

• 论著 •

植物乳杆菌-SLH对实验性牙周炎的治疗效果评价

舒路红^{1,2} 李航基^{1,2} 张婷^{3,4} 赵艳^{3,4} 崔古贞^{3,4} 洪伟^{1,3} 廖健^{1,2}

1. 贵州医科大学口腔医学院/附属口腔医院 贵阳 550004;

2. 贵州医科大学口腔疾病研究重点实验室 贵阳 550004;

3. 贵州医科大学地方病与少数民族疾病教育部重点实验室 贵阳 550004;

4. 贵州医科大学基础医学院微生物学教研室 贵阳 550025

[摘要] 目的 研究临床分离植物乳杆菌-SLH对实验性牙周炎的治疗和缓解作用。方法 从健康婴儿粪便样品中分离纯化出1株植物乳杆菌-SLH为实验对象,革兰染色后进行形态学观察,绘制其生长曲线和产酸曲线,通过牛津杯琼脂扩散法检测菌体及发酵上清液对具核梭杆菌和牙龈卟啉单胞菌的抑菌活性,结晶紫染色法检测该菌株对牙周生物膜形成的抑制能力,并对菌株的溶菌酶耐受能力、体外抗炎能力进行评估。再用4-0丝线结扎法构建实验性牙周炎大鼠模型,将24只大鼠随机分配为正常对照组、牙周炎组和植物乳杆菌-SLH组,每组8只。用磷酸盐缓冲盐水(PBS)配置2%羧甲基纤维素(CMC)溶液作为植物乳杆菌-SLH的重悬溶剂施用于大鼠造模位点的牙周袋内,在正常对照组和牙周炎组分别注射同等量2% CMC的PBS,连续7周给药。给药结束后,对各组大鼠龈沟出血指数及牙周探诊深度进行检测和牙周组织病理学评估。结果 成功分离纯化得到1株益生菌,经16S rDNA测序鉴定后命名为植物乳杆菌-SLH。抑菌实验及生物膜形成实验表明,该菌株的发酵上清液对牙周致病菌牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌有抑菌活性($P<0.05$)。溶菌酶耐受实验表明,植物乳杆菌-SLH具有耐受较高(3 mg/mL)溶菌酶的能力。另外,植物乳杆菌-SLH可降低炎症细胞模型中白细胞介素(IL)-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和IL-6炎症因子的表达($P<0.0001$)。与对照组比较,牙周炎组大鼠龈沟出血指数、牙周探诊深度增加($P<0.0001$)。植物乳杆菌-SLH组与牙周炎组比较,其龈沟出血指数、牙周探诊深度降低($P<0.0001$)。与对照组相比,牙周炎组体重减少($P<0.05$),植物乳杆菌-SLH组与牙周炎组比较体重增加($P<0.0001$)。Micro-CT结果显示,牙周炎组骨吸收明显,植物乳杆菌-SLH组比牙周炎组骨吸收减少($P<0.001$)。苏木精-伊红染色结果显示,植物乳杆菌-SLH组大鼠牙周组织炎症明显减轻。结论 植物乳杆菌-SLH对实验性牙周炎具有显著的缓解作用,具有辅助治疗牙周炎的潜力。

[关键词] 牙周炎; 植物乳杆菌; 牙龈卟啉单胞菌; 具核梭杆菌; 动物模型; 炎症反应

[中图分类号] R781.4⁺2 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2026128



本文链接

OSID码

Evaluation of the therapeutic effect of *Lactobacillus plantarum* SLH on experimental periodontitisShu Luhong^{1,2}, Li Hangjiyun^{1,2}, Zhang Ting^{3,4}, Zhao Yan^{3,4}, Cui Guzhen^{3,4}, Hong Wei^{1,3}, Liao Jian^{1,2}

1. School of Stomatology/Stomatological Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 2. Key Laboratory of Oral Disease Research, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 3. Key Laboratory of Endemic and Ethnic Diseases of the Ministry of Education, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 4. Dept. of Microbiology, School of Basic Medical Sciences, Guizhou

Medical University, Guiyang 550025, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China (82260198, 32170134); Outstanding Young Talent Training Program of Guizhou Medical University [Outstanding Young Talents at Guizhou Medical University (2022)101]; Science and Technology Plan Project in

[收稿日期] 2025-06-09; **[修回日期]** 2026-02-11

[基金项目] 国家自然科学基金(82260198, 32170134); 贵州医科大学优秀青年人才培养计划[贵医大优秀青年人才(2022)101]; 贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2022]一般401)

[第一作者] 舒路红, 硕士, Email: 1935679099@qq.com

[通信作者] 廖健, 教授, 博士, Email: liaojian@gmc.edu.cn

Guizhou Province (Qiankehe Foundation-ZK[2022] General 401)

Correspondence: Liao Jian, Email: liaojian@gmc.edu.cn

[Abstract] Objective This study aimed to investigate the therapeutic potential of clinically isolated *Lactobacillus plantarum* SLH in experimental periodontitis. **Methods** A strain of *Lactobacillus plantarum* SLH, isolated and purified from fecal samples of healthy infants, served as the experimental subject. Following Gram staining for morphological observation, its growth curve and acid production curve were plotted. The antibacterial activity of the bacterial cells and the cell-free fermentation supernatant against *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis* was assessed using Oxford cup agar diffusion assay. The inhibitory effect of this strain on periodontal biofilm formation was evaluated via crystal violet staining assay. Furthermore, the strain's tolerance to lysozyme and its *in vitro* anti-inflammatory capacity were determined. Subsequently, an experimental periodontitis model was established in rats by using ligature-induced method with 4-0 silk sutures. Twenty-four rats were randomly allocated into three groups ($n=8$ per group): a healthy control group, a periodontitis group, and an *Lactobacillus plantarum* SLH treatment group. A suspension of *Lactobacillus plantarum* SLH was prepared in phosphate buffered saline (PBS) containing 2% sodium carboxymethyl cellulose (CMC) as a vehicle. This suspension was administered locally into the periodontal pockets at the ligation sites in the treatment group. The healthy control and periodontitis groups received local injections of an equal volume of the vehicle (2% CMC in PBS) only. This treatment regimen continued for 7 consecutive weeks. Upon completion of the administration period, clinical periodontal parameters, including the gingival sulcus bleeding index and probing pocket depth, were measured for all rats, followed by histopathological evaluation of the periodontal tissues. **Results** A probiotic strain was successfully isolated and purified. Following identification by 16S rDNA sequencing, it was designated as *Lactobacillus plantarum* SLH. Antibacterial and biofilm formation assays demonstrated that the cell-free fermentation supernatant of this strain exhibited significant inhibitory activity against the periodontal pathogens *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* ($P<0.05$). Lysozyme tolerance test indicated that *Lactobacillus plantarum* SLH could withstand a relatively high concentration (3 mg/mL) of lysozyme. Furthermore, *Lactobacillus plantarum* SLH significantly reduced the expression levels of the inflammatory cytokines interleukin (IL)-1 β , tumor necrosis factor (TNF)- α , and IL-6 in an inflammatory cell model ($P<0.0001$). In the animal experiment, compared with the control group, the periodontitis group showed significant increases in the gingival sulcus bleeding index and probing pocket depth ($P<0.0001$). Administration of *Lactobacillus plantarum* SLH resulted in a significant reduction in sulcus bleeding index (SBI) and probing depth (PD) compared with the treatment of periodontitis groups ($P<0.0001$). The body weight of the periodontitis group decreased compared with that of the controls ($P<0.05$), and the *Lactobacillus plantarum* SLH treatment group showed a significant increase in body weight compared with the periodontitis group ($P<0.0001$). Micro-computed tomography analysis revealed pronounced alveolar bone resorption in the periodontitis group. This bone loss was significantly attenuated in the *Lactobacillus plantarum* SLH treatment group compared with the periodontitis group ($P<0.001$). Histopathological examination using hematoxylin and eosin staining showed a marked alleviation of inflammatory cell infiltration and tissue damage in the periodontal tissues of rats treated with *Lactobacillus plantarum* SLH. **Conclusion** *Lactobacillus plantarum* SLH exerts significant ameliorative effects on experimental periodontitis and holds potential as an adjunctive therapy for periodontal disease.

