抗菌肽 DJK-5 对变异链球菌生物膜致龋毒力因子的影响

洪　锋[1,2],程俊翔[2],段沁颜[3],潘　乐[4],胡亚军[5]

[摘要]　**目的**　探讨抗菌肽 DJK-5 对变异链球菌生物膜的杀菌能力和致龋相关毒力因子的影响。**方法**　分别以 0、5、10、20、40 μg/mL DJK-5 作用于变异链球菌悬液,观察细菌的生长情况;分别以无菌去离子水(Con 组),2%氯己定(CHX 组),10、20、40 μg/mL DJK-5 作用于变异链球菌生物膜,激光共聚焦显微镜观察生物膜结构的变化;蒽酮法和 pH 测定法检测生物膜产水不溶性胞外多糖的量和 pH 值;RT-qPCR 检测 10 μg/mL DJK-5 对致龋相关毒力因子表达的影响。**结果**　≥10 μg/mL DJK-5 能明显抑制变异链球菌生长,DJK-5 质量浓度越高,抑制作用越明显。DJK-5 组生物膜中死菌比例明显大于对照组和氯己定组,DJK-5 质量浓度越高,空间结构破坏越严重。DJK-5 组生物膜中 pH 值高于对照组,20 和 40 μg/mL DJK-5 组生物膜中 pH 值高于 NaF 组。DJK-5 组生物膜产生水不溶性胞外多糖明显少于对照组,10 μg/mL DJK-5 组水不溶性胞外多糖明显多于 40 μg/mL DJK-5 组和 NaF 组;DJK-5 促进 *gtfC* 和 *gbpB* 基因的表达,抑制 *ldh*、*comDE* 和 *relA* 基因的表达。**结论**　DJK-5 通过靶向调控变异链球菌的致龋毒力因子,显著抑制生物膜的产酸能力和胞外多糖的生成,从而表现出高效的生物膜杀菌活性。

[关键词]　抗菌肽;变异链球菌;生物膜;胞外多糖;毒力因子
[中图分类号]　R780.2　　[文献标识码]　A　　[文章编号]　1003-9872(2026)10-0757-06
[doi]　10.13591/j.cnki.kqyx.2026.10.006

Effects of antimicrobial peptide DJK-5 on cariogenic virulence factors of *Streptococcus mutans* biofilm

HONG Feng, CHENG Junxiang, DUAN Qinyan, PAN Le, HU Yajun. (*Department of Orthodontics, The Affiliated Stomatological Hospital of Jiujiang University, Jiujiang 332000, China*)

Abstract:　**Objective**　To investigate the effect of DJK-5 on the bactericidal efficacy and cariogenic virulence factors of *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) biofilms. **Methods**　*S. mutans* suspensions were treated with DJK-5 at concentrations of 0, 5, 10, 20, and 40 μg/mL, and bacterial growth was observed. *S. mutans* biofilms were treated with sterile deionized water (Control group), 2% chlorhexidine (CHX group) and DJK-5 at concentrations of 10, 20, 40 μg/mL. The structural changes in biofilm were observed using laser confocal microscopy. The production of water-insoluble extracellular polysaccharide (IEPS) and pH values were quantified using the anthrone-sulfuric acid method and a pH meter, respectively. Additionally, the effects of 10 μg/mL DJK-5 on the expression of cariogenic virulence genes in *S. mutans* biofilms were detected by RT-qPCR. **Results**　DJK-5 at concentrations ≥10 μg/mL exhibited an inhibitory effect on the growth of planktonic *S. mutans*. The higher the concentration of DJK-5, the more pronounced the inhibitory effect. The volume ratios of dead bacteria in the DJK-5 groups were significantly higher than those in the control and chlorhexidine group. The disruption of spatial structure became more severe with increasing DJK-5 concentrations. The pH values in DJK-5-treated biofilms were significantly higher than those in the control group, and the pH levels in the 20 and 40 μg/mL DJK-5 groups were significantly higher than those in the NaF group. The production of IEPS in DJK-5-treated biofilms was significantly lower than that in the control group. The 10 μg/mL DJK-5 group produced significantly more IEPS than the 40 μg/mL DJK-5 group and the NaF group. DJK-5 promoted the expression of *gtfC* and *gbpB* genes, while suppressed the expression of *ldh*, *comDE*, and *relA* genes. **Conclusion**　DJK-5 significantly inhibits acid production and IEPS synthesis in biofilms by targeting and modulating the cariogenic virulence factors of *S. mutans*, thereby demonstrating highly efficient bactericidal activity against biofilms.

