

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20250624.003

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20250624.1507.006>

姜黄素、槲皮素、百里香醌对种植体周围炎中主要致病菌的抗菌效果评价及其作用机制的初步探究

钱 艺^{1,2}, 唐 牧³, 陈 铎^{1,2}, 王 鼎³, 周 娜³, 刘钰昕^{1,2}, 侯小蕊¹✉, 周 政¹✉

(1. 石河子大学第一附属医院口腔科, 新疆 石河子 832000; 2. 石河子大学医学院, 新疆 石河子 832000; 3. 新疆生产建设兵团第八师石河子市疾病预防控制中心, 新疆 石河子 832000)

[摘要] **目的:** 评估姜黄素(curcumin, CU)、槲皮素(quercetin, QU)及百里香醌(thymoquinone, TQ)单独和联合使用对种植体周围炎主要致病菌[牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, *P. gingivalis*)和伴放线菌团聚杆菌(*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *A. actinomycetemcomitans*)]生物表型的抑制效果及相关抑制机制。**方法:** 通过微量稀释法测定CU、QU、TQ单独和联合使用时的最低抑菌浓度和最低杀菌浓度, 联合药敏实验测定部分抑菌浓度指数并绘制两种细菌生长曲线; 使用酸碱度测定、玻壁法验证药物对细菌的抑制产酸水平、抗黏附能力; 以微量稀释法测定药物对细菌的最低生物膜形成抑制浓度、最低清除已形成生物膜浓度; 结合扫描电子显微镜观察以上最佳药物对细菌的破坏作用, 通过液相色谱-质谱联用测定最佳药物对细菌的代谢物差异, 初步探索其对细菌的作用机制。**结果:** CU、QU、TQ单独和联合使用均对*P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans*表现出明显的抑制作用, 其中仅CU+TQ对*P. gingivalis*的抑制呈协同作用, 其余对两种菌的抑制呈相加作用; 联合用药缩短了*P. gingivalis*和*A. actinomycetemcomitans*进入平台期时间, 抑制效果存在浓度依赖性; 联合用药抑制*P. gingivalis*和*A. actinomycetemcomitans*产酸作用($P < 0.05$), 降低了其黏附率($P < 0.05$); 与单独用药相比, CU、QU、TQ联合用药对抑制*P. gingivalis*和*A. actinomycetemcomitans*的单菌种生物膜的形成及生物膜清除的浓度低; 联合药物中CU+TQ对致病菌抑制作用最佳, 且CU+TQ破坏了细菌细胞膜完整性; CU+TQ对*P. gingivalis*处理后的差异代谢物有184个($P < 0.05$), CU+TQ对*A. actinomycetemcomitans*处理后的代谢物有150个($P < 0.05$), 主要为脂质及类脂分子、有机酸及其衍生物等, 代谢通路主要为次生代谢物的生物合成、氨基酸代谢及脂质代谢等。**结论:** CU、QU、TQ对种植体周围炎主要致病菌*P. gingivalis*和*A. actinomycetemcomitans*的生长活性、产酸能力、黏附能力、生物膜形成等生物表型有明显的抑制作用, 且CU+TQ作用最强, 并且通过破坏*P. gingivalis*和*A. actinomycetemcomitans*的细胞膜、代谢过程及能量的改变对其起到抑制作用。

[关键词] 姜黄素; 槲皮素; 百里香醌; 种植体周围炎; 生物表型; 代谢

[中图分类号] R285 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2026)17-1315-12

Evaluation of the antibacterial effects of curcumin, quercetin, and thymoquinone against major pathogens in peri-implantitis and preliminary investigation of their mechanisms of action

QIAN Yi^{1,2}, TANG Mu³, CHEN Duo^{1,2}, WANG Ding³, ZHOU Na³, LIU Yuxin^{1,2}, GOU Xiaorui¹✉, ZHOU Zheng¹✉

(1. Department of Stomatology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832000, China; 2. Medical College of Shihezi University, Shihezi 832000, China; 3. Shihezi Municipal Center for Disease Control and Prevention, the 8th Division, Xinjiang Production and Construction Corps, Shihezi 832000, China)

[基金项目] 石河子大学第一附属医院青年基金项目(QN202213); 兵团指导性科技计划项目(2023ZD062); “天山英才”医药卫生高层次人才培养计划资助项目(CZ001224)

[作者简介] 钱艺, E-mail: mrelena1988@163.com。

[通讯作者] 周政, 教授, 硕士生导师, E-mail: 15909935188@163.com; 侯小蕊, E-mail: dentist_gou@163.com。

[收稿日期] 2025-02-19 **[修回日期]** 2025-05-23 **网络出版时间:** 2025-06-24 16:56:28

[Foundation Project]: This study was supported by the Foundation for Young Scientists of the First Affiliated Hospital of Shihezi University (QN202213); Bingtuan Guiding Science and Technology Program (2023ZD062); "The Tianshan Talent" High-level Talent Training Program for Medical and Health Sciences Funding Project (CZ001224)

[Author] QIAN Yi, E-mail: mrelena1988@163.com.

[Correspondence to]: ZHOU Zheng, Professor, Master's Supervisor, E-mail: 15909935188@163.com; GOU Xiaorui, E-mail: dentist_gou@163.com.

Received: 2025-02-19 Revised: 2025-05-23

JHMu, 2026;32(17):1315-1326

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective:** To evaluate the inhibitory effects and related inhibitory mechanisms of curcumin (CU), quercetin (QU), and thymoquinone (TQ) used alone and in combination on the biological phenotypes of the main pathogens, *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), of peri-implantitis. **Methods:** The minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of CU, QU, and TQ used alone and in combination were determined by the micro-dilution method. The fractional inhibitory concentration index was determined by the combined drug susceptibility test, and the growth curves of the two bacteria were plotted. The inhibitory effect of the drugs on the acid production level and anti-adhesion ability of the bacteria were verified by pH measurement and the glass wall method. The minimum biofilm formation inhibitory concentration and the minimum concentration for eradicating the formed biofilm of the drugs on the bacteria were determined by the micro-dilution method. The damage of the above optimal drugs to the bacteria was observed by scanning electron microscopy. The differences in metabolites of the bacteria treated with the optimal drugs were determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry to preliminarily explore their mechanisms of action on the bacteria. **Results:** CU, QU, and TQ used alone and in combination all showed significant inhibitory effects on *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans*. Among them, only CU+TQ showed a synergistic inhibitory effect on *P. gingivalis*, and the inhibitory effects of the others on the two bacteria were additive. The combined use of drugs shortened the time for *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* to enter the stationary phase, and the inhibitory effect was concentration-dependent. The combined use of drugs inhibited the acid production of *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* ($P<0.05$) and reduced their adhesion rates ($P<0.05$). Compared to using the drugs alone, the combined use of CU, QU, and TQ had a lower concentration for inhibiting the formation and eradication of the single-species biofilms of *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans*. Among the combined drugs, CU+TQ had the best inhibitory effect on the pathogenic bacteria, and CU+TQ damaged the integrity of the bacterial cell membrane. There were 184 differential metabolites ($P<0.05$) in *P. gingivalis* after treatment with CU+TQ, and 150 metabolites ($P<0.05$) in *A. actinomycetemcomitans* after treatment with CU+TQ, which were mainly lipids and lipid-like molecules, organic acids, and their derivatives. The metabolic pathways were mainly the biosynthesis of secondary metabolites, amino acid metabolism, and lipid metabolism. **Conclusion:** CU, QU, and TQ all have significant inhibitory effects on the biological phenotypes such as the growth activity, acid production ability, adhesion ability, and biofilm formation of the main pathogens *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* of peri-implantitis, and CU+TQ has the strongest effect. Moreover, the inhibitory effect is achieved by damaging *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* cell membranes, and altering their metabolic processes and energy.