[Key words] periodontitis; *Lactobacillus plantarum*; *Porphyromonas gingivalis*; *Fusobacterium nucleatum*; animal model; inflammatory response

牙周炎是一种主要由牙菌斑中的细菌侵犯牙周组织导致的慢性炎症性疾病, 通常表现为牙周支持组织的炎症浸润及牙槽骨的损伤和丧失^[1]。第四次全国口腔健康流行病学调查数据显示, 我国

年龄在35岁及以上的成年人群中, 约有62.3%的人群患有不同严重程度的牙周炎, 而重度牙周炎的患病率更是达到了30.6%的水平^[2]。研究^[3]表明: 牙周炎的发生发展是牙菌斑中的微生物感染

与宿主免疫反应相互作用的结果。为了保持牙周组织的健康,牙菌斑生物膜和宿主免疫反应之间维持着一种动态平衡,一旦这种平衡被牙周致病菌的侵袭所打破,就会触发牙周组织的免疫反应,导致牙周炎的发生。牙周炎相关重要致病菌主要是具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*)、牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)、中间普氏菌等革兰阴性菌。这些致病菌可以通过产生毒力因子如脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)直接破坏牙周组织^[4],也可通过产生毒性产物刺激牙周组织产生炎性细胞因子,如白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor-alpha, TNF- α)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)等^[5],诱导免疫细胞迁移聚集在牙周组织内引发炎症反应,导致牙周组织的破坏和深牙周袋的形成。这些炎症因子还可由牙周组织进入循环系统,介导全身炎症状态,因此牙周炎也是心血管疾病^[6]、糖尿病^[7]、类风湿性关节炎、阿尔兹海默症、癌症等全身性疾病的危险因素^[8-9]。控制牙周组织的局部炎症并防止宿主产生过度的免疫反应,对于引导微生物群落向更健康的状态转变至关重要,这不仅是治疗牙周炎的核心策略,也是促进全身健康的重要途径。

机械治疗去除菌斑刺激物结合药物辅助治疗是临床治疗牙周炎的主要方式,而药物治疗最常用的是抗生素类药物。临床治疗牙周炎使用的抗生素种类主要为硝基咪唑类、四环素类以及青霉素类抗菌药物^[10],因在牙周袋局部维持抗生素药物的有效浓度需要全身大剂量使用抗生素,这可能会导致耐药性的产生、菌群失衡和肝肾毒性的风险^[11]。因此,开发一种安全、高效的非侵入性和非抗生素治疗的策略对牙周炎防治具有重要意义。益生菌疗法成为了近年来一个研究热点,它是一种新型的“以菌治菌”的生物疗法,其安全性已被欧美食品安全组织和中国国家卫生健康委员会(National Health Commission of China, NHC)认可^[12]。益生菌在2001年被世界卫生组织及联合国粮农组织定义为“适量补充至宿主体内后,能够对其健康状况产生积极效益的一类微生物”^[12]。用于牙周炎治疗的益生菌大多是乳杆菌属,比如罗伊氏乳杆菌、唾液乳杆菌以及植物乳杆菌等。大量研究揭示了益生菌治疗牙周炎的作用机制,首先定植是益生菌发挥疗效的第一步,定植后通过与口腔致病菌竞争附着位点和营养物

质的方式进而限制其他病原菌的定植和生长^[13];其次是产生抗菌物质,比如细菌素^[14]、有机酸、短链脂肪酸等^[15],这些物质可以破坏致病菌的细胞壁,降低生物膜的pH值来发挥抑菌作用^[16];同时,还能增强单核-巨噬细胞的吞噬、刺激免疫球蛋白A(immunoglobulin A, sIgA)的分泌以及促进抗炎细胞因子的产生来调节宿主的免疫反应^[17]。此外,益生菌也可通过抑制口腔上皮细胞的凋亡以及增加E-钙黏蛋白(E-cadherin)和 β -连环蛋白(β -catenin)等连接蛋白的表达来维护口腔黏膜的屏障功能^[18-19]。综上所述,益生菌通过抑制牙周病原菌以及调节宿主免疫反应发挥治疗牙周炎的效果。虽然大量研究表明目前已商品化的益生菌如罗伊氏乳杆菌、鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*)和唾液链球菌K12等对牙周炎有一定的治疗效果。但由于益生菌的定植有个体差异以及抗菌能力相对于抗生素来说效果较差,现阶段还没有发现一株益生菌菌株能够完全代替抗生素用于牙周炎的辅助治疗。因此需要更多研究来筛选口腔益生特性更好的益生菌菌株,进一步优化其在牙周炎治疗中的应用。

本研究从健康婴儿粪便样品中分离一株植物乳杆菌并评估其对牙周炎治疗的体内外益生性能,为益生菌疗法应用于牙周炎治疗提供更多有益的数据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株与细胞株

牙龈卟啉单胞菌 ATCC 33277 和具核梭杆菌 ATCC 10953 购买自广东省微生物菌种保藏中心, RAW264.7 细胞系购买自美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)细胞库。

1.1.2 实验动物

雄性 SD 大鼠 24 只,无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级,7 周龄,体重 200~230 g,购自贵州医科大学实验动物中心,许可证号 SCXK(黔)2018-0001。将 SD 大鼠安置在温度为 18~24℃、相对湿度 40%~70%的环境中适应性饲养 1 周,每日光照 12 h,不限饮水,定时供给喂养饲料。动物实验遵循国家法规和《关于动物伦理与福利的作者指南共识》。动物实验已通过

贵州医科大学实验动物伦理委员会批准（批号：2402162）。

1.1.3 主要实验仪器及试剂

DeMan、Rogosa 和 Sharpe (DeMan, Rogosa and Sharpe broth medium, MRS) 肉汤培养基、脑心浸液肉汤培养基 (brain heart infusion broth, BHI)、琼脂、氯化血红素、碳酸钙、维生素K、无菌脱纤维绵羊血、革兰染色液、溶菌酶 (北京索莱宝生物科技有限公司, 中国), 复方氯己定溶液 (江苏晨牌邦德药业有限公司, 中国), 牙龈卟啉单胞菌-LPS (InvivoGen公司, 法国), 细胞总RNA提取试剂盒逆转录试剂盒FasKing gDNA Dissolving RT SuperMix (北京天根生化科技有限公司, 中国), 2×HQ SYBR qPCR Mix (No Rox) 试剂盒 (上海翌圣生物科技股份有限公司, 中国), β -actin、IL-6、TNF- α 、IL-1 β 引物 (上海生工生物工程股份有限公司, 中国), 即用型三溴乙醇 (阿佛丁, 2.5%) 溶液 (南京爱贝生物科技有限公司, 中国), 超净工作台 (苏州净化设备有限公司, 中国), 正置显微镜 (Nikon公司, 日本), 厌氧工作站 (Munro Instruments公司, 英国), 微生物培养箱 (上海跃进医疗器械有限公司, 中国), 多功能酶标仪、细胞CO₂培养箱 (赛默飞世尔科技公司, 美国), 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 仪 (Biorad公司, 美国), pH计 (Mettler Toledo公司, 美国)。

