单胞菌 ATCC 33277 对牙龈上皮细胞的粘附性降低、侵袭力下降^[41]。Ishikawa 等提出益生菌可以改变牙龈卟啉单胞菌毒力相关因子(PgVAFs)的转录谱、下调总 PgVAFs,从而影响牙龈卟啉单胞菌生物膜的形成^[39]。

3.4 调节宿主免疫反应

越来越多的证据表明,益生菌疗法可以参与宿主口腔及全身免疫系统的调节,通过免疫调节和下调炎症级联反应,改变促炎和抗炎细胞因子包括 TNF- α 、TNF- β 、IL-1、IL-6、IL-8、IL-10 的产生,降低炎症水平,在口腔疾病的防治中发挥积极作用^[42]。有学者提出益生菌可能通过增强调节性 T 细胞(Treg)的功能,诱导 TNF- β 产生,从而导致 IgA 水平增高,通过刺激抗炎 M2 巨噬细胞上调抗炎细胞因子的分泌,发挥抗炎作用^[43]。

人类中性粒细胞多肽是阳离子抗菌肽,如 HNP1-3 由下颌下腺分泌到唾液中,也存在于龈沟液中,为宿主提供了抵御广谱微生物的第一道防线^[44]。有研究表明,无龋儿童唾液中 HNP1-3 水平明显升高,提示 HNP1-3 具有防龋作用,而且在牛奶中添加益生菌副乳杆菌 SD1 可以增加多肽

HNP1-3 的水平,可能与减少儿童龋齿有关^[44]。因此推测益生菌副乳杆菌 SD1 可能通过增加多肽 HNP1-3 等多种机制发挥调节口腔微生态的作用。

牙周病、念珠菌病等与炎症反应的增加密切相关,而益生菌介导的免疫调节很有可能介导了有利影响。有研究表明,牙龈卟啉单胞菌可通过上调牙龈上皮细胞 TLR4、下调牙龈上皮细胞 TLR2 的表达,从而激活 TLR4 诱导致炎介质(如 TNF- α 和 IL-1 β)的合成,有助于维持局部炎症反应,并诱导牙周袋下结缔组织中细胞外基质的降解和破骨的形成^[45]。然而嗜酸乳杆菌 LA-5 和鼠李糖乳杆菌 LR-32 能够导致 TLR4 表达下调,其负调控因子(A20、TOLLIP 和 IRAK-M)表达增加,调控 TLR2 和 TLR4 基因的转录,从而降低致炎介质的水平^[46]。此外,益生菌与牙龈卟啉单胞菌联合感染牙龈上皮细胞将会导致细胞培养上清液中细胞因子的释放减少^[41]。因此,嗜酸乳杆菌 LA-5、鼠李糖乳杆菌 LR-32 因其免疫调节潜力有望成为牙周病防治的重要选择。

3.5 调节氧化应激反应

人体中存在的活性氧自由基(Reactive Oxygen Species, ROS)、活性氮和抗氧化剂之间的不平衡称为氧化应激。单一病原体过度生长及口腔微生物群落的失衡将会导致口腔感染性疾病,如龋病、牙周病、口臭、灼口综合征等,与氧化应激密切相关^[47]。白细胞吞噬病原细菌及有害细菌的毒力因子将会显著增加 ROS 的产生,进而导致氧化应激,并致使口腔中各种蛋白质的理化性质发生变化,如 DNA 羟化、蛋白质变性、细胞凋亡等^[48]。然而益生菌能够通过螯合金属离子(如 Fe²⁺、Cu²⁺)、产生抗氧化代谢物(如谷胱甘肽、丁酸)、下调 ROS 产生酶的活性、减少自由基产生等过程改善抗氧化系统的能力,减少 ROS 的产生,恢复口腔正常菌群,从而减少口腔感染机会^[47]。