Key words:　antimicrobial peptide; *Streptococcus mutans* (*S. mutans*); biofilms; extracellular polysaccharides; virulence factors
Stomatology, 2026, 46(10): 757-762

基金项目:湖北省自然科学基金(2020CFB747);龙华区医疗卫生机构区级科研项目(2023007);龙华区妇幼保健院育苗计划(LHFY202205)

作者单位:1 九江学院附属口腔医院正畸科,江西九江(332000);2 湖北医药学院口腔医学院口腔疾病研究所,湖北十堰(442000);3 武汉市东西湖区人民医院口腔科,湖北武汉(430040);4 湖南航天医院口腔科,湖南长沙(410000);5 深圳市龙华区妇幼保健院口腔科,广东深圳(518000)
通信作者:胡亚军　E-mail:huyajun912@163.com

变异链球菌(*Streptococcus mutans*, *S. mutans*)是龋病发生发展中的主要病原微生物,致龋力主要来源于其产生的胞外多糖具备促进生物膜形成和产酸耐酸的能力[1]。*gtfs*、*gbps*、*ldh* 等多种基因均与变异链球菌致龋力密切相关[2]。近年来氟化物和氯己定(chlorhexidine,CHX)等抗菌剂的滥用导致变异链球菌耐药菌株对环境的耐受能力增强,从而增加了

龋病防治的难度[3-4]。因此,开发新型高效抑制生物膜形成的抗菌剂是龋病研究的重难点。

DJK-5 是一种人工合成的阳离子抗菌肽,不易被细菌和宿主蛋白酶降解。DJK-5 不仅能抑制口腔混合菌生物膜及牙本质小管中的特殊生物膜的形成[5],还能有效治疗口腔颌面部耐药菌生物膜的感染[6-7]。CHX 是一种广泛使用的口腔抗菌剂,以其强大的杀菌能力而闻名[8],NaF 作为预防龋齿的常用药物,能够有效抑制细菌产酸和胞外多糖的生成[9]。目前尚未见关于 DJK-5 对变异链球菌生物膜作用的研究,也未见研究将 DJK-5 与已知高效抗菌剂的杀菌效果进行比较。本研究评估了 DJK-5 对变异链球菌生物膜杀菌能力及其致龋相关毒力因子的影响并与 CHX、NaF 进行比较,探讨了 DJK-5 对变异链球菌生物膜的作用机制,为龋病的防治提供了重要的实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料和仪器

变异链球菌菌株 UA159(武汉大学口腔医学院微生物实验室惠赠);抗菌肽、*gtfC*、*gbpB*、*comDE*、*ldh*、*relA* 引物(上海生工,中国);无菌羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)圆片(拜阿蒙,中国);细菌细胞活性测定试剂盒、NanoDrop 2000 紫外分光光度计(赛默飞,中国);SYBR Premix Ex Taq(Takara,日本);蒽酮试剂(Macklin,中国);CHX、NaF(国药集团,中国);多功能酶标仪(Molecular,美国);实时荧光定量 PCR 仪(Bio-Rad,美国);倒置光学显微镜、超分辨激光共聚焦显微镜 FV3000RS(OLYMPUS,日本)。

1.2 变异链球菌生物膜的构建

灭菌后的 HA 圆片(生物膜载体)以Ⅰ型胶原液包被过夜,置于含有 1%蔗糖的新鲜脑心浸液培养基、终浓度为 7×10^6 CFU/mL 变异链球菌悬液的 24 孔板中,37 ℃厌氧孵育 24 h 备用。

1.3 DJK-5 对浮游变异链球菌的抑制作用

96 孔板中分别加入 50 μL 浓度为 5×10^6 CFU/mL的变异链球菌菌悬液和 DJK-5 溶液,使 DJK-5 质量浓度分别为 0、5、10、20、40 μg/mL,每组设 3 个复孔。37 ℃恒温厌氧条件下培养 24 h 后,使用酶标仪测量 600 nm 光密度(optical density, OD)值以反映细菌的生长情况。