1.2 植物乳杆菌菌体及发酵上清液的制备

将分离冻存的植物乳杆菌在MRS固体培养基上进行两代划线培养后, 挑取生长良好的单菌落接种至5 mL MRS液体培养基中。于37 °C恒温条件下静置培养至光密度值 (optical density, OD) 稳定不再发生变化 [活菌数为 $1 \times 10^{10} \sim 1.5 \times 10^{10}$ 菌落形成单位 (colony forming unit, CFU) /mL] 为发酵培养液, 在4 °C、12 000 r/min的条件下离心10 min以分离菌体和上清。并将上清液通过0.22 μ m的无菌过滤膜进行过滤, 最终获得无细胞成分的发酵上清液。离心所得的菌体用磷酸盐缓冲盐水 (phosphate buffered saline, PBS) 洗涤3次, 最后将菌体重悬于PBS缓冲液中, 调整菌体浓度为 1×10^8 CFU/mL, 4 °C保存备用。

1.3 菌株的分离纯化及鉴定

将从贵阳市妇幼保健院儿童医院采集的20个1~7月龄的健康婴儿粪便样品用PBS溶解进行梯度稀释至 10^{-4} 倍后, 于无菌环境中分别取100 μ L稀

释后的粪便样品均匀涂布于含2%碳酸钙的MRS固体平板上, 倒置平板于37 °C培养48~72 h。根据菌落形态特征、透明圈的大小挑选具有乳酸菌形态的单菌落, 连续转接于MRS固体平板直至镜检为纯菌落。纯化后的菌株接种于MRS肉汤培养基中37 °C培养24 h, 用体积分数20%甘油保存至冻存管中-80 °C条件下保存备用。

活化菌株后收集菌体, 用细菌总DNA提取试剂盒提取DNA, 提取成功后用1%的琼脂糖凝胶电泳进行检测并测量浓度。提取样品中DNA后, 行菌株的16S rDNA序列的PCR扩增与克隆, PCR扩增体系: 2×Phanta Flash Master Mix (Dye Plus) 12.5 μ L, 上游引物1.0 μ L, 下游引物1.0 μ L, DNA模板1.0 μ L, ddH₂O补足至25 μ L。细菌16S rDNA基因V3~V4可变区: 上游引物38F: 5'-TGACGGGCGGTGTGTACAAG-3', 下游引物38R: 5'-TGACGGGCGGTGTGTACAAG-3'。PCR扩增条件: 98 °C预变性3 s, 35个循环 (98 °C变性10 s, 55 °C退火5 s, 72 °C延伸10 s, 72 °C稳定延伸1 min), 最后4 °C保存。将PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳, 并送至上海生工生物工程股份有限公司进行测序。将测序序列与美国国家生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 数据库中的已知序列进行比对, 然后以非同属的屎肠球菌 (*Enterococcus faecium*) 作为外群, 利用MEGA 11软件对其他11个不同种的乳杆菌属的菌株构建16s rDNA系统发育树。

1.4 植物乳杆菌-SLH的形态学观察、生长曲线及pH值的测定

将待测菌株接种至MRS肉汤培养基中, 37 °C培养12 h, 用1 μ L无菌接种棒取样接种于MRS固体培养基上划线培养, 37 °C培养24 h后, 观察菌落形态及边缘形状、隆起状态、颜色等, 挑取单菌落进行革兰染色后在显微镜下观察菌落形态及染色情况。将发酵菌株以1%接种量接种于MRS肉汤培养基, 37 °C摇床培养24 h, 每隔2 h取样, 测定pH值, 并使用紫外分光光度计测定OD₆₀₀值后分别绘制其生长曲线及产酸曲线。

1.5 植乳杆菌物-SLH菌体及其代谢产物的抑菌活性

参照文献^[20]采用牛津杯扩散法检测植物乳杆菌-SLH及其代谢产物对具核梭杆菌、牙龈卟啉单胞菌的抑菌活性。将其分为4个组, 未接菌的

MRS液体培养基为空白对照组,复方氯己定溶液为阳性对照组,植物乳杆菌-SLH菌体组以及植物乳杆菌-SLH上清液组。将保存在体积分数30%甘油中的具核梭杆菌、牙龈卟啉单胞菌在BHI固体培养基上划线培养两代,挑取单菌落接种至5 mL BHI液体培养基中,在37℃厌氧条件下培养48 h,调整指示菌悬液浓度为 10^7 CFU/mL。在平板中倒入10 mL体积分数为1.5%的素琼脂,待凝固后等间距放置4个经过高温灭菌的牛津杯,然后加入含有5%指示菌悬液的BHI固体培养基,待培养基凝固后,取出牛津杯,在孔中分别加150 μ L植物乳杆菌-SLH上清液、植物乳杆菌-SLH菌体、未接菌的MRS液体培养基和复方氯己定溶液(含氯己定1.2 mg/mL),37℃厌氧静置培养24 h后用游标卡尺测量抑菌圈的直径,结果精确至0.1 mm。

1.6 生物膜量测定

在24孔板中分别加入 10^7 CFU/mL的具核梭杆菌、牙龈卟啉单胞菌悬液各80 μ L,然后加入过滤后的植乳杆菌物-SLH上清液160 μ L,37℃厌氧培养48 h。阴性对照组以同体积的空白MRS液体培养基代替乳杆菌上清液,阳性对照组以同体积的复方氯己定溶液代替乳杆菌上清液。待培养结束后以PBS清洗生物膜2遍后用体积分数为99%的甲醇固定15 min,室温干燥10 min,室温静置晾干生物膜后向每孔中加入500 μ L的0.1%结晶紫溶液将生物膜染色30 min,染色结束以PBS清洗2遍后拍照。再加入100 μ L的95%乙醇溶解,置于摇床上振荡30 min,读取OD₆₀₀值。

1.7 细胞炎症因子测定

将活化好的RAW264.7细胞均匀铺于6孔板中,每孔加2 mL,浓度为 2×10^5 个/mL,培养2 h后,加入浓度为1 μ g/mL牙龈卟啉单胞菌-LPS诱导为炎症细胞模型。同时向每孔加60 μ L植物乳杆菌-SLH上清液继续培养12 h。空白对照组不添加牙龈卟啉单胞菌-LPS以及植物乳杆菌-SLH上清液,模型组只添加牙龈卟啉单胞菌-LPS不添加植物乳杆菌-SLH上清液。

培养结束后用细胞RNA提取试剂盒提取细胞总RNA后测定提取的RNA的浓度。使用FasKing gDNA Dispelling RT SuperMix 反转录试剂盒将RNA反转录成cDNA,然后使用2×HQ SYBR qPCR Mix (No Rox) 定量试剂盒进行扩增反应。