3.6 参与硝酸盐—亚硝酸盐—一氧化氮代谢循环通路

硝酸盐—亚硝酸盐—一氧化氮途径是体内一

氧化氮来源途径之一,能够发挥保护心血管、抗炎、调节糖脂代谢、维持菌群平衡等作用^[49]。奈瑟菌属、韦荣氏球菌属、放线菌属、葡萄球菌属等被认为是口腔中主要的硝酸盐还原菌属,与口腔健康相关,能够将唾液硝酸盐部分还原成亚硝酸盐,随后被吸收到循环中通过酶系统还原为一氧化氮^[50-51]。亚硝酸盐具有抗菌作用,抑制龋病和牙周病相关细菌的新陈代谢和生长,起到调节口腔菌群的作用^[50]。同时,全身性一氧化氮水平增加,可以改善全身血液循环,抑制心血管疾病。有研究发现,在硝酸盐还原能力极低的口腔细菌群落中,添加硝酸盐还原益生菌可能有助于硝酸盐还原功能的恢复^[52]。因此,有望将某些硝酸盐还原菌株作为益生菌以刺激硝酸盐代谢,从而预防口腔疾病。

3.7 调整生物膜 pH 值

龋病的发生发展与生物膜的酸化密切相关。Coconnier-Polter 等^[53]将乳酸杆菌与致病菌共培养后,发现具有致病性的微生物因环境 pH 值降低而被显著抑制,因此推测益生菌可以通过生成乳酸来降低环境 pH 值,进而实现抗菌作用。也有研究认为,唾液中硝酸盐的减少能够增加乳酸的消耗及氨的产生,使得 pH 值升高,防止生物膜酸化,抑制致龋菌的生长^[52]。因此,关于益生菌对生物膜 pH 值的调节作用仍需进一步研究。

4 总结与展望

益生菌疗法是指用益生菌替代病原微生物以调节微生态平衡的方法,目前多用于防治消化系统等的菌群失调^[54]。益生菌疗法以“以菌治菌”的治疗方式也逐渐应用到口腔领域,有助于研究防治口腔疾病的潜在途径。未来需要更系统的研究来确定最佳益生菌菌株、理想的浓度、摄取频率以及更有效的摄入方式,从而证实其在口腔疾病中的防治作用,揭示口腔益生菌影响口腔微生态、抑制口腔疾病发生的生物化学机制,为益生菌制剂应用于口腔疾病的防治应用提供更多的证据支持。

REFERENCES

- [1] Wade WG. The oral microbiome in health and disease[J]. Pharmacological Research, 2013, 69(1): 137-143
- [2] Mosaddad SA, Tahmasebi E, Yazdani A, Rezvani MB, Seifalian A, Yazdani M, Tebyanian H. Oral microbial biofilms: an update[J]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2019, 38(11): 2005-2019
- [3] Liu L, Zhou JY, Wu YF, Zhao L. Application of probiotic ecological regulation in prevention and treatment of periodontal diseases[J]. International Journal of Stomatology, 2020, 47(2): 131-137 (in Chinese)
刘琳, 周婕妤, 吴亚菲, 赵蕾. 益生菌生态调节在牙周病防治中的应用[J]. 国际口腔医学杂志, 2020, 47(2): 131-137
- [4] Reid G. The importance of guidelines in the development and application of probiotics[J]. Current Pharmaceutical Design, 2005, 11(1): 11-16
- [5] Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, et al. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic[J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2014, 11(8): 506-514
- [6] Jiang TA, Mustapha A, Savaiano DA. Improvement of lactose digestion in humans by ingestion of unfermented milk containing *Bifidobacterium longum*[J]. Journal of Dairy Science, 1996, 79(5): 750-757
- [7] Pujia AM, Costacurta M, Fortunato L, Merra G, Cascapera S, Calvani M, Gratteri S. The probiotics in dentistry: a narrative review[J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2017, 21(6): 1405-1412
- [8] Sotoudegan F, Daniali M, Hassani S, Nikfar S, Abdollahi M. Reappraisal of probiotics' safety in human[J]. Food and Chemical Toxicology, 2019, 129: 22-29
- [9] Ai LZ, Jia GC. Research progress on oral probiotics[J]. Journal of Food Science and Technology, 2020, 38(1): 17-25 (in Chinese)
艾连中, 贾国超. 口腔益生菌的研究现状[J]. 食品科学技术学报, 2020, 38(1): 17-25
- [10] Zhang YH, Wang X, Li HX, Ni C, Du ZB, Yan FH. Human oral microbiota and its modulation for oral health[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 99: 883-893
- [11] Nadelman P, Magno MB, Masterson D, Da Cruz AG, Maia LC. Are dairy products containing probiotics beneficial for oral health? A systematic review and meta-analysis[J]. Clinical Oral Investigations, 2018, 22(8): 2763-2785
- [12] Megha S, Shalini G, Varsha SA, Abhishek D, Neetu J. Effect of short-term placebo-controlled consumption of probiotic yoghurt and Indian curd on the *Streptococcus mutans* level in children undergoing fixed interceptive orthodontic therapy[J]. Turkish Journal of Orthodontics,