1.4 生物膜结构的变化

在附有生物膜的 HA 圆片的 24 孔板中,分别加入 100 μL 无菌去离子水(Con 组),2%的氯己定(CHX 组),10、20 和 40 μg/mL DJK-5 溶液,每组设 3 个复孔,常温下处理 3 min。PBS(pH = 7.0)清洗后,荧光染液(SYTO9∶PI =1∶1)避光染色 15 min 后置于激光共聚焦显微镜下观察。每组随机选择 4 个视野,采集 40 层厚度为 2.0 μm 的切面。使用 Imaris 9.0.1 软件(Bitplane,瑞士)进行三维重建和定量分析。死菌比例=红色荧光体积÷(红色荧光体积+绿色荧光体积)×100。

1.5 pH 值检测

在附有生物膜的 HA 圆片的 24 孔板中,分别加入 100 μL 无菌去离子水(Con 组),0.1 mg/mL NaF 溶液(NaF 组),10、20 和 40 μg/mL DJK-5 溶液,每组设 3 个复孔,起始 pH 值为 6.75,37 ℃厌氧恒温孵育。每隔 2 h 检测 pH 值的变化情况,共 12 h。

1.6 水不溶性胞外多糖(water-insoluble extracellular polysaccharide,IEPS)的合成

pH 值检测后,收集生物膜,以 1 mL 0.4 mol/L NaOH 溶液将沉淀物混匀后,37 ℃孵育 2 h,离心,取 200 μL 上清液加入 600 μL 蒽酮试剂,混匀后于干热仪中 95 ℃加热 8 min。冷却后测 OD_{625} 值,OD_{625} 值越大说明变异链球菌合成的 IEPS 越多。

1.7 致龋毒力因子相关基因表达

在附有生物膜的 HA 圆片的 24 孔板中,分别加入 100 μL 无菌去离子水(Con 组)和 10 μg/mL DJK-5 溶液,每组设 3 个复孔。37 ℃ 厌氧条件下培养 24 h 后,收集生物膜菌体,提取细菌总 RNA,采用 RT-qPCR 检测 *ldh*、*relA*、*gtfC*、*gbpB*、*comDE* 基因,每个基因重复 3 次,16S rRNA 为内参,引物信息见表 1。RT-qPCR 的反应条件均严格按照试剂盒说明。

表 1 变异链球菌生物膜致龋毒力因子相关基因引物信息

Tab.1 Primers for cariogenic virulence genes of *S. mutans*

基因	引物序列(5′—3′)	
	上游	下游
16S rRNA	AGCGTTGTCCGGATTTATTG	CTACGCATTTCACCGCTACA
ldh	GGCGACGCTCTTGATCTTAG	GGTTAGCAGCAACGAGGAAG
relA	GGTTAGCAGCAACGAGGAAG	AATCACGCTTGGTATTGCTAATTG
gtfC	GGTTTAACGTCAAAATTAGCTGTATTAGC	CTCAACCAACCGCCACTGTT
gbpB	AGGGCAATGTACTTGGGGTG	TTTGGCCACCTTGAACACCT
comDE	ACAATTCCTTGAGTTCCATCCAAG	TGGTCTGCTGCCTGTTGC

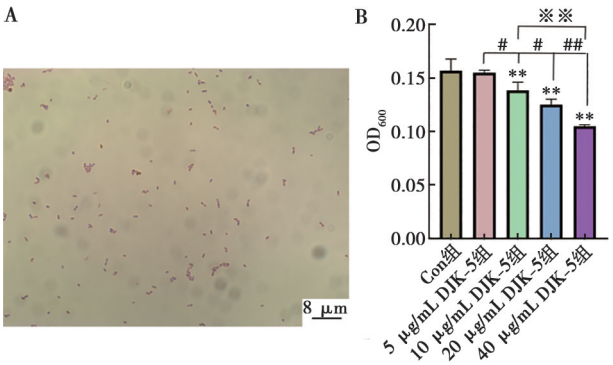
1.8　统计学分析

采用 IBM SPSS 软件(V.25.0,美国)进行数据分析,计量资料以均数±标准差的形式表示,两组间比较使用 t 检验,多组间比较使用单因素方差分析,如果发现组间存在显著差异,则进一步进行两两比较。两两比较采用 LSD 检验。检验水准为 $\alpha=0.05$。

2　结　果

2.1　DJK-5 对浮游变异链球菌的抑制作用

显微镜下可见变异链球菌较小,呈圆形或卵圆形,短链状排列(图 1A)。与对照组相比,≥ 10 μg/mL DJK-5 能明显抑制变异链球菌的生长;DJK-5 质量浓度越高,变异链球菌的活菌数越少(图 1B)。