以 β -actin为内参,使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法检测IL-1 β 、

TNF- α 和IL-6的mRNA表达,引物序列见表1。

1.8 溶菌酶耐受能力

采用分光光度计测量植物乳杆菌-SLH对溶菌酶的耐受能力,将菌悬液接种至96孔板中,分别加入不同质量浓度的溶菌酶使得各孔终浓度为0~3 mg/mL。37℃培养24 h后测量OD₆₀₀值。

表 1 引物序列

Tab 1 Primer sequence

基因	引物序列 (5'—3')
β -actin	F: AGGTCGGTGTGAACGGATTTG
	R: TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA
IL-6	F: AGTCCGGAGAGGAGACTTC
	R: AGTCCGGAGAGGAGACTTC
IL-1 β	F: ACAAATACCTGTGGCCTTGGG
	R: TTGTTTCCAGGAAGACAGGCT
TNF- α	F: AGAAAGCATGATCCGCGACGT
	R: AGAAAGCATGATCCGCGACGT

1.9 构建大鼠实验性牙周炎模型与分组干预

按照随机数字表法将24只雄性SD大鼠随机分为正常对照组、牙周炎组、植物乳杆菌-SLH组,每组8只,适应性喂养1周。按照1.2 mL/100 g腹腔注射2.5%阿佛丁麻醉大鼠。用牙科探针分离右侧上颌第二磨牙近远中的牙龈,在近龈间隙进行4-0丝线结扎,将丝线尽可能多结扎入龈沟,并将丝线固定在右侧上颌第二磨牙牙颈部,每隔2 d检查结扎丝线是否脱落。建模1周后植物乳杆菌-SLH组用PBS配置2%羧甲基纤维素(carboxymethyl cellulose, CMC)溶液作为植物乳杆菌-SLH的重悬溶剂后施用于大鼠造模位点的牙周袋内(1×10^8 CFU/mL, 0.2 mL/d),每周给药6 d,在正常对照组和牙周炎组大鼠造模位点牙周袋内分别注射同等量2%CMC的PBS,连续7周给药。每周称量体重,检查大鼠牙龈的颜色、形态和纹理变化,以确定炎症状态。

造模结束后腹腔注射2.5%阿佛丁麻醉大鼠(1.2 mL/100 g),参考文献[21]的方法,用牙周探针测量大鼠右侧上颌第二磨牙颊侧近中、正中及远中牙周袋底或龈沟底至龈缘的距离,取其平均值以记录牙周探诊深度(probing depth, PD)。并用牙周探针检查其龈沟出血指数(sulcus bleeding index, SBI),根据Mazza法记录SBI,计分标准如下:牙龈健康为0;牙龈轻度水肿,探诊未出血为1;探诊后呈点状出血为2;探诊出血沿龈缘扩展为3;出血溢出龈沟为4;自动出血或有溃

疡为5。随后分离右侧上颌骨样本用于微型计算机断层扫描 (micro-computed tomography, Micro-CT) 分析, 并采集右侧上颌第二磨牙的牙周组织, 用于牙周组织病理学评估。

1.10 统计学分析

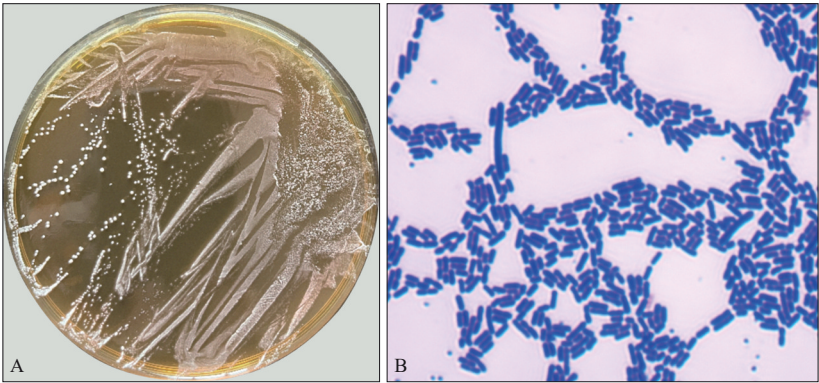
采用 GraphPad Prism 10 统计学软件对数据进行处理, 计量资料经正态性检验服从正态分布用均数±标准差表示, 经方差齐性检验方差齐者采用单因素方差分析, 两两比较采用 SNK (Student-

Newman-Keuls) 检验, 每个实验至少3个平行重复。

2 结果

2.1 植物乳杆菌-SLH的形态学观察

如图 1A 所示: 植物乳杆菌-SLH 菌落形态为乳白色, 圆形, 直径3~4 mm, 中间隆起, 表面光滑且致密, 边缘整齐。革兰染色后油镜观察呈蓝紫色, 为革兰阳性 (G⁺) 杆菌 (图 1B)。



A: 菌落形态; B: 革兰染色 ×1 000。

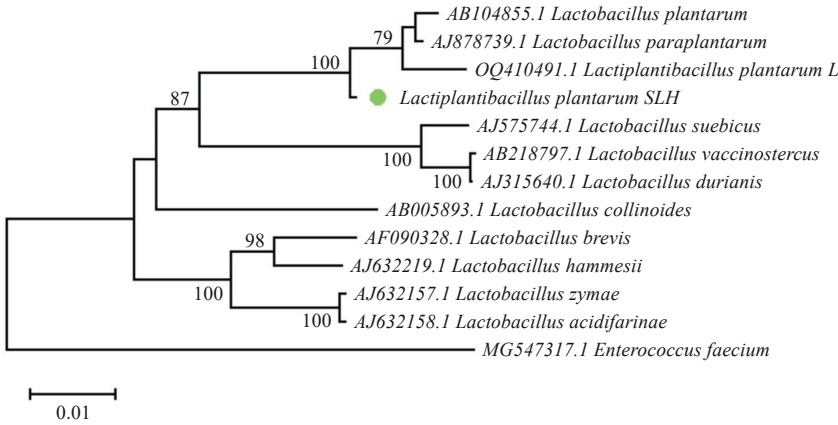
图 1 植物乳杆菌-SLH 的菌落形态及革兰染色

Fig 1 *Lactobacillus plantarum* SLH colony morphology and Gram stain

2.2 16S rDNA 鉴定结果

如图 2 所示: 分离菌株在进化树中形成独立分支, 提示相对于其他乳杆菌具有独特分类地位,

与植物乳杆菌 (OQ410491) 亲缘关系较为接近, 因此将该菌株命名为植物乳杆菌-SLH (*Lactobacillus plantarum* SLH)。



绿色圆点所标注为本实验分离的植物乳杆菌-SLH 菌株。

图 2 植物乳杆菌-SLH 16S rDNA 系统发育树

Fig 2 Phylogenetic tree of *Lactobacillus plantarum* SLH 16S rDNA

2.3 植物乳杆菌-SLH的生长曲线及产酸曲线

植物乳杆菌-SLH 的生长曲线如图 3A 所示, 菌株0~4 h处于生长迟缓期, 有缓慢生长趋势。4~12 h处于生长对数期, 生长曲线迅速上升。12 h后处于稳定期, OD值趋于稳定, 所以后期实验选择

培养 12 h 后的菌株进行实验。植物乳杆菌-SLH 的产酸曲线如图 3B 所示, 菌株在0~4 h的产酸量较少, pH值下降较少, 随着菌株的生长进入生长对数期, 开始分泌大量酸性物质, pH值急剧降低, 而菌株生长处于稳定期后, pH值也趋于稳定。