[Key words] Curcumin; Quercetin; Thymoquinone; Peri-implantitis; Biophenotype; Metabolism

种植体周围炎是种植失败的常见原因之一,患病率高达19.53%^[1]。在种植体植入入口内后,致病菌易黏附于其表面并形成生物膜,这是导致种植体植入术后感染的主要原因^[2],其中牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, *P. gingivalis*)在种植体周围炎患者中的检出率较高^[3],伴放线菌团聚杆菌(*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *A. actinomycetemcomitans*)在种植体周围炎中发挥重要作用^[4]。因种植体表面结构粗糙,使得种植体周围袋深处的细菌生物膜难以清除,常需联合抗生素进行治疗。有报告指出种植体周围炎受试者中有71.7%在体外表现出细菌病原体对一种或多种抗生素耐药^[5]。常用于辅助治疗的抗生素多有不良的副作用

和局限性^[6],如耐药性、肝肾毒性、前庭毒性、胃肠道反应等^[7],因此新药的发现或配伍是药物治疗种植体周围炎的新型及迫切选择,相对安全的天然产物或传统中草药植物是常用抗菌剂有力的替代品。

姜黄素(curcumin, CU)、槲皮素(quercetin, QU)、百里香酚(thymoquinone, TQ)被报道具有抗口腔生物膜及抗菌活性。CU是一种源自咖喱香料的亲脂性多酚^[8],具有抗炎、抗菌、抗氧化等性能,用于牙龈下冲洗时可改善牙龈健康^[9],对*P. gingivalis*表现出抗生物膜和抗菌活性^[10],联合蓝光利用光动力灭活*A. actinomycetemcomitans*^[9]。QU是一种膳食类黄酮,具有抗氧化、抗炎、抗菌、抗过敏等活性。QU可引起细菌膜的破坏,导致细菌表面和内部结

构的破坏从而发挥抗菌活性^[11]。TQ是从黑种草种子分离的挥发性油中的主要生物活性成分^[12],具有抗氧化、抗炎、抗癌以及抗菌特性^[13],其中对 *P. gingivalis*^[14]及 *A. actinomycetemcomitans*^[15]具有强效的抗菌特性。在药物联用方面,TQ和四环素联用可以降低抗生素耐药现象^[16],QU和CU在体外联合使用对耐甲西林金黄色葡萄球菌表现出协同抗菌作用^[17],但是此三种药物的联合使用在种植体周围炎的主要致病菌的抗菌作用有待进一步研究。因此,本研究拟从体外抗菌实验对CU、QU及TQ三种药物单独或联合使用时对种植体周围炎优势菌的表型作用进行评价,比较出疗效最优的药物或药物组合,并研究其对种植体周围炎主要致病菌的抗菌机制,以期治疗种植体周围炎的抗菌药物提供新的选择,并为进一步开发治疗种植体周围炎的复合药物提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料和试剂

QU、CU、TQ购于西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;盐酸米诺环素购于瀚晖制药有限公司;厌氧产气袋购于日本三菱瓦斯化学株式会社;革兰氏染色液试剂盒、结晶紫等试剂购于北京索莱宝科技有限公司;*P. gingivalis*(bio-53046,引种于ATC-CBAA-308)购于智立中特(武汉)生物科技有限公司;*A. actinomycetemcomitans*(BNCC337071,引种于ATCC700685)购于商城北纳创联生物科技有限公司;脑心浸出液液体培养基(brain heart infusion broth, BHI)、氯化血红素、维生素K₁、琼脂粉、脱纤维羊血、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购于青岛海博生物技术有限公司;乙腈、甲醇等试剂购于赛默飞世尔科技公司。

1.2 培养基配制

称量3.85 g BHI,加入100 mL纯水,加热溶解后121 °C高压灭菌20 min。液体培养基:冷却至55 °C,加入0.1 mL氯化血红素、0.1 mL维生素K₁及2% FBS(体积分数);固体培养基:另加0.9 g琼脂,灭菌后冷却至55 °C,加入0.1 mL氯化血红素、0.1 mL维生素K₁及5 mL无菌羊血,混匀后倾注平板备用。

1.3 CU、QU、TQ药液、菌液的制备

CU、QU、TQ溶于含1% DMSO的BHI液体培养基,经0.22 μm过滤,4 °C保存;20 mg盐酸米诺环素溶于10 mL BHI培养基,制成2%溶液避光冷藏。挑取单菌落于BHI液体培养基,37 °C厌氧培养48 h,酶标仪调菌浓度至10⁷ CFU/mL备用。

1.4 最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)、最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)的测定

采用二倍稀释法制备药液梯度(CU:30 mmol/L→0.234 mmol/L; QU:160 mmol/L→5 mmol/L; TQ:67 mmol/L→2.094 mmol/L),与等体积菌液(10⁵ CFU/mL)接种于96孔板,37 °C厌氧培养48 h,以ΔA≤0.05确定MIC。取20 μL高于MIC浓度的培养物涂布血琼脂平板,培养48 h后菌落数<5个的最低浓度为MBC,重复3次。

1.5 联合药敏试验

基于单药MIC,采用棋盘法进行两两组合(CU:0.469~30 mmol/L, QU:2.5~160 mmol/L, TQ:4.188~67 mmol/L),每孔加50 μL药物稀释液与100 μL菌液(10⁵ CFU/mL),设阴/阳性对照。厌氧培养48 h后测OD值,记录各自的MIC_{甲药联合}和MIC_{乙药联合},通过计算FIC指数(fractional inhibitory concentration index, FICI)评价药物的效应模式。FICI的计算与判读标准:FICI=MIC_{甲药联合}/MIC_{甲药单用}+MIC_{乙药联合}/MIC_{乙药单用}。当FICI≤0.5,两者为协同作用;当0.5<FICI≤1,两者为相加作用;当1<FICI<4,两者为无关作用;当FICI≥4,两者为拮抗作用^[18]。实验重复3次。

1.6 药物对主要致病菌生长曲线测定

在96孔板中加入2MIC、MIC、1/2MIC、1/4MIC单药及联合用药药液100 μL,接种10⁷ CFU/mL菌液100 μL,于1、2、3、4、6、8、10、12、16、20、24、32、40、48 h测595 nm吸光度,每组2复孔,重复3次。

1.7 药物对主要致病菌产酸能力的检测

将菌液与药液等以1:1(V/V)体积混合,厌氧培养48 h,离心后收集上清,测定各个组培养前后pH值,计算ΔpH=初始pH-终末pH,重复3次。

1.8 药物对主要致病菌黏附能力的影响

菌液与药液等以1:1(V/V)体积接种于试管内,倾斜30°固定,标记为管1,厌氧培养48 h后将管1培养物倒入试管中,标记为管2。吸取3 mL PBS加入管1中,缓慢转移至试管中,标记为管3。将管2、管3内的培养物离心取上清液。最后吸取3 mL PBS分别加入管1、管2、管3中,酶标仪测试管1、管2、管3的OD值,分别记为A₁、A₂、A₃。计算黏附抑制率=1-A₁/(A₁+A₂+A₃)。实验重复3次,取均值。