A:变异链球菌的形态;B:DJK-5 对浮游变异链球菌的抑制作用;**:与 Con 组相比,$P<0.01$;#:与 5 μg/mL DJK-5 组相比,$P<0.05$;##:与 5 μg/mL DJK-5 组相比,$P<0.01$;※※:与 10 μg/mL DJK-5 组相比,$P<0.01$。

图 1　DJK-5 对浮游变异链球菌的抑制作用

Fig.1　Inhibitory effects of DJK-5 on planktonic *S. mutans*

2.2　DJK-5 对变异链球菌生物膜结构的作用

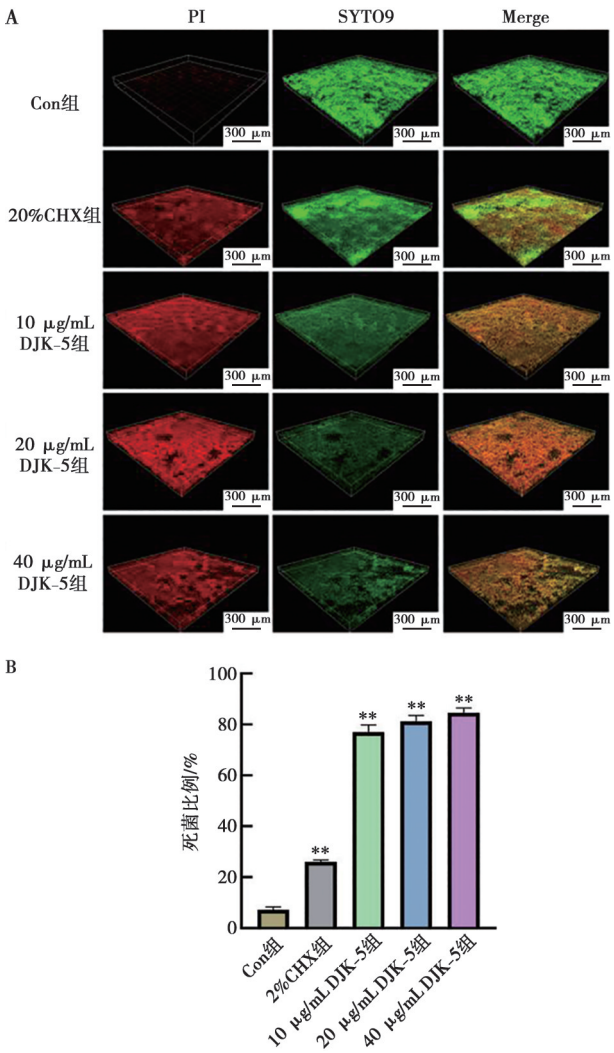
激光共聚焦显微镜下采集图像进行三维重建和死菌体积比定量分析后,结果表明 DJK-5 组死菌比例均显著高于 Con 组和 CHX 组($P<0.01$);DJK-5 质量浓度越高,生物膜中的死菌比例越大($P<0.01$);20 和 40 μg/mL DJK-5 组生物膜中出现空洞,DJK-5 质量浓度越高,空洞越多(图 2)。

2.3　DJK-5 抑制变异链球菌生物膜产酸

pH 值检测结果可见,DJK-5 组和 NaF 组 pH 值均显著高于 Con 组($P<0.01$);20 和 40 μg/mL DJK-5 组 pH 值维持在初始值 6.7 左右。6 h 后 NaF 组 pH 值明显高于 10 μg/mL DJK-5 组($P<0.05$),而低于 20 和 40 μg/mL DJK-5 组($P<0.05$)(图 3)。

2.4　DJK-5 抑制变异链球菌生物膜合成 IEPS

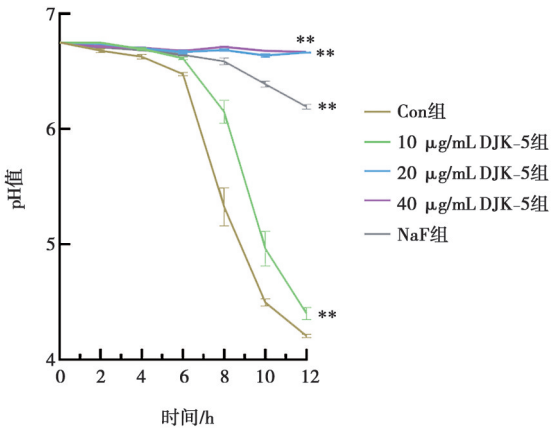
DJK-5 组与 NaF 组 OD_{625} 值均显著小于对照组($P<0.05$),说明 DJK-5 组与 NaF 组的 IEPS 合成均受到抑制;DJK-5 质量浓度越高,OD_{625} 值越低说明 IEPS 产量越少;40 μg/mL DJK-5 组 IEPS 明显低于 10 μg/mL DJK-5 组($P<0.01$),与 NaF 组抑制变异链球菌合成 IEPS 的能力水平接近(图 4)。