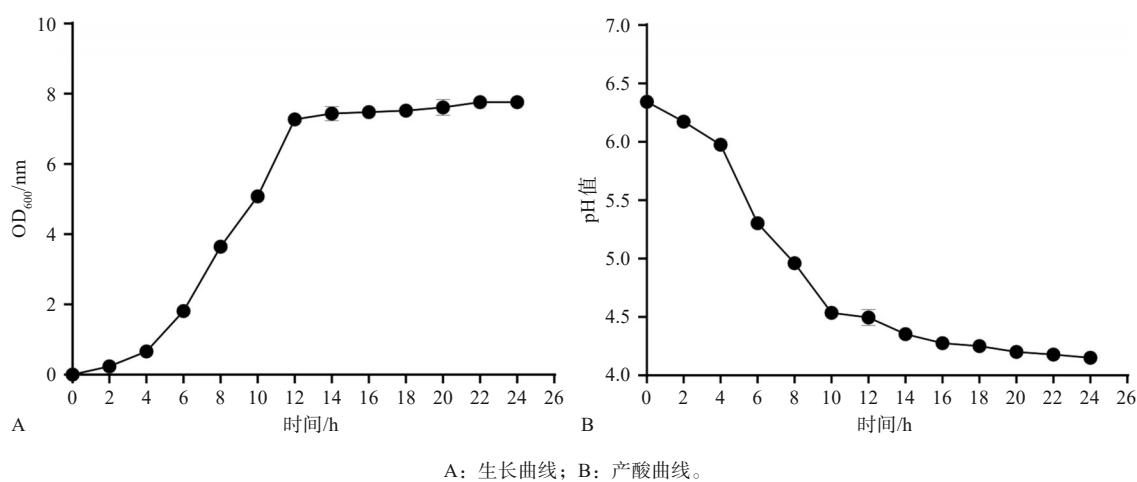
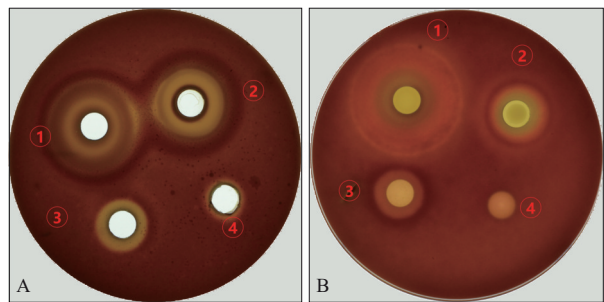


图 3 植物乳杆菌-SLH的生长曲线及产酸曲线

Fig 3 Growth curve and acid yield curve of *Lactobacillus plantarum* SLH

2.4 植物乳杆菌-SLH 及其代谢产物的抑菌活性测定

植物乳杆菌-SLH 的菌体对牙周致病菌具核梭杆菌没有抑制作用，而植物乳杆菌-SLH 上清液对具核梭杆菌有明显的抑制作用，抑菌效果较阳性对照组差，差异具有统计学意义 ($P<0.05$) (图 4A、表 2)。植物乳杆菌-SLH 菌体同样对牙周致病菌牙龈卟啉单胞菌没有抑制作用，而植物乳杆菌-SLH 上清液对牙龈卟啉单胞菌有明显的抑制作用，抑菌效果较阳性对照组差，差异具有统计学差异 ($P<0.01$) (图 4B、表 2)。这 2 个结果都说明起主要抑菌作用的是代谢产物，而菌体本身没有抑菌作用。



A: 对具核梭杆菌的抑菌活性; B: 对牙龈卟啉单胞菌的抑菌活性; ①氯己定, ②植物乳杆菌-SLH 上清液, ③MRS 培养基, ④植物乳杆菌-SLH 菌体。

图 4 植物乳杆菌-SLH 菌体及发酵上清液的抑菌效果

Fig 4 Antibacterial effect of *Lactobacillus plantarum* SLH bacterial cells and fermented supernatant

2.5 生物膜量测定

采用结晶紫染色法对生物膜形成量进行测定。测定结果如图 5 所示，与阴性对照组相比，

植物乳杆菌-SLH 上清液能够抑制生物膜的形成 ($P<0.0001$)，但是效果较阳性对照组的差 ($P<0.0001$)，说明植物乳杆菌-SLH 上清液代谢产物中的抑菌物质能够有效地抑制由具核梭杆菌和牙龈卟啉单胞菌组成的双菌生物膜的形成。

表 2 植物乳杆菌-SLH 菌体及上清液对具核梭杆菌及牙龈卟啉单胞菌的抑菌活性

Tab 2 Inhibitory activity of *Lactobacillus plantarum* SLH bacteriophage and its supernatant against *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis*

组别	抑制具核梭杆菌的 抑菌圈直径/mm	抑制牙龈卟啉单胞菌的 抑菌圈直径/mm
氯己定	32.43±2.53	35.75±1.23
植物乳杆菌-SLH 菌体	-	-
MRS 培养基	15.03±1.49	15.27±0.29
植物乳杆菌-SLH 上清液	26.20±1.98***	31.77±2.63****

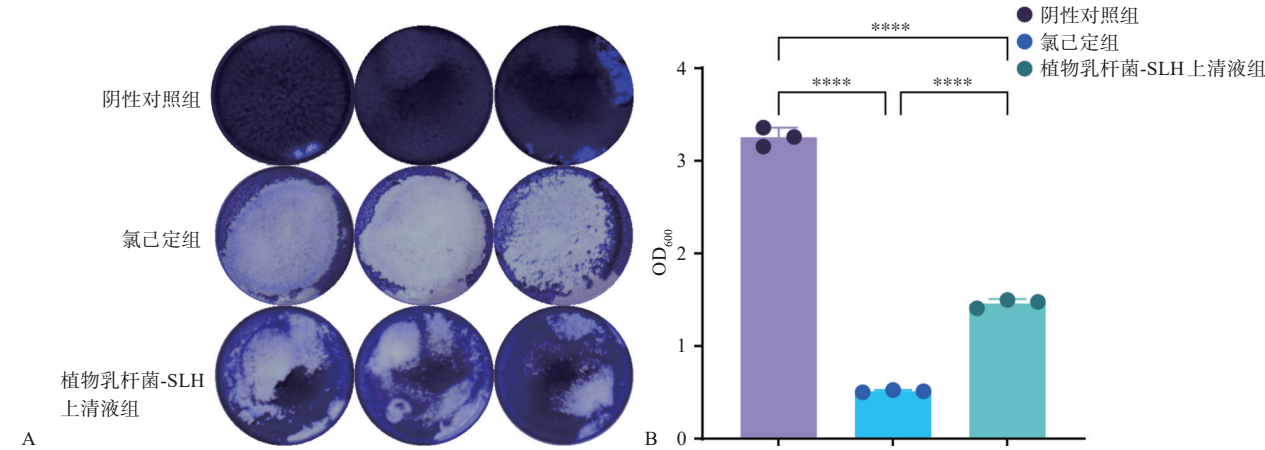
注：抑菌圈直径包含牛津杯外径（8 mm）；“-”表示为无抑菌圈；***表示与 MRS 培养基组间比较差异 $P<0.001$ ，****表示与 MRS 培养基组间比较差异 $P<0.0001$ 。