1.9 最低生物膜形成抑制浓度(minimal biofilm inhibitory concentration, MBIC)、最低清除已形成生

物膜浓度(minimum biofilm reduction concentration, MBRC)的测定

200 μL 药液与 20 μL 菌液(10^7 CFU/mL)接种于 96 孔板,厌氧培养 48 h,PBS 洗涤,甲醇固定 15 min,弃固定液后室温干燥,结晶紫染色 5 min,充分漂洗后室温干燥,乙醇溶解 30 min,测定吸光度值。抑制率 $= (1 - A_{595}^{\text{实验组}} / A_{595}^{\text{阴性对照组}})$,计算 MBIC^[19,20]。20 μL 菌液(10^7 CFU/mL)与 200 μL BHI 液体培养基接种于 96 孔板,厌氧培养 48 h 形成生物膜,PBS 洗涤后加入 200 μL 药液继续培养 48 h。洗涤、固定、染色、检测方法同上。抑制率同上计算 MBRC^[20]。实验重复 3 次。

1.10 药物对主要致病细菌细胞膜的破坏作用

基于以上实验结果,选用浓度为 2MIC 的 CU+TQ 对 10^7 CFU/mL 菌悬液等体积处理,厌氧培养 48 h,离心,2.5% 戊二醛固定 24 h,后除固定液 PBS 漂洗 3 次,1% 四氧化锇二次固定 2 h,再次漂洗。梯度乙醇(30%、50%、70%、80%、90%、95%)脱水 15 min,无水乙醇强化脱水 20 min,放置于 100% 乙醇里。临界点干燥,喷铂后在扫描电子显微镜下观察细胞形态。

1.11 液相色谱-质谱联用分析

2MIC 的 CU+TQ 对 10^7 CFU/mL 菌悬液等体积处理,厌氧培养 48 h,离心取上清,液氮速冻后 -80°C 保持。24 h 后迅速解冻取 100 μL 上清加入 300 μL 甲醇,震荡 30 min, 4°C 离心取 200 μL 上清上机。实验组 PG(CU+TQ+*P. gingivalis*)、AA(CU+TQ+*A. actinomycetemcomitans*)与对照组 UT-1(*P. gingivalis*)、UT-2(*A. actinomycetemcomitans*)各 3 个重复,质谱下机的原始数据导入到 Progenesis QI 经峰对齐、基线校正、去噪等预处理后,以 $P < 0.05$, $FC \geq 1.5$ 筛选显著差异代谢物,KEGG 富集分析并可视化。

1.12 统计学处理

使用 Graphpad Prism 9.5.0 软件进行数据处理及统计学分析。对各组数据行正态分布检验,若符合正态分布,再对各组数据行方差齐性检验,若方差齐选用 ANOVA 检验;若方差不齐,则采用 Brown-Forsythe 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MIC 及 MBC 的测定结果

实验结果表明,CU、QU、TQ 对 *P. gingivalis* 和 *A. actinomycetemcomitans* 均存在一定的抑制作用。

两种药物联合使用时的 MIC 及 MBC 均小于单药使用,见表 1、2。

表 1 三种药物对牙龈卟啉单胞菌的最低抑菌浓度、最低杀菌浓度测定结果 (mmol/L)

Tab 1 The minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration values of curcumin, quercetin, and thymoquinone to *Porphyromonas gingivalis* (mmol/L)

药物组合	CU+QU		CU+TQ		TQ+QU	
	CU	QU	CU	TQ	TQ	QU
单药 MIC	3.75	20.00	3.75	33.50	33.50	20.00
联用时 MIC	0.94	5.00	0.94	8.38	8.38	10.00
单药 MBC	7.50	40.00	7.50	67.00	67.00	40.00
联用时 MBC	3.75	20.00	3.75	33.50	33.50	20.00

注:MIC:最低抑菌浓度;MBC:最低杀菌浓度。

表 2 三种药物对伴放线菌团聚杆菌的最低抑菌浓度、最低杀菌浓度测定结果 (mmol/L)

Tab 2 The minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration values of curcumin, quercetin, and thymoquinone to *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (mmol/L)

药物组合	CU+QU		CU+TQ		TQ+QU	
	CU	QU	CU	TQ	TQ	QU
单药 MIC	1.88	10.00	1.88	8.38	8.38	10.00
联用时 MIC	0.47	5.00	0.94	2.09	4.19	2.50
单药 MBC	3.75	20.00	3.75	16.80	16.80	20.00
联用时 MBC	1.88	10.00	1.88	8.38	8.38	10.00

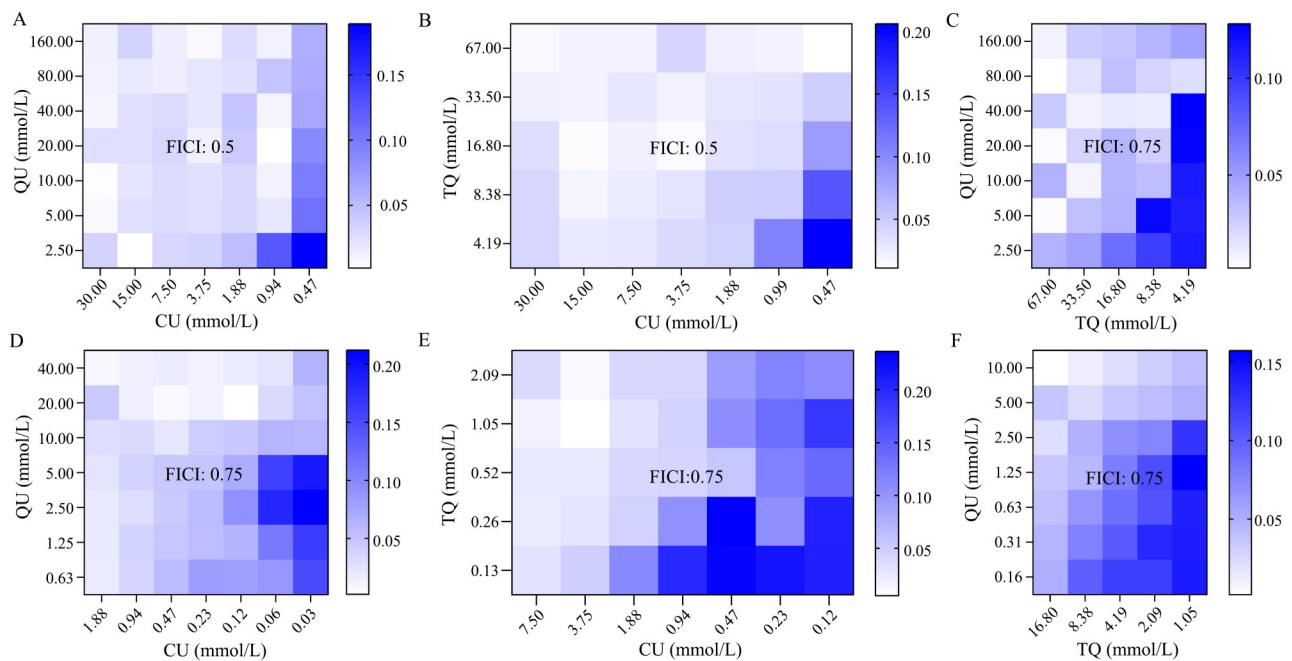
注:MIC:最低抑菌浓度;MBC:最低杀菌浓度。

2.2 CU、QU、TQ 联合药敏测试结果

CU+QU、CU+TQ 对 *P. gingivalis* 的抑制具有协同作用,QU+TQ 对 *P. gingivalis* 的抑制具有相加作用;CU+QU、CU+TQ、QU+TQ 对 *A. actinomycetemcomitans* 的抑制具有相加作用,见图 1A~F。