A:变异链球菌生物膜(红色为死菌,绿色为活菌);B:不同组生物膜中死菌体积比例;**:与 Con 组比较,$P<0.01$。

图 2　DJK-5 对变异链球菌生物膜的影响

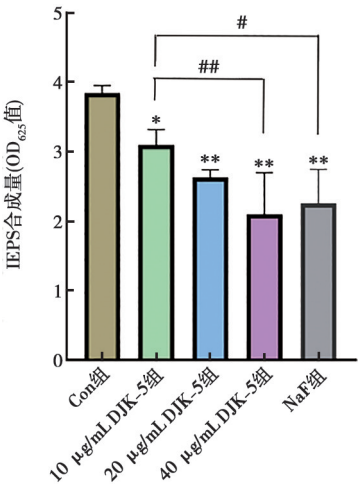
Fig.2　Effects of DJK-5 on *S. mutans* biofilm



**:与 Con 组比较,$P<0.01$。

图 3　DJK-5 对变异链球菌生物膜 pH 值的影响

Fig.3　Effects of DJK-5 on pH value of *S. mutans* biofilm



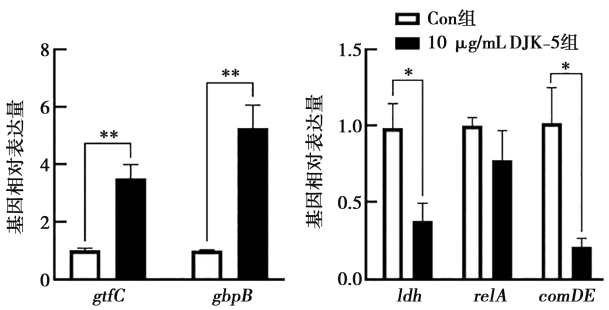
*:与 Con 组相比,$P<0.05$,**:与 Con 组相比,$P<0.01$;#:与 10 μg/mL DJK-5 组相比,$P<0.05$;##:与 10 μg/mL DJK-5 组相比,$P<0.01$。

图 4　DJK-5 对变异链球菌生物膜产 IEPS 影响

Fig.4　The effects of DJK-5 on IEPS of *S. mutans* biofilm

2.5　DJK-5 对变异链球菌生物膜致龋毒力因子相关基因表达的影响

RT-qPCR 结果显示,10 μg/mL DJK-5 组生物膜中 *gtfC* 和 *gbpB* 的表达水平显著高于 Con 组($P<0.01$),*ldh* 和 *comDE* 基因表达水平明显低于 Con 组($P<0.05$);*relA* 基因表达水平也下降,但与 Con 组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)(图 5)。



*:$P<0.05$,**:$P<0.01$。

图 5　DJK-5 对变异链球菌生物膜致龋相关基因表达的影响

Fig.5　Effects of DJK-5 on the expression of cariogenic-related genes of *S. mutans* biofilm

3　讨　论

抗菌肽 DJK-5 基于合成肽 1018 的序列设计,展现出比合成肽 1018 和 CHX 更强的杀菌及持续抗菌能力[5,7]。有研究显示,合成肽 1018 和 DJK-5 对口腔混合菌生物膜的最佳抑制质量浓度均为 10 μg/mL[10-11]。在本研究中,我们发现质量浓度≥10 μg/mL 的 DJK-5 能够有效抑制变异链球菌浮游菌的生长,并且随着 DJK-5 质量浓度的增加,其抑制效果进一步增强。Huang 等[5]的研究显示,DJK-5 对感染根管中的单菌或混合菌生物膜具有快速杀菌作用,仅需 3 min 即可杀死76%~82%的生物膜细菌,这一杀菌效率与长时间(24 h)处理的效果相当。在我们的实验中,不同质量浓度的 DJK-5 作用于变异链球菌生物膜 3 min 后,10 μg/mL DJK-5 处理组的死菌比例达到 77.06%,高于 2% CHX 处理组。此外,中、高质量浓度的 DJK-5 能够破坏生物膜的内部结构,使其变得更加松散,这一发现与先前的研究结果一致[5,7],进一步证实了 DJK-5 对变异链球菌生物膜的高效杀菌作用。