2.6 溶菌酶耐受能力评价

如图 6 所示，溶菌酶浓度为 0 mg/mL 时，菌体生长密度 OD_{600} 值为 1.811 ± 0.001 ；随着溶菌酶浓度的增加，菌体生长密度 OD_{600} 值逐渐降低。当溶菌酶浓度为 3.0 mg/mL 时，菌体生长密度 OD_{600} 为 1.130 ± 0.159 。以实验组的 OD 值与对照组 OD 值的比值乘以 100% 所得结果大于 60% 为标准，来判定该菌株对溶菌酶所能耐受的最高浓度范围。由此

可知，在溶菌酶浓度为0~2.0 mg/mL时，植物乳杆菌-SLH的生长状况基本未受显著影响；而当溶菌酶浓度升高至3 mg/mL时，尽管其吸光度值有所降低，但该菌株的最高耐受程度依然保持在

60%以上，这一耐受水平远高于人体口腔中溶菌酶的浓度（1~57 $\mu\text{g/mL}$ ）范围^[22]。由此推测，该菌株具有在人体口腔中存活定植的潜力。



A: 结晶紫染色观察各处理组生物膜形态; B: 各组生物膜形成的OD值测定。****: $P<0.0001$ 。

图 5 抑制牙周菌斑生物膜形成的测定

Fig 5 Analysis of dental plaque biofilm formation inhibition

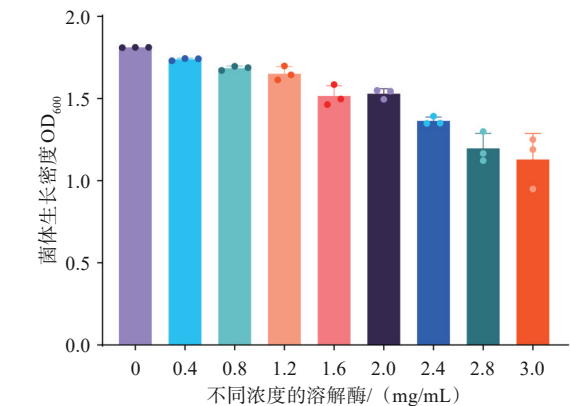
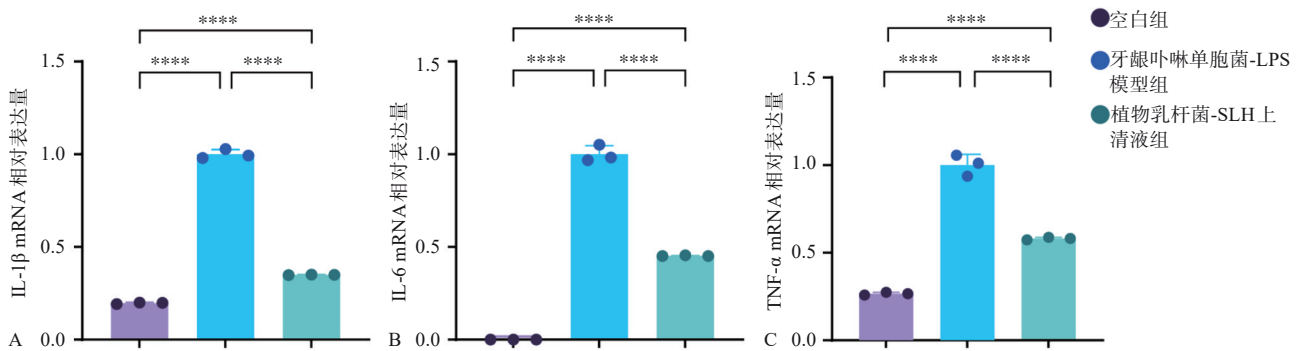


图 6 植物乳杆菌-SLH在不同溶菌酶浓度下的生长密度

Fig 6 Growth density of *Lactobacillus plantarum* SLH at different lysozyme concentrations

2.7 细胞炎症因子测定

通过逆转录定量聚合酶链式反应（reverse transcription quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR）检测炎症细胞模型中IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的表达量进行相对定量测定及分析，以此比较植物乳杆菌-SLH对细胞炎症因子表达的影响。如图7所示，与空白对照组相比，牙龈卟啉单胞菌-LPS干预后的模型组炎症因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的表达量显著上升（ $P<0.0001$ ）。与炎症模型组相比，经过植物乳杆菌-SLH上清液处理后的炎症因子表达量显著下调，且差异具有统计学意义（ $P<0.0001$ ），说明该株菌的代谢产物具有抗炎效果。



A: IL-1 β 基因相对表达量; B: IL-6基因相对表达量; C: TNF- α 基因相对表达量。****: $P<0.0001$ 。

图 7 植物乳杆菌-SLH对细胞炎症因子mRNA表达的影响

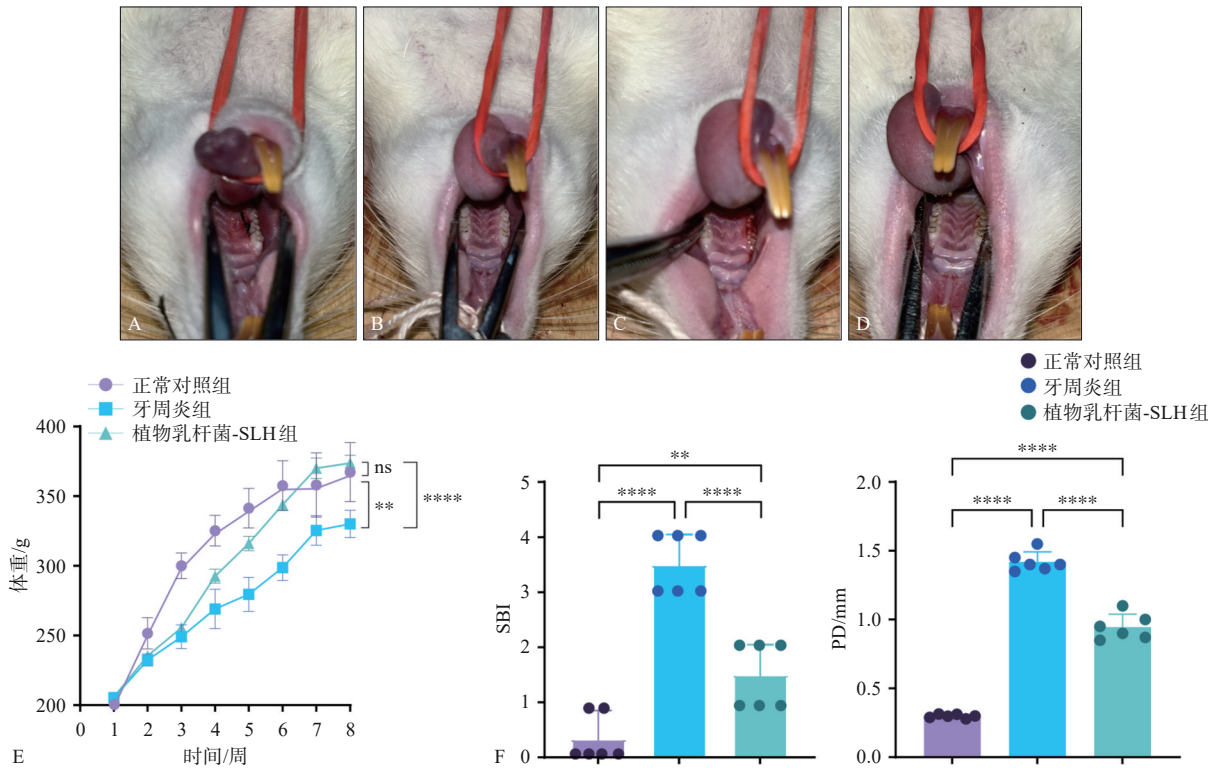
Fig 7 Effect of *Lactobacillus plantarum* SLH on the mRNA expression of inflammatory factors in cells