2.3 CU、QU、TQ 对两种主要致病细菌生长曲线的影响

其生长曲线显示,*P. gingivalis* 于第 4 小时进入平台期,浓度为 MIC 的 CU、QU 及 TQ 的生长曲线进入平台期的时间延长至第 8、6、6 小时,且浓度低于 MIC 曲线水平。其生长抑制曲线显示,*A. actinomycetemcomitans* 于第 10 小时进入平台期,浓度为 MIC 的 CU、QU 及 TQ 的进入平台期的时间缩短至第 3、6、3 小时。大于 MIC 浓度及药物联合时的细菌均无明显生长曲线形态,且细菌在生长对数期的抑制作用最为明显。三种药物对 *P. gingivalis* 和



A~C: 牙龈卟啉单胞菌的药敏测试;D~F: 伴放线菌团聚杆菌的药敏测试;CU: 姜黄素;QU: 槲皮素;TQ: 百里香醌;纵横坐标代表药物浓度

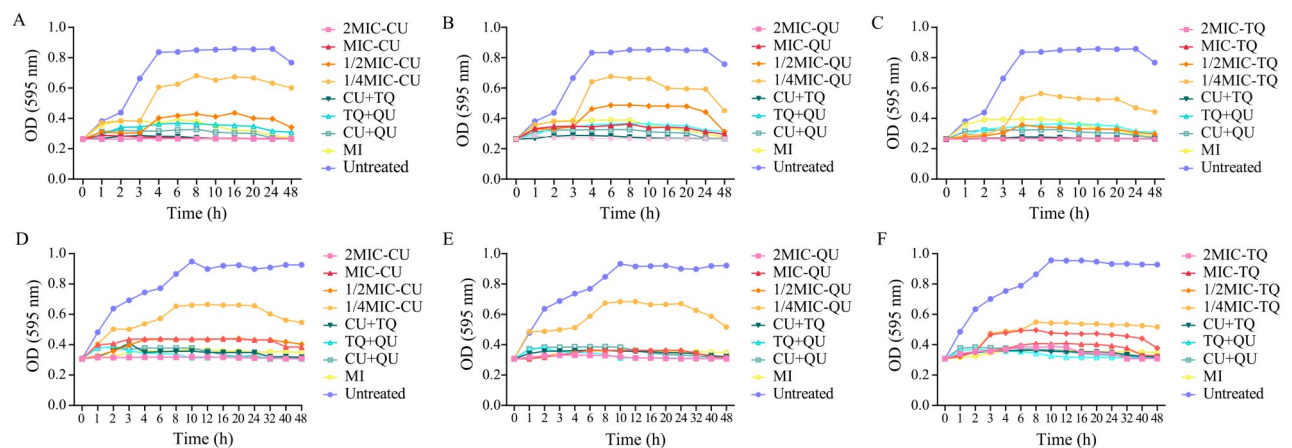
图1 三种药物组合对牙龈卟啉单胞菌、伴放线菌团聚杆菌的FIC指数结果

Fig 1 Fractional inhibitory concentration index data on three paired combinations of *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

A. actinomycetemcomitans 的抑制作用随浓度的增加而增大,呈现浓度依赖性,且细菌进入衰亡期的时间明显提前,衰亡速度明显加快,见图2A~F。

2.4 CU、QU、TQ对两种主要致病细菌产酸的影响
CU、QU、TQ及联合用药时可抑制 *P. gingivalis*

及 *A. actinomycetemcomitans* 的产酸能力 ($P < 0.05$); 联合使用药物对抑制 *P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans* 的产酸的能力优于单独使用药物 ($P < 0.05$),联合用药组与除CU组外的单独用药组差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),见图3A、B。



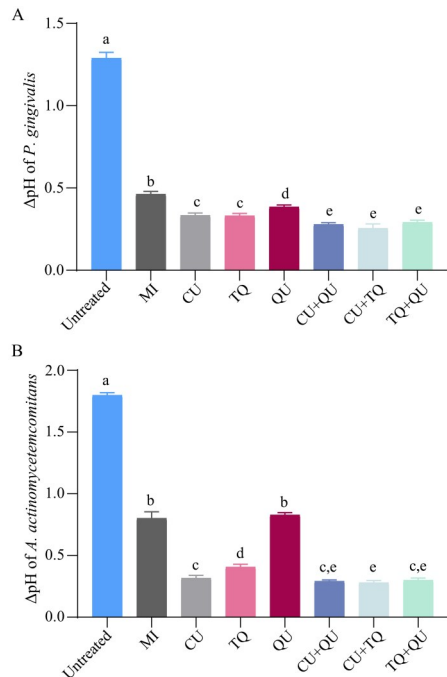
A~C: 牙龈卟啉单胞菌生长曲线;D~F: 伴放线菌团聚杆菌生长曲线;CU: 姜黄素;QU: 槲皮素;TQ: 百里香醌;MI: 2% 米诺环素对照组;MIC: 最低抑菌浓度

图2 姜黄素、槲皮素、百里香醌及联合药物对牙龈卟啉单胞菌、伴放线菌团聚杆菌生长曲线的影响

Fig 2 Effects of curcumin, quercetin, thymoquinone, and combination on the growth curve of *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

2.5 CU、QU、TQ对两种致病细菌黏附能力的影响
CU、QU、TQ及其联合使用可抑制 *P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans* 的黏附能力 ($P < 0.05$);

联合使用药物对 *P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans* 的黏附抑制作用优于单独使用药物 ($P < 0.05$); 与 QU+TQ 相比,CU+TQ 对 *P. gingivalis* 的黏附



A: 牙龈卟啉单胞菌; B: 伴放线菌团聚杆菌; CU: 姜黄素; QU: 槲皮素; TQ: 百里香酚; MI: 2% 米诺环素对照组; 不同字母的各组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)

图3 姜黄素、槲皮素、百里香酚及联合药物对牙龈卟啉单胞菌、伴放线菌团聚杆菌产酸的影响

Fig 3 Effects of curcumin, quercetin, thymoquinone, and combination on acid production of *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

抑制更好 ($P < 0.05$); 相较于 QU+CU, TQ+CU/QU 对 *A. actinomycetemcomitans* 的黏附抑制更好 ($P < 0.05$), 见图 4A、B。

2.6 CU、QU、TQ 对两种主要致病细菌单菌种生物膜 MBIC 和 MBRC 的测定

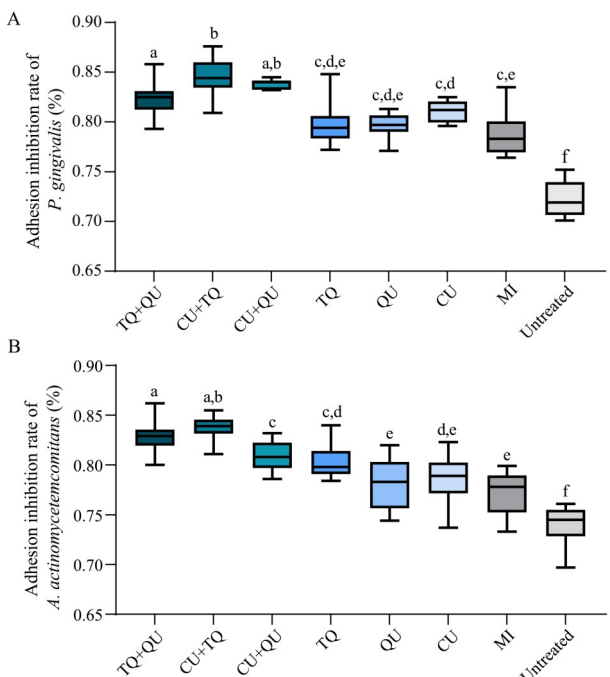
CU、QU、TQ 对 *P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans* 的抑制单菌种生物膜的形成、已形成生物膜清除均表现出一定能力, 见表 3、4。