- 2019, 32(1): 16-21
- [13] Sidhu GK, Mantha S, Murthi S, Sura H, Kadaru P, Jangra JK. Evaluation of *Lactobacillus* and *Streptococcus mutans* by addition of probiotics in the form of curd in the diet[J]. Journal of International Oral Health, 2015, 7(7): 85-89
- [14] Lodi CS, Oliveira LV, Brighenti FL, Delbem ACB, Martinhon CCR. Effects of probiotic fermented milk on biofilms, oral microbiota, and enamel[J]. Brazilian Oral Research, 2015, 29(1): 1-7
- [15] Hu XL, Huang ZW, Zhang YJ, Hong YB, Zheng Y. Effects of a probiotic drink containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on dental plaque microbiota[J]. Journal of International Medical Research, 2019, 47(7): 3190-3202
- [16] Lexner MO, Blomqvist S, Dahlén G, Twetman S. Microbiological profiles in saliva and supragingival plaque from caries-active adolescents before and after a short-term daily intake of milk supplemented with probiotic bacteria: a pilot study[J]. Oral Health & Preventive Dentistry, 2010, 8(4): 383-388
- [17] Nozari A, Motamedifar M, Seifi N, Hatamizargaran Z, Ranjbar MA. The effect of Iranian customary used probiotic yogurt on the children's salivary cariogenic microflora[J]. Journal of Dentistry (Shiraz, Iran), 2015, 16(2): 81-86
- [18] Tobita K, Watanabe I, Tomokiyo M, Saito M. Effects of heat-treated *Lactobacillus crispatus* KT-11 strain consumption on improvement of oral cavity environment: a randomised double-blind clinical trial[J]. Beneficial Microbes, 2018, 9(4): 585-592
- [19] Becirovic A, Abdi-Dezfuli JF, Hansen MF, Lie SA, Vasstrand EN, Bolstad AI. The effects of a probiotic milk drink on bacterial composition in the supra- and subgingival biofilm: a pilot study[J]. Beneficial Microbes, 2018, 9(6): 865-874
- [20] Krasse P, Carlsson B, Dahl C, Paulsson A, Nilsson A, Sinkiewicz G. Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*[J]. Swedish Dental Journal, 2006, 30(2): 55-60
- [21] Ho SN, Acharya A, Sidharthan S, Li KY, Leung WK, McGrath C, Pelekos G. A systematic review and meta-analysis of clinical, immunological, and microbiological shift in periodontitis after nonsurgical periodontal therapy with adjunctive use of probiotics[J]. Journal of Evidence Based Dental Practice, 2020, 20(1): 101397
- [22] Gruner D, Paris S, Schwendicke F. Probiotics for managing caries and periodontitis: systematic review and meta-analysis[J]. Journal of Dentistry, 2016, 48: 16-25
- [23] Sanghvi U, Chhabra T, Sethuraman R. Effect of probiotics on the amount and pH of saliva in edentulous patients: a prospective study[J]. Journal of Indian Prosthodontic Society, 2018, 18(3): 277-281