在本研究中,我们分别使用了 CHX 和 NaF 作为阳性对照。在观察抗菌肽对变形链球菌生物膜结构破坏的实验中,我们选择 CHX 作为阳性对照,以评估 DJK-5 与已知高效抗菌剂的杀菌效果差异。在观察抗菌肽对变形链球菌生物膜 pH 值和 IEPS 合成量影响的实验中,我们选择 NaF 作为阳性对照,以评估 DJK-5 在抑制龋齿相关因素方面的效果。通过使用这两种不同的阳性对照,我们能够更全面地评估 DJK-5 在不同方面的抗菌性能。

细菌的产酸能力和胞外多糖(extracellular polysacharide,EPS)的生成是变异链球菌致龋的关键因素。当口腔环境的 pH 值降至 5.0 以下时,牙釉质的脱矿过程会显著加速,从而增加龋齿的风险[12]。此外,胞外多糖中的 IEPS 与生物膜的成熟和耐药性密切相关,它们为细菌提供了保护,使其能够更好地在宿主表面附着和生存[13]。我们的实验结果显示 DJK-5 在短期内(6~12 h)能够显著抑制变异链球菌生物膜的产酸和 IEPS 的生成;中、高质量浓度的 DJK-5 在抑制生物膜产酸方面表现出比 NaF 更强的效果,而在抑制 IEPS 生成方面与 NaF 相当。这表明 DJK-5 不仅能够有效改善生物膜的酸性环境,减少牙釉质脱矿的风险,还能够通过抑制 IEPS 的生成,削弱生物膜的结构和耐药性,从而降低其致龋潜力。尽管 DJK-5 在短期内展现出显著的抑制效果,但其对变异链球菌生物膜产酸和 IEPS 生成的长期影响仍有待进一步研究。

DJK-5 的抗菌机制不仅通过降解(p)ppGpp 抑制细菌的严紧反应[6,14],还涉及其他多个靶点[8,15]。其中,*gtfC* 和 *gbpB* 基因对变异链球菌的聚集、生物膜形成和成熟至关重要。*gtfC* 基因编码的 GtfC 酶能够合成不溶性葡聚糖,为生物膜提供结构支持;敲除 *gtfC* 会导致生物膜的黏附性能下降,生物膜结构发生改变,从而降低其致龋力[16]。*gbpB* 基因编码的 GbpB 蛋白则参与生物膜的成熟过程;当 *gbpB* 基因缺失时,变形链球菌的生长速度减缓,蔗糖依赖性

生物膜的形成也会受到损害[17]。comDE 系统是变形链球菌中最常见的细胞间通信的群体感应系统，对生物膜的形成和成熟起着关键调控作用。*comD* 基因编码的组氨酸激酶受体能够响应感受态刺激肽，而 *comE* 基因编码的细胞内反应调节因子则负责介导下游基因的表达。激活的 comE 不仅能够促进细菌素Ⅳ和Ⅴ的产生，增强细菌的抗菌能力，还能调控遗传感受态，促进细菌的基因交换和适应性进化[18]。comDE 途径的失活会抑制 *gtfC*、*gbpB* 等关键基因的表达，导致生物膜系统出现缺陷，生物膜的结构和功能受到严重影响[18-19]。

本研究发现，10 μg/mL 的 DJK-5 能够显著降低 comDE 的表达，说明 DJK-5 通过抑制 comDE 的表达，限制了变形链球菌生物膜内的遗传感受态和细胞间通信，进而削弱了细菌对环境的适应能力，导致生物膜的形成和完整性受到破坏[20]。已有研究表明，某些抗菌肽可以通过与特定的信号分子或受体结合，直接干预细菌的信号转导过程[21]。尽管目前尚无研究直接证实 DJK-5 是否能够作用于 comDE 系统中的关键分子，但基于其对 comDE 表达的抑制作用，我们推测 DJK-5 可能通过与 comDE 系统中的关键信号分子相互作用，从而抑制 comDE 的活性，当然这需要进一步的实验验证 DJK-5 与 comDE 系统中关键分子的相互作用，以明确其分子靶点。