表3 三种药物对牙龈卟啉单胞菌的最低生物膜形成抑制浓度、最低清除已形成生物膜浓度测定结果 (mmol/L)

Tab 3 The minimum biofilm formation inhibitory concentration and minimum concentration for eradicating the formed biofilm values of curcumin, quercetin, and thymoquinone to *Porphyromonas gingivalis* (mmol/L)

药物组合	CU+QU		CU+TQ		TQ+QU	
	CU	QU	CU	TQ	TQ	QU
单药 MBIC	7.50	20.00	7.50	33.50	33.50	20.00
联用时 MBIC	3.75	10.00	3.75	16.80	16.80	10.00
单药 MBRC	15.00	40.00	15.00	67.00	67.00	40.00
联用时 MBRC	7.50	20.00	7.50	33.50	33.50	20.00

注: CU: 姜黄素; QU: 槲皮素; TQ: 百里香酚; MBIC: 最低生物膜形成抑制浓度; MBRC: 最低清除已形成生物膜浓度。



A: 牙龈卟啉单胞菌; B: 伴放线菌团聚杆菌; CU: 姜黄素; QU: 槲皮素; TQ: 百里香酚; MI: 2% 米诺环素对照组; 不同字母的各组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)

图4 姜黄素、槲皮素、百里香酚及联合药物对牙龈卟啉单胞菌、伴放线菌团聚杆菌黏附能力的影响

Fig 4 Effects of curcumin, quercetin, thymoquinone, and combination on the adhesion of *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

2.7 药物对主要致病细菌细胞膜的破坏作用

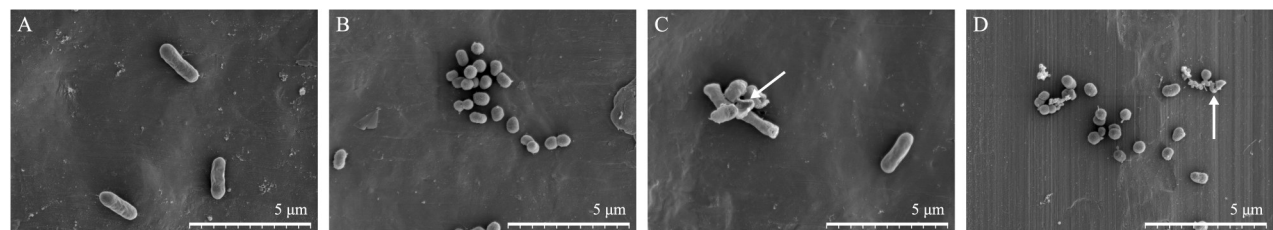
通过以上实验, 选取上述结果中对 *P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans* 抑制最强的 CU+TQ (3.75 mmol/L+16.8 mmol/L) 作用于细胞; 通过扫描电子显微镜观察发现其对 *P. gingivalis* 和 *A. actinomycetemcomitans* 的细胞膜具有破坏作用, 见图 5A~D。

表4 三种药物对伴放线菌团聚杆菌的最低生物膜形成抑制浓度、最低清除已形成生物膜浓度测定结果 (mmol/L)

Tab 4 The minimum biofilm formation inhibitory concentration and minimum concentration for eradicating the formed biofilm values of curcumin, quercetin, and thymoquinone to *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (mmol/L)

药物组合	CU+QU		CU+TQ		TQ+QU	
	CU	QU	CU	TQ	TQ	QU
单药 MBIC	3.75	40.00	3.75	16.80	16.80	40.00
联用时 MBIC	1.88	20.00	1.88	8.38	8.38	20.00
单药 MBRC	7.50	80.00	7.50	33.50	33.50	80.00
联用时 MBRC	3.75	40.00	3.75	16.80	16.80	40.00

注: CU: 姜黄素; QU: 槲皮素; TQ: 百里香酚; MBIC: 最低生物膜形成抑制浓度; MBRC: 最低清除已形成生物膜浓度。



A: 未经处理的牙龈卟啉单胞菌;B:伴放线菌团聚杆菌细胞表面结构完整;C:经2MIC(CU+TQ)处理的牙龈卟啉单胞菌细胞膜出现破损(如箭头所示);D:处理的伴放线菌团聚杆菌细胞体积缩小且细胞呈现粉碎状态(如箭头标示)

图5 姜黄素和百里香酚的联合用药对牙龈卟啉单胞菌、伴放线菌团聚杆菌细胞的影响

Fig 5 Effects of combination-use of curcumin and quercetin on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* cells

2.8 非靶向代谢物的分析与筛选

实验组和对照组的差异代谢物的分布区域明显不一致,为后续进行差异代谢物的筛选和分析提供基础,见图6A、B。

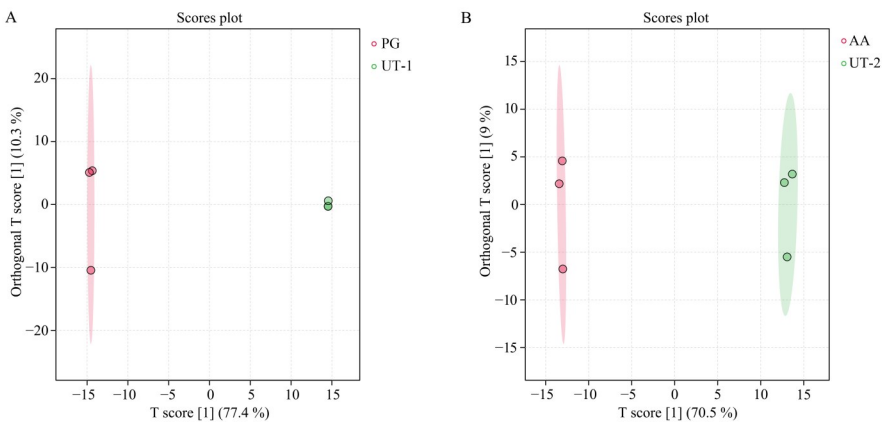
2.9 差异代谢物分析

以 OPLS-DA 结果模型得到的 VIP 值($VIP >$

1.0)和统计检验中预设的 P 值($P < 0.05$)值进行差异代谢物筛选,以两组中 FC 值 ≥ 1.5 和 $\leq 2/3$ 为上调和下调代谢物,并对上调和下调的差异代谢物取交集(选取前7进行展示),见图7、8和表5~7。

2.10 KEGG 富集分析

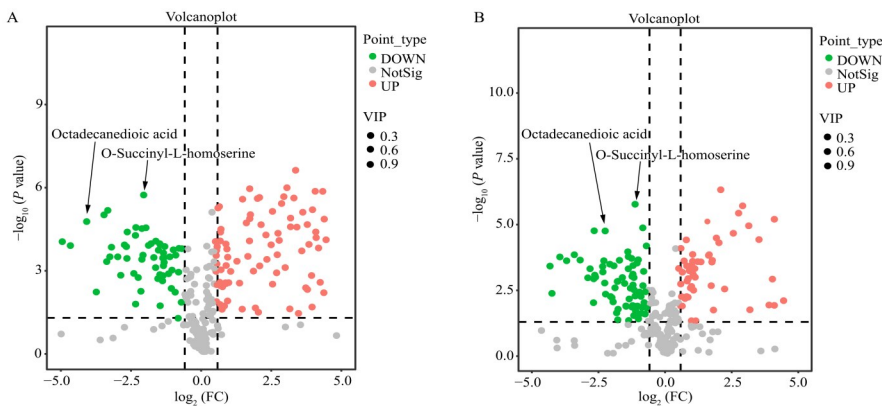
P. gingivalis、*A. actinomycetemcomitans* 的差异