- [24] Mousquer CR, Della Bona A, Milani DC, Callegari-Jacques SM, Ishikawa K, Mayer MPA, Rösing CK, Fornari F. Are *Lactobacillus salivarius* G60 and inulin more efficacious to treat patients with oral halitosis and tongue coating than the probiotic alone and placebo? A randomized clinical trial[J]. Journal of Periodontology, 2020, 91(6): 775-783
- [25] Benic GZ, Farella M, Morgan XC, Viswam J, Heng NC, Cannon RD, Mei L. Oral probiotics reduce halitosis in patients wearing orthodontic braces: a randomized, triple-blind, placebo-controlled trial[J]. Journal of Breath Research, 2019, 13(3): 036010
- [26] Kraft-Bodi E, Jørgensen MR, Keller MK, Kragelund C, Twetman S. Effect of probiotic bacteria on oral *Candida* in frail elderly[J]. Journal of Dental Research, 2015, 94(S9): 181S-186S
- [27] Zhao C, Lv X, Fu J, He C, Hua H, Yan Z. *In vitro* inhibitory activity of probiotic products against oral *Candida* species[J]. Journal of Applied Microbiology, 2016, 121(1): 254-262
- [28] Lee JK, Kim SJ, Ko SH, Ouwehand AC, Ma DS. Modulation of the host response by probiotic *Lactobacillus brevis* CD2 in experimental gingivitis[J]. Oral Diseases, 2015, 21(6): 705-712
- [29] Chen YT, Hsieh PS, Ho HH, Hsieh SH, Kuo YW, Yang SF, Lin CW. Antibacterial activity of viable and heat-killed probiotic strains against oral pathogens[J]. Letters in Applied Microbiology, 2020, 70(4): 310-317
- [30] Han NN, Jia L, Guo LJ, Su YY, Luo ZH, Du J, Mei SH, Liu Y. Balanced oral pathogenic bacteria and probiotics promoted wound healing via maintaining mesenchymal stem cell homeostasis[J]. Stem Cell Research & Therapy, 2020, 11(1): 61
- [31] Haukioja A, Yli-Knuuttila H, Loimaranta V, Kari K, Ouwehand AC, Meurman JH, Tenovou J. Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria *in vitro*[J]. Oral Microbiology and Immunology, 2006, 21(5): 326-332
- [32] Wang SC, Xu HK. Effects and application of oral probiotics on dental caries prevention[J]. Chinese Journal of Practical Stomatology, 2012, 5(10): 587-591 (in Chinese)
王胜朝, 许浩坤. 口腔益生菌防龋作用与应用[J]. 中国实用口腔科杂志, 2012, 5(10): 587-591
- [33] Busscher HJ, Mulder AFJM, Van Der Mei HC. *In vitro* adhesion to enamel and *in vivo* colonization of tooth surfaces by lactobacilli from a bio-yoghurt[J]. Caries Research, 1999, 33(5): 403-404
- [34] Comelli EM, Guggenheim B, Stingle F, Neeser JR. Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health[J]. European Journal of Oral Sciences, 2002, 110(3): 218-224
- [35] Tahmourespour A, Kermanshahi RK. The effect of a probiotic strain (*Lactobacillus acidophilus*) on the plaque formation of oral streptococci[J]. Bosnian Journal of Basic Medical Sciences, 2011, 11(1): 37-40
- [36] Wasfi R, Abd El-Rahman OA, Zafer MM, Ashour HM. Probiotic *Lactobacillus* sp. inhibit growth, biofilm