此外，我们观察到在 DJK-5 作用后，*gtfC* 和 *gbpB* 的表达水平升高，这似乎与生物膜产生 IEPS 明显减少、死菌数增多的结果不一致。这一看似矛盾的现象可能与生物膜内部的应激反应有关[22]。当生物膜受到外界刺激时，其内部的通信机制被扰乱，导致 Gtf 酶活性降低。为了补偿这种活性的降低，细菌可能会通过上调 *gtfC* 和 *gbpB* 的表达来增强其合成 IEPS 的能力，从而产生一种拮抗作用[23-24]。然而，这种上调的表达可能并不足以恢复 IEPS 的正常合成，因此我们观察到了 IEPS 的减少。我们未来将通过检测相关蛋白的表达水平，来确定基因表达与蛋白功能之间的关联性。

乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase，LDH）是变形链球菌糖酵解途径中的关键酶，直接影响细菌的产酸能力和致龋潜力。感染 LDH 缺失的变形链球菌，龋齿发生率会降低；*ldh* 基因调控 LDH，影响细菌产酸的过程[25]。*relA* 基因不仅编码细菌的耐酸因子 RelA 蛋白，还参与氧化应激耐受机制以及生物膜的形成。RelA 蛋白是细菌适应酸性环境的重要因子，通过调节细胞内的酸碱平衡，提高细菌在酸性条件下的生存能力。此外，*relA* 还促进生物膜的形成，增强细菌在宿主表面的附着和定植能力[26]。10 μg/mL DJK-5 能够降低变形链球菌生物膜中 *ldh* 和 *relA* 的表达水平，说明 DJK-5 一方面通过下调 *ldh* 基因的表达来降低 LDH 的活性，从而抑制丙酮酸向乳酸的转化，降低生物膜的产酸能力，削弱了变形链球菌在牙釉质表面形成酸性环境的能力；另一方面通过下调 relA 基因的表达，降低变形链球菌的耐酸能力，从而减少生物膜的稳定性，降低了其对宿主免疫系统的抵抗力，进一步削弱了细菌的致龋潜力。

综上所述，DJK-5 通过靶向调控变异链球菌的关键致龋毒力因子，显著抑制生物膜的产酸能力和胞外多糖的生成，同时降低其耐酸性，从而表现出高效的抗菌作用。尽管本研究通过基因表达分析揭示了 DJK-5 的部分作用机制，但其具体的分子靶点和蛋白水平的验证仍需进一步探索。此外，DJK-5 作为潜在的临床应用药物，其安全性评估也是未来研究的关键环节。未来的研究应重点关注 DJK-5 的分子靶点鉴定、蛋白功能验证、分子结构的优化、递送方式的改进和长期使用的潜在风险评估，以便能更全面地理解其抗菌机制，并为其作为新型抗龋药物的临床应用奠定坚实的基础。

[参　考　文　献]

[1] Mazurel D, Brandt BW, Boomsma M, *et al*. *Streptococcus mutans* and caries: A systematic review and meta-analysis[J]. J Dent Res, 2025, 104(6): 594-603.

[2] Zheng T, Jing ML, Gong T, *et al*. Regulatory mechanisms of exopolysaccharide synthesis and biofilm formation in *Streptococcus mutans*[J]. J Oral Microbiol, 2023, 15(1): 2225257.

[3] Zhu LK, Li JH, Pan YP, *et al*. Metabolomics reveals high fructose-1, 6-bisphosphate from fluoride-resistant *Streptococcus mutans*[J]. BMC Microbiol, 2024, 24(1): 151.

[4] Brookes ZLS, Bescos R, Belfield LA, *et al*. Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: A narrative review[J]. J Dent, 2020, 103: 103497.

[5] Huang XY, Haapasalo M, Wang ZJ, *et al*. Effect of long-term exposure to peptides on mono- and multispecies biofilms in dentinal tubules[J]. J Endod, 2019, 45(12): 1522-1528.

[6] Wardell SJT, Yung DBY, Gupta A, *et al*. DJK-5, an anti-biofilm peptide, increases *Staphylococcus aureus* sensitivity to colistin killing in co-biofilms with *Pseudomonas aeruginosa*[J]. NPJ Biofilms Microbiomes, 2025, 11(1): 8.

[7] Wu BC, Blimkie TM, Haney EF, *et al*. Host response of human epidermis to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm infection and synthetic antibiofilm peptide treatment[J]. Cells, 2022, 11(21): 3459.