A: 牙龈卟啉单胞菌组示意图;B:伴放线菌团聚杆菌组示意图

图6 OPLS-DA 得分图

Fig 6 OPLS-DA scores plot



A: 牙龈卟啉单胞菌组示意图;B:伴放线菌团聚杆菌组示意图

图7 差异代谢物火山图

Fig 7 Volcano plot of differential metabolites

表 5 差异代谢物统计表
Tab 5 Summary of differential metabolites

Compared samples	Total	Total sig	Up	Down
PG vs. UT-1	328	184	117	67
AA vs. UT-2	295	150	78	72

注:PG 代表 CU+TQ+ 牙龈卟啉单胞菌实验组、AA 代表 CU+TQ+伴放线菌团聚杆菌实验组;UT-1 代表对照组牙龈卟啉单胞菌、UT-2 代表对照组伴放线菌团聚杆菌。

代谢物主要存在于代谢物和生物系统中,其中包含了其他次生代谢物的生物合成,脂质代谢及氨基酸代谢,见图 9A、B;*P. gingivalis* 代谢通路存在于次生代谢物的生物合成、吡啶生物碱生物合成、氨基酸代谢等,*A. actinomycetemcomitans* 代谢通路存在于氨基酸的生物合成、蛋白质的消化和吸收等(选取前 5 进行展示),见表 8、9。

表 6 牙龈卟啉单胞菌和伴放线菌团聚杆菌共同上调的差异代谢物

Tab 6 Commonly upregulated differential metabolites in *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Compound	Formula	m/z	rt	VIP	FC	P
5.72_683.3344m/z	C36H54O11	683.334 4	5.724 9	1.125 8	19.191 3	0.000 1
6.02_721.3864m/z	C38H56N6O9	721.386 4	6.019 7	1.130 4	173.245 0	<0.000 1
7.09_819.4232m/z	C41H68O14	819.423 2	7.085 9	1.135 7	1611.636 3	<0.000 1
6.59_741.3760m/z	C36H56O13	741.376 0	6.592 0	1.100 9	70.763 4	0.001 5
6.51_383.1239m/z	C19H25ClO6	383.123 9	6.507 1	1.123 1	376.264 2	0.000 2
6.17_658.3398m/z	C34H49N5O6	658.339 8	6.169 4	1.125 1	1.994 0	0.000 1
5.15_203.0817m/z	C11H12N2O2	203.081 7	5.147 2	1.090 4	1.922 9	0.002 4

表 7 牙龈卟啉单胞菌和伴放线菌团聚杆菌共同下调的差异代谢物

Tab 7 Commonly downregulated differential metabolites in *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Compound	Formula	m/z	rt	VIP	FC	P
6.61_204.0658m/z	C11H11NO3	204.065 82	6.613 57	1.121 77	0.250 37	0.000 24
11.02_733.5481m/z	C38H77N2O6P	733.548 09	11.018 77	1.128 32	0.379 05	0.000 09
11.33_747.5634m/z	C39H79N2O6P	747.563 42	11.327 47	1.129 20	0.344 20	0.000 07
13.47_855.6581m/z	C47H91N2O6P	855.658 09	13.466 63	1.136 69	0.000 00	<0.000 01
14.39_857.6739m/z	C47H93N2O6P	857.673 90	14.391 80	1.136 69	0.000 00	<0.000 01
6.83_258.0978m/z	C10H15NO4	258.097 78	6.828 13	1.126 67	0.654 13	0.000 14
7.12_911.4502m/z	C48H72O14	911.450 18	7.119 73	1.077 06	0.503 73	0.003 85

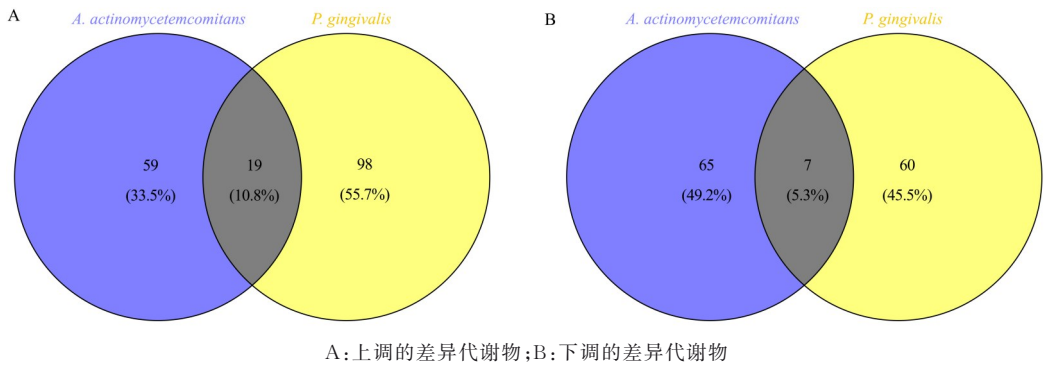
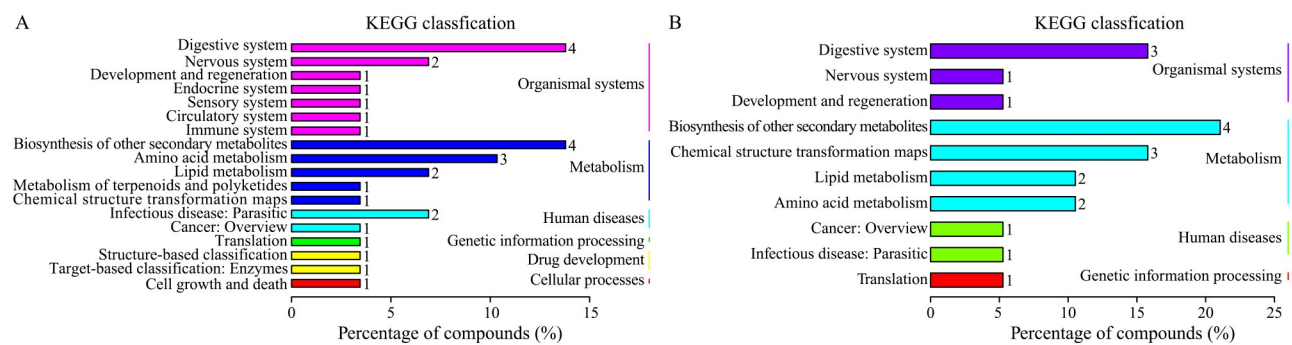


图 8 牙龈卟啉单胞菌和伴放线菌团聚杆菌差异代谢物韦恩图

Fig 8 Venn diagram of differential metabolites between *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*



A:牙齦卟啉單胞菌組示意图;B:伴放線菌團聚桿菌組示意图

图9 差异代谢物KEGG分类柱状图

Fig 9 Bar plot of KEGG classification of differentially expressed metabolites

表8 牙齦卟啉單胞菌差异代谢物通路分析结果

Tab 8 Pathway enrichment analysis results of differential metabolites in *Porphyromonas gingivalis*

Pathway ID	Pathway	Ratio	P	Enrichment	FDR
map01110	Biosynthesis of secondary metabolites	0.833	0.078	1.111	0.625
map00901	Indole alkaloid biosynthesis	1.000	0.269	0.570	0.625
map01210	2-Oxocarboxylic acid metabolism	1.000	0.538	0.269	0.625
map04978	Mineral absorption	1.000	0.538	0.269	0.625
map05143	African trypanosomiasis	1.000	0.538	0.269	0.625