- formation and gene expression of caries-inducing *Streptococcus mutans*[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2018, 22(3): 1972-1983
- [37] De Alvarenga JA, De Barros PP, De Camargo Ribeiro F, Rossoni RD, Garcia MT, Dos Santos Velloso M, Shukla S, Fuchs BB, Shukla A, Mylonakis E, et al. Probiotic effects of *Lactobacillus paracasei* 28.4 to inhibit *Streptococcus mutans* in a gellan-based formulation[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2021, 13(2): 506-517
- [38] Ebersole JL, Dawson D, Emecen-Huja P, Nagarajan R, Howard K, Grady ME, Thompson K, Peyyala R, Al-Attar A, Lethbridge K, et al. The periodontal war: microbes and immunity[J]. Periodontology 2000, 2017, 75(1): 52-115
- [39] Ishikawa KH, Mita D, Kawamoto D, Nicoli JR, Albuquerque-Souza E, Lorenzetti Simionato MR, Mayer MPA. Probiotics alter biofilm formation and the transcription of *Porphyromonas gingivalis* virulence-associated genes[J]. Journal of Oral Microbiology, 2020, 12(1): 1805553
- [40] Davey M, Liu XY, Ukai T, Jain V, Gudino C, Gibson III FC, Golenbock D, Visintin A, Genco CA. Bacterial fimbriae stimulate proinflammatory activation in the endothelium through distinct TLRs[J]. The Journal of Immunology, 2008, 180(4): 2187-2195
- [41] Albuquerque-Souza E, Balzarini D, Ando-Suguimoto ES, Ishikawa KH, Simionato MRL, Holzhausen M, Mayer MPA. Probiotics alter the immune response of gingival epithelial cells challenged by *Porphyromonas gingivalis*[J]. Journal of Periodontal Research, 2019, 54(2): 115-127
- [42] Kazemi A, Noorbala AA, Azam K, Eskandari MH, Djafarian K. Effect of probiotic and prebiotic vs placebo on psychological outcomes in patients with major depressive disorder: a randomized clinical trial[J]. Clinical Nutrition, 2019, 38(2): 522-528
- [43] Ebrahimpour-Koujan S, Milajerdi A, Larijani B, Esmailzadeh A. Effects of probiotics on salivary cytokines and immunoglobulins: a systematic review and meta-analysis on clinical trials[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 11800
- [44] Dolińska E, Skurska A, Pietruska M, Dymicka-Piekarska V, Milewski R, Pietruski J, Sculean A. The effect of nonsurgical periodontal therapy on HNP1-3 level in gingival crevicular fluid of chronic periodontitis patients[J]. Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, 2017, 65(4): 355-361
- [45] Groeger S, Jarzina F, Domann E, Meyle J. *Porphyromonas gingivalis* activates NFκB and MAPK pathways in human oral epithelial cells[J]. BMC Immunology, 2017, 18(1): 1
- [46] Tomosada Y, Villena J, Murata K, Chiba E, Shimazu T, Aso H, Iwabuchi N, Xiao JZ, Saito T, Kitazawa H. Immunoregulatory effect of bifidobacteria strains in porcine intestinal epithelial cells through modulation of ubiquitin-editing enzyme A20 expression[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e59259
- [47] Wang Y, Wu YP, Wang YY, Xu H, Mei XQ, Yu DY, Wang YB, Li WF. Antioxidant properties of probiotic bacteria[J]. Nutrients, 2017, 9(5): 521
- [48] Mishra S, Rath S, Mohanty N. Probiotics: A complete oral healthcare package[J]. Journal of Integrative Medicine, 2020, 18(6): 462-469
- [49] Qin LZ, Jin LY, Qu XM, Wang SL. Nitrate: a pioneer from the mouth to the systemic health and diseases[J]. Chinese Journal of Stomatology, 2020, 55(7): 433-438 (in Chinese) 秦力铮, 靳路远, 曲兴民, 王松灵. 硝酸盐——从口腔走向全身的使者[J]. 中华口腔医学杂志, 2020, 55(7): 433-438
- [50] Rosier BT, Buetas E, Moya-Gonzalez EM, Artacho A, Mira A. Nitrate as a potential prebiotic for the oral microbiome[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 12895
- [51] Sato-Suzuki Y, Washio J, Wicaksono DP, Sato T, Fukumoto S, Takahashi N. Nitrite-producing oral microbiome in adults and children[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 16652
- [52] Rosier BT, Moya-Gonzalez EM, Corell-Escuin P, Mira A. Isolation and characterization of nitrate-reducing bacteria as potential probiotics for oral and systemic health[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 555465
- [53] Coconnier-Polter MH, Liévin-Le Moal V, Servin AL. A *Lactobacillus acidophilus* strain of human gastrointestinal microbiota origin elicits killing of enterovirulent *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by triggering lethal bacterial membrane damage[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(10): 6115-6120
- [54] Twetman S. Are we ready for caries prevention through bacteriotherapy?[J]. Brazilian Oral Research, 2012, 26(S1): 64-70