2.8 实验性牙周炎模型构建及组织病理学分析结果

利用4-0丝线结扎法构建大鼠实验性牙周炎模型(图8A)。在整个造模期间,正常对照组大鼠精神良好,毛发具有光泽,摄食饮水正常,体重在整个实验期间稳定增长。牙周炎组与植物乳杆菌-SLH组在1~3周内出现精神萎靡,活动减少,毛发逐渐失去光泽,相对于正常对照组体重增加较缓慢。在3周以后,牙周炎组与植物乳杆菌-SLH组大鼠的精神状态以及活动量逐渐恢复,体重逐渐回升。其中,植物乳杆菌-SLH组在第4周后体重恢复速率显著高于牙周炎组。造模结束时回复至正常对照组水平(体重无显著差异, $P>$

0.05)。提示植物乳杆菌-SLH的干预改善了因牙周炎引起的体重降低。

如图8B所示,正常对照组牙龈呈粉红色,边缘菲薄紧贴牙面,质地致密坚韧。如图8C所示,牙周炎组牙龈红肿,质地松软,边缘肥厚,轻探出血,而植物乳杆菌-SLH组牙龈红肿情况较牙周炎组减轻(图8D)。牙周临床检测结果显示:正常对照组无牙周袋以及探诊出血,牙周炎组以及植物乳杆菌-SLH组与正常对照组相比PD和SBI增加,差异有统计学意义($P<0.0001$)。植物乳杆菌-SLH组的PD以及SBI较牙周炎组都有减轻,差异有统计学意义($P<0.0001$)(图8F)。



A: 大鼠4-0丝线结扎造模; B: 正常对照组牙龈组织大体观察情况; C: 牙周炎组牙龈组织大体观察情况; D: 植物乳杆菌-SLH组牙龈组织大体观察情况; E: 大鼠体重变化; F: SBI、PD变化。 ** $P<0.01$; ****: $P<0.0001$ 。

图 8 大鼠牙周炎模型的建立和牙周临床指标检测

Fig 8 Establishment of the rat periodontitis model and measurement of periodontal clinical parameters

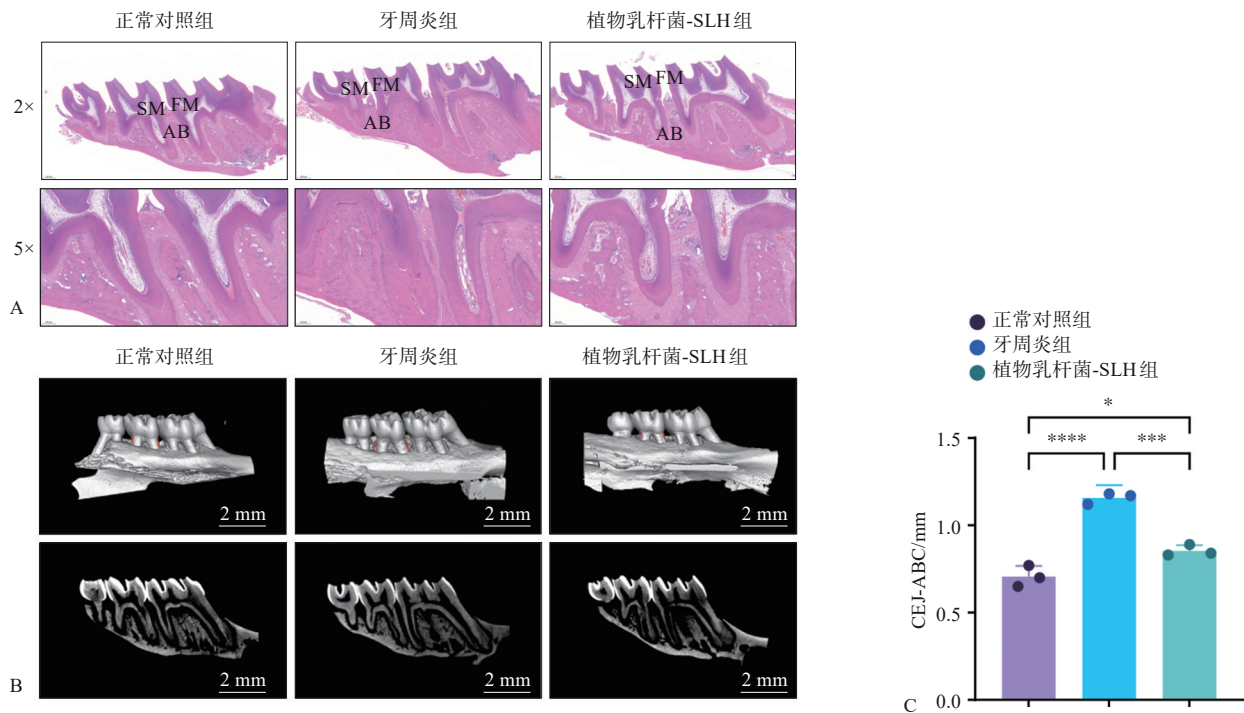
2.9 各组大鼠牙周组织学评估及牙槽骨 Micro-CT 分析

大鼠牙龈组织苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色结果显示,正常对照组牙龈上皮角化正常,棘层细胞排列紧密,结缔组织内网状纤维排列整齐,无明显炎症细胞浸润,牙槽骨未见破坏。牙周炎组牙龈上皮增厚,棘层增生,上皮钉突伸长,网状纤维结缔组织破坏排列紊乱,

血管增生,周围见炎症细胞浸润,牙槽骨明显吸收。与牙周炎组比较,植物乳杆菌-SLH组牙龈上皮的炎症较轻,炎性细胞浸润程度减少,网状纤维结构破坏较轻,牙槽骨破坏程度较轻(图9A)。如图9B、C所示,根据Micro-CT扫描结果,与正常对照组相比较牙周炎组釉牙骨质界-牙槽嵴顶(cemento-enamel junction to alveolar bone crest, CEJ-ABC)的距离明显增加,差异有统计学意义

($P<0.0001$), 骨吸收明显, 大鼠实验性牙周炎模型构建成功。植物乳杆菌-SLH组对比牙周炎组CEJ-ABC的距离明显减少, 差异有统计学意义

($P<0.001$), 说明植物乳杆菌-SLH的干预改善了牙周组织炎症与抑制骨吸收。



A: 大鼠牙周组织HE染色结果 (AB为牙槽骨; FM为第一磨牙; SM为第二磨牙); B: 大鼠颌骨三维重建图及冠状面展示, 依次为3组大鼠上颌第二磨牙牙槽骨丧失高度标记及冠状面骨量丧失情况, 红色线段所示为CEJ-ABC的距离, 标尺为2 mm; C: 牙槽骨丧失的定量分析。*: $P<0.05$; ***: $P<0.001$; ****: $P<0.0001$ 。