注:Pathway ID:通路在KEGG数据库中的ID号;Pathway name:通路名称;Ratio:富集到通路上差异代谢物数量除以富集到通路上的所有代谢物数量;P:超几何分布检验的P值;FDR:假阳性校正后值,采用Benjamini and Hochberg法计算。

表9 伴放線菌團聚桿菌差异代谢物通路分析结果

Tab 9 Pathway enrichment analysis results of differential metabolites in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Pathway ID	Pathway	Ratio	P	Enrichment	FDR
map01230	Biosynthesis of amino acids	1.000	0.133	0.875	0.452
map04974	Protein digestion and absorption	1.000	0.400	0.398	0.452
map04726	Serotonergic synapse	1.000	0.400	0.398	0.452
map04978	Mineral absorption	1.000	0.400	0.398	0.452
map00901	Indole alkaloid biosynthesis	1.000	0.400	0.398	0.452

注:Pathway ID:通路在KEGG数据库中的ID号;Pathway name:通路名称;Ratio:富集到通路上差异代谢物数量除以富集到通路上的所有代谢物数量;P:超几何分布检验的P值;FDR:假阳性校正后值,采用Benjamini and Hochberg法计算。

3 讨论

近年来,随着口腔种植修复技术的广泛应用,种植体植入数量的持续增长,其并发症防控需求也不断增加,促使学术界对种植体周围组织炎症的治疗及反应的分子机制展开深入探讨^[21]。因常规的机械清创并不能完全消除细菌导致的的负荷^[22],使用抗生素虽可增加细菌清除率,但过度使用是耐药菌^[23]出现的主要原因。因此选择天然化合物或传统中草药作为抗菌药物对抗致病菌。

有研究发现,CU与绿茶多酚的联合使用对*P. gingivalis*起协同抑制作用^[24]。本研究通过CU、QU、TQ单独及联合使用测定*P. gingivalis*、*A. acti-*

*nomycetemcomitans*的MIC和MBC,发现联合使用后的MIC、MBC值均降低,且CU+TQ对*P. gingivalis*的抑制起到协同作用,表明药物联合使用对种植体周围炎的致病菌加强了抑制。本研究绘制的*P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans*生长曲线表现出药物对其抑制的浓度依赖,与Augustina等^[25]对古拉米鱼鳞提取物与CU联合抑制*P. gingivalis*呈现一致效果。细菌通过代谢碳水化合物产生有机酸,降低局部微环境pH值,直接破坏种植体周围软组织从而促进炎症反应和牙周袋形成。Brown等^[26]研究发现*A. actinomycetemcomitans*能缓慢代谢碳源以促进其生长,本研究中药物的联合使用明显抑

制了 *P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans* 的产酸作用。*P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans* 也通过多黏附素协同作用和生物膜动态调控实现其在种植体周围黏膜组织的高效定植。Kumbar 等^[10]研究出 CU 可以减少 *P. gingivalis* 的黏附, 本研究与其结果一致, 并发现 CU+TQ 对 *P. gingivalis* 的黏附抑制作用最强, 对 *A. actinomycetemcomitans* 的抑制也是如此。游离菌的研究并不能完全说明药物对种植体周围炎细菌生物膜内的抑制效果, Liu 等^[27]通过测定 MBIC 发现 Decapeptide KSL 抑制变异链球菌生物膜的形成, 同样本研究测定了 MBIC 与 MBRC, 发现药物对 *P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans* 的生物膜均有清除作用, 且药物联合时的浓度较其单独使用时低。

本研究通过以上生物表型实验, 比较出抑制 *P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans* 的最强药物联合, 即 CU+TQ, 并发现其破坏了 *P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans* 的细胞膜。这与 Tyagi 等^[28]对 CU 破坏革兰氏阴性菌细胞膜的研究结果一致, 与 Fan 等^[29]对 TQ 可以破坏福氏志贺氏菌细胞膜的研究结果相似。有研究发现, CU 以氨基酸为途径抑制 *P. gingivalis* 的生长^[30], 本研究发现了类似结果, CU+TQ 对 *P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans* 的差异代谢物主要存在于代谢物和生物系统中, 包含了其他次生代谢物的生物合成, 脂质代谢及氨基酸代谢。其中以色氨酸和瓜氨酸为主要成分。L-瓜氨酸于尿素循环/NO 中合成, 其上调反映 CU+TQ 的处理使得两种细菌代谢过程中的氮代谢发生紊乱, 从而导致中间产物的堆积; 色氨酸参与犬尿氨酸通路, 说明 CU+TQ 通过诱导氧化应激, 两种细菌启动抗氧化响应从而起到杀菌的作用, 但吡啶乳酸的上调可能会激活生物膜的形成或者群体感应^[31], 从而增强耐药性。另外其中 O-琥珀酰-L-高丝氨酸是甲硫氨酸生物合成的关键中间体^[32], 甲硫氨酸是细菌生长的必需氨基酸, O-琥珀酰-L-高丝氨酸的下调直接会影响细菌的生长。十八烷二酸通过 β -氧化生成乙酰-CoA, 其下调显示抑制脂肪酸氧化, 阻断能量供应^[33]。脂质及类脂分子如磷脂酰胆碱的上升, 还可能是 CU+TQ 对细菌细胞膜的损伤的表现。本研究差异代谢物分析发现了 12-羟基十七碳三烯酸(12-HHTre)的下降, 有研究显示脆弱拟杆菌及其代谢物 12-HHTre 可激活小胶质细胞并可诱导小鼠阿尔兹海默症的发生^[34], 在种植体周围炎的发生、发展过程中是否存在相同的作用机制还有待进一步探索。

P. gingivalis 代谢通路存在于次生代谢物的生物合成、吡啶生物碱生物合成、氨基酸代谢等, 其中以色氨酸的生物合成为主, L-色氨酸生物合成需要赤藓糖-4-磷酸, 而赤藓糖-4-磷酸通过磷酸戊糖途径和糖酵解途径形成, 说明 CU+TQ 对 *P. gingivalis* 的代谢影响可能通过了这两种途径, 这与 Murai 等^[30]研究结果类似; *A. actinomycetemcomitans* 代谢通路存在于氨基酸的生物合成、蛋白质的消化和吸收等, 这与 *P. gingivalis* 的研究结果相似, 两者具有相同的生物合成途径, 表明了 CU+TQ 可以通过相同的代谢途径对种植体周围炎的主要致病菌 *P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans* 起到抑制的作用。然而筛选出的差异代谢物富集所在通路的 *P* 值较高, 表示差异无统计学意义, 有可能是因为本实验使用的富集通路的数据库不足, 大部分的差异代谢物在 KEGG 数据库中无 ID, 导致大部分数据的缺失, 还有可能因为重复样本量较少, 导致代谢物的数据不足, 从而影响对其作用通路分析, 后续可以通过加大样本含量、数据库的选择对其代谢产物的通路开展进一步探究。本研究还可以通过测定 16S rRNA 基因表达从而探究其基因分子水平的抑制通路及特点, 并且通过种植体周围炎动物模型进行相关因子的验证。

综上所述, CU、QU、TQ 对种植体周围炎主要致病菌 *P. gingivalis*、*A. actinomycetemcomitans* 的生物表型均有抑制及破坏作用且 CU+TQ 的作用最强, 其通过参与细菌内部分氨基酸的代谢过程和能量的生成来表现抑制作用。本研究未来还需通过体内实验证明其毒性和生物安全性等, 通过蛋白及基因组学深层次探究 CU 联合 TQ 在种植体周围炎中的作用机制, 从而达到精准治疗种植体周围炎的效果, 减少种植体周围炎的发生率, 提高牙种植术的成功率, 并为患者提供更好的口腔健康护理。