[8] Kapralos V, Sunde PT, Camilleri J, *et al*. Effect of chlorhexidine digluconate on antimicrobial activity, cell viability and physicochemical properties of three endodontic sealers[J]. Dent Mater,

2022, 38(6): 1044-1059.

[9] Magalhães TC, Lopes AG, Ferreira GF, *et al*. *In vitro* assessment of NaF/Chit supramolecular complex: Colloidal stability, antibacterial activity and enamel protection against *S. mutans* biofilm[J]. J Dent, 2024, 149: 105316.

[10] Zhang T, Wang ZJ, Hancock REW, *et al*. Treatment of oral biofilms by a D-enantiomeric peptide[J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0166997.

[11] Wang D, Shen Y, Hancock REW, *et al*. Antimicrobial effect of peptide DJK-5 used alone or mixed with EDTA on mono- and multispecies biofilms in dentin canals[J]. J Endod, 2018, 44(11): 1709-1713.

[12] Suresh C, Veeraraghavan V, Jayaraman S, *et al*. Awareness about the significance of acid-base balance of saliva in maintaining oral health[J]. J Adv Pharm Technol Res, 2022, 13(Suppl 1): S325-S329.

[13] Pezzotti G, Ofuji S, Imamura H, *et al*. Raman analysis of biofilm exopolysaccharides formed in *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* commensal cultures[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(7): 6694.

[14] Salzer A, Keinhörster D, Kästle C, *et al*. Small alarmone synthetases RelP and RelQ of *Staphylococcus aureus* are involved in biofilm formation and maintenance under cell wall stress conditions[J]. Front Microbiol, 2020, 11: 575882.

[15] Zhang T, Xia LY, Wang ZJ, *et al*. Recovery of oral biofilms after exposure to peptides and chlorhexidine[J]. J Endod, 2021, 47(3): 466-471.

[16] Rainey K, Michalek SM, Wen ZT, *et al*. Glycosyltransferase-mediated biofilm matrix dynamics and virulence of *Streptococcus mutans*[J]. Appl Environ Microbiol, 2019, 85(5): e02247-18.

[17] Guan CR, Che FA, Zhou HX, *et al*. Effect of rubusoside, a natural sucrose substitute, on *Streptococcus mutans* biofilm cariogenic potential and virulence gene expression *in vitro*[J]. Appl Environ Microbiol, 2020, 86(16): e01012-20.

[18] Dhaked HPS, Biswas I. Distribution of two-component signal transduction systems BlpRH and ComDE across streptococcal species[J]. Front Microbiol, 2022, 13: 960994.

[19] Zu Y, Li W, Wang Q, *et al*. ComDE two-component signal transduction systems in oral streptococci: Structure and function[J]. Curr Issues Mol Biol, 2019, 32: 201-258.

[20] Wang YF, Wang XQ, Jiang WT, *et al*. Antimicrobial peptide GH12 suppresses cariogenic virulence factors of *Streptococcus mutans*[J]. J Oral Microbiol, 2018, 10(1): 1442089.

[21] Luo Y, Song YZ. Mechanism of antimicrobial peptides: Antimicrobial, anti-inflammatory and antibiofilm activities[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(21): 11401.

[22] Sharma A, Tayal S, Bhatnagar S. Analysis of stress response in multiple bacterial pathogens using a network biology approach[J]. Sci Rep, 2025, 15: 15342.

[23] Loimaranta V, Mazurel D, Deng DM, *et al*. Xylitol and erythritol inhibit real-time biofilm formation of *Streptococcus mutans*[J]. BMC Microbiol, 2020, 20(1): 184.

[24] Gabe V, Kacergius T, Abu-Lafi S, *et al*. Inhibitory effects of ethyl gallate on *Streptococcus mutans* biofilm formation by optical profilometry and gene expression analysis[J]. Molecules, 2019, 24(3): 529.

[25] Ma QZ, Pan YY, Chen Y, *et al*. Acetylation of lactate dehydrogenase negatively regulates the acidogenicity of *Streptococcus mutans*[J]. mBio, 2022, 13(5): e0201322.

[26] Kim ES, Jeong JE, Kim YH, *et al*. Effect of *Cudrania tricuspidata* on cariogenic properties and caries-related gene expression in *Streptococcus mutans*[J]. Molecules, 2025, 30(8): 1755.

(收稿日期:2025-04-21)

(本文编辑:田 慧,孙 鑫)