作者贡献度说明:

钱艺: 论文选题、实验设计、实验实施、论文撰写; 王鼎、周娜: 实验实施; 唐牧、陈铎、刘钰昕: 数据整理分析、绘图; 周政、缙小蕊: 实验设计指导、论文审阅。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

- 1 Diaz P, Gonzalo E, Villagra LJ, et al. What is the prevalence of peri-implantitis? A systematic review and meta-analysis[J]. BMC Oral Health, 2022, 22(1): 449.
- 2 Cui Z, Wang P, Gao W. Microbial dysbiosis in periodontitis and peri-implantitis: Pathogenesis, immune respons-

- es, and therapeutic [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2025, 15: 1517154.
- 3 Chun Giok K, Menon RK. The microbiome of peri-implantitis: A systematic review of next-generation sequencing studies[J]. *Antibiotics (Basel)*, 2023, 12(11): 1610.
- 4 Iusan SA, Lucaciu OP, Petrescu NB, et al. The main bacterial communities identified in the sites affected by periimplantitis: A systematic review [J]. *Microorganisms*, 2022, 10(6): 1232.
- 5 Rams TE, Degener JE, van Winkelhoff AJ. Antibiotic resistance in human peri-implantitis microbiota [J]. *Clin Oral Implants Res*, 2014, 25(1): 82-90.
- 6 Abdulkareem A, Abdulbaqi H, Gul S, et al. Classic vs. novel antibacterial approaches for eradicating dental biofilm as adjunct to periodontal debridement: An evidence-based overview[J]. *Antibiotics (Basel)*, 2021, 11(1): 9.
- 7 Łasica A, Golec P, Laskus A, et al. Periodontitis: Etiology, conventional treatments, and emerging bacteriophage and predatory bacteria therapies[J]. *Front Microbiol*, 2024, 15: 1469414.
- 8 Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, et al. Curcumin: The Indian solid gold[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2007, 595: 1-75.
- 9 Pan H, Wang D, Zhang F. *In vitro* antimicrobial effect of curcumin-based photodynamic therapy on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*[J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2020, 32: 102055.
- 10 Kumbar VM, Peram MR, Kugaji MS, et al. Effect of curcumin on growth, biofilm formation and virulence factor gene expression of *Porphyromonas gingivalis* [J]. *Odontology*, 2021, 109(1): 18-28.
- 11 Xu F, Cao S, Wang C, et al. Antimicrobial activity of flavonoids from *Sedum aizoon* L. against *Aeromonas* in culture medium and in frozen pork[J]. *Food Sci Nutr*, 2019, 7(10): 3224-3232.
- 12 Miao X, Liu H, Zheng Y, et al. Inhibitory effect of thymoquinone on *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 biofilm formation and virulence attributes critical for human infection[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9: 304.
- 13 Chaieb K, Kouidhi B, Jrah H, et al. Antibacterial activity of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2011, 11: 29.
- 14 Tantivitayakul P, Kaypetch R, Muadchiengka T. Thymoquinone inhibits biofilm formation and virulence properties of periodontal bacteria[J]. *Arch Oral Biol*, 2020, 115: 104744.
- 15 Kapil H, Suresh DK, Bathla SC, et al. Assessment of clinical efficacy of locally delivered 0.2% thymoquinone gel in the treatment of periodontitis [J]. *Saudi Dent J*, 2018, 30(4): 348-354.
- 16 Kouidhi B, Zmantar T, Jrah H, et al. Antibacterial and resistance-modifying activities of thymoquinone against oral pathogens [J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2011, 10: 29.
- 17 Güran M, Şanlıtürk G, Kerküklü NR, et al. Combined effects of quercetin and curcumin on anti-inflammatory and antimicrobial parameters *in vitro* [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 859: 172486.
- 18 Laishram S, Pragasam AK, Bakthavatchalam YD, et al. An update on technical, interpretative and clinical relevance of antimicrobial synergy testing methodologies[J]. *Indian J Med Microbiol*, 2017, 35(4): 445-468.
- 19 Kim YG, Lee JH, Kim SH, et al. Inhibition of biofilm formation in *Cutibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans* by the phytopigment shikonin [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(4): 2426.
- 20 Geladari A, Simitsopoulou M, Antachopoulos C, et al. Dose-dependent synergistic interactions of colistin with rifampin, meropenem, and tigecycline against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* biofilms [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63(3): e02357-18.
- 21 Kormas I, Pedercini C, Pedercini A, et al. Peri-implant diseases: Diagnosis, clinical, histological, microbiological characteristics and treatment strategies. A narrative review[J]. *Antibiotics (Basel)*, 2020, 9(11): 835.
- 22 Louropoulou A, Slot DE, Van der Weijden F. Influence of mechanical instruments on the biocompatibility of titanium dental implants surfaces: A systematic review [J]. *Clin Oral Implants Res*, 2015, 26(7): 841-850.
- 23 Ventola CL. The antibiotic resistance crisis: Part 1: Causes and threats [J]. *P&T*, 2015, 40(4): 277-283.
- 24 Huang Y, Yang H, Lin-Shiau SY. Synergistic antibacterial effects of 5-fluorouracil or thioridazine in combination with phytopolyphenols on cultured *Porphyromonas gingivalis* [J]. *J Dent Sci*, 2023, 18(2): 709-714.
- 25 Augustina EF, Ulfah N, Thariq M, et al. The inhibitory effect of gourami fish scale (*Osphronemus gouramy*) extract-curcumin combination on *Porphyromonas gingivalis* [J]. *World J Adv Res Rev*, 2022, 16(2): 980-988.
- 26 Brown SA, Whiteley M. A novel exclusion mechanism for carbon resource partitioning in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* [J]. *J Bacteriol*, 2007, 189(17): 6407-6414.
- 27 Liu Y, Wang L, Zhou X, et al. Effect of the antimicrobial decapeptide KSL on the growth of oral pathogens and

- Streptococcus mutans* biofilm [J]. Int J Antimicrob Agents, 2011, 37(1): 33-38.
- 28 Tyagi P, Singh M, Kumari H, et al. Bactericidal activity of curcumin I is associated with damaging of bacterial membrane[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0121313.
- 29 Fan Q, Yuan Y, Jia H, et al. Antimicrobial and anti-biofilm activity of thymoquinone against *Shigella flexneri*[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2021, 105(11): 4709-4718.
- 30 Murai H, Kuboniwa M, Kakiuchi M, et al. Curcumin inhibits growth of *Porphyromonas gingivalis* by arrest of bacterial dipeptidyl peptidase activity[J]. J Oral Microbiol, 2024, 16(1): 2373040.
- 31 Chu X, Yang Q. Regulatory mechanisms and physiological impacts of quorum sensing in gram-negative bacteria [J]. Infect Drug Resist, 2024, 17: 5395-5410.
- 32 Ferla MP, Patrick WM. Bacterial methionine biosynthesis[J]. Microbiology (Reading), 2014, 160(Pt 8): 1571-1584.
- 33 Revol-Cavalier J, Quaranta A, Newman JW, et al. The octadecanoids: Synthesis and bioactivity of 18-carbon oxygenated fatty acids in mammals, bacteria, and fungi[J]. Chem Rev, 2025, 125(1): 1-90.
- 34 Xia Y, Xiao Y, Wang Z, et al. *Bacteroides fragilis* in the gut microbiomes of Alzheimer's disease activates microglia and triggers pathogenesis in neuronal C/EBP β transgenic mice[J]. Nat Commun, 2023, 14: 5471.

[本文编辑] 陈思润