图 9 牙周组织HE染色结果和Micro-CT扫描结果分析

Fig 9 Analysis of periodontal tissues by HE staining and Micro-CT scanning

3 讨论

近年来, 人们对益生菌作为牙周炎的替代辅助治疗及预防的研究兴趣日益增长。益生菌在防治牙周炎的过程中发挥的作用主要包括竞争性抑制牙周致病菌的生长黏附, 从而抑制牙菌斑生物膜的形成, 调节口腔局部炎症免疫反应等, 但是不同来源的益生菌菌株以及不同种属的益生菌有着不同的益生特性, 因此益生菌菌株的来源值得被关注。目前商业化益生菌多来源于发酵食品、成人或动物胃肠道, 但新生儿肠道作为人类原始微生物的储存库, 其菌株具有独特的进化适应性: 婴儿期乳杆菌不仅展现出更强的黏膜定植能力, 其基因组中编码的应激反应基因簇更可能适应人体消化道环境^[23-24]。这提示婴儿来源的益生菌菌株在用于治疗其他疾病时有更高的安全性以及黏膜定植能力^[25]。因此, 本研究从健康婴儿粪便样品

中纯化分离得到一株乳杆菌属的植物乳杆菌, 命名为植物乳杆菌-SLH。本研究探索了该菌株对实验性牙周炎的治疗和缓解作用。

益生菌的抗菌活性由多种物质协同产生, 如乙酸、乳酸、过氧化氢、胞外多糖、酶、醇类物质, 但起主要作用的多为有机酸和细菌素^[26]。在生长代谢过程中, 会产生大量的有机酸类物质, 研究^[27]发现: 有机酸的抗菌作用在很大程度上归因于其以未解离的形式穿透细胞膜后发挥抗菌作用, 导致细胞间pH值的下降和代谢活动的中断, 并且pH值越低, 其抑菌能力越强。本研究通过pH值的测定, 发现随着植物乳杆菌-SLH的生长, 产生的酸性物质增加, pH值降低, 可能其抑菌效果与所产生的酸性物质有关, 但还需进一步探究发挥抑菌效果的具体是哪一种酸性物质。

益生菌在口腔中发挥其有益作用的确切机制尚未完全阐明, 但一些研究已经证明益生菌的摄入与降低牙周病原体水平之间存在相关性。杨颖

等^[28]的研究发现:植物乳杆菌-HO-69对有害细菌具有广谱抑制活性。牙周炎是由多种微生物引起的混合感染,其中具核梭杆菌和牙龈卟啉单胞菌是重要的牙周致病菌。在本研究中发现:植物乳杆菌-SLH的菌体对具核梭杆菌和牙龈卟啉单胞菌无抑菌活性,而植物乳杆菌-SLH的发酵上清液对具核梭杆菌和牙龈卟啉单胞菌都有较好的抑菌活性。本实验又采用结晶紫染色法发现:植物乳杆菌-SLH发酵上清液对具核梭杆菌和牙龈卟啉单胞菌组成的双菌生物膜也具有较好的抑制作用,说明植物乳杆菌-SLH中产生主要抑菌作用的成分在代谢产物中,而菌体的抑菌活性可能与其定植能力有关,需要在体内定植后才能体现出来,其可以与致病菌竞争营养物质,从而抑制致病菌的生长与黏附。阴性对照组的MRS培养基产生抑菌能力的可能原因是该培养基组成成分中含有能够抑制细菌生长的成分乙酸钠和柠檬酸盐。乙酸钠和柠檬酸盐可分解产生乙酸和柠檬酸,两者都是有机酸,而研究^[29-30]表明有机酸具有抑菌能力。菌体在口腔内定植是发挥疗效的第一步,由于口腔环境的复杂性,口腔中含有溶菌酶等物质,在保护口腔系统免受致病菌侵害的同时也会杀死有益菌^[22]。因此,作为口腔益生菌对溶菌酶的耐受性是衡量其能否在口腔内存活定植的重要因素。在本研究中,测定了植物乳杆菌-SLH对溶菌酶的耐受能力,发现其可以在浓度较高(3 mg/mL)的溶菌酶环境中保持活性,而人口腔中的溶菌酶浓度为1~57 $\mu\text{g/mL}$,说明这株菌具备在人口腔环境中生存定植的能力。

牙菌斑生物膜和宿主的免疫反应之间维持着一种动态平衡,这种平衡一旦被牙周致病菌侵袭打破,就会触发牙周组织的免疫反应。当牙周致病菌与口腔上皮细胞接触时,以具核梭杆菌和牙龈卟啉单胞菌产生的LPS等毒力因子刺激口腔上皮细胞产生TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等促炎细胞因子,从而加速牙周组织的破坏以及牙槽骨的吸收^[5]。本研究利用LPS刺激RAW264.7细胞所形成的细胞炎症模型来评估植物乳杆菌-SLH的抗炎能力,与Wang等^[31]的研究结果一致,植物乳杆菌-SLH的发酵上清液处理牙龈卟啉单胞菌-LPS诱导的炎症细胞后能够下调促炎细胞因子TNF- α 、IL-1 β 、IL-6的mRNA表达。说明植物乳杆菌-SLH可能通过调节相关免疫反应,减少炎症反应对牙周组织的破坏。

为了评估植物乳杆菌-SLH在体内对牙周炎的疗效,本研究通过丝线结扎上颌第二磨牙的方式构建了大鼠实验性牙周炎模型,该模型能够评估炎症反应以及由此导致的结缔组织附着丧失和牙槽骨吸收。图8、9显示:该方法成功构建了实验性牙周炎模型。之前的研究^[32]表明:牙周炎可导致体重减轻,因此,体重可以作为一个指标去评估植物乳杆菌-SLH是否改善了牙周炎。本次实验数据表明:经过植物乳杆菌-SLH组与牙周炎组相比较,植物乳杆菌-SLH可减轻牙周炎引起的体重下降,表明植物乳杆菌-SLH治疗可以减轻牙周炎的症状,从而增加大鼠的食物摄入。与Pudgar等^[33]的研究一致,在经过植物乳杆菌-SLH治疗后,牙龈红肿、牙龈出血、PD都减少。HE染色检测结果显示:与模型组相比较,植物乳杆菌-SLH治疗后牙周结缔组织纤维破坏减少,牙槽骨吸收减少;这与体外实验结果一致,说明植物乳杆菌-SLH有减轻牙周组织炎症反应的能力。

牙槽骨的吸收是由微生物入侵引发的一系列炎症反应介导的,是牙周病的标志。Micro-CT是一种非破坏性技术,可在微米级别对牙槽骨进行三维成像,并允许在扫描后通过计算机辅助重新定向图像。结合Micro-CT和组织病理学分析的结果,植物乳杆菌-SLH干预后显著减少了牙槽骨吸收(图9B、C),表明植物乳杆菌-SLH可能是通过抑制牙龈卟啉单胞菌和具核梭菌的定植以及调节炎症来缓解牙槽骨吸收。Lam等^[34]指出,牙龈卟啉单胞菌感染的水平与牙槽骨吸收的水平相关,这证实了此研究结果,但是具体抑制骨吸收的机制还需进一步的研究。

本研究结果显示:植物乳杆菌-SLH在抑制牙周病致病菌和调节免疫反应方面均显示出一定的效果。其作用机制可能涉及与口腔中的致病菌竞争结合位点,从而减少牙龈卟啉单胞菌和具核梭菌的毒力因子表达,并产生有机酸及细菌素等具有抗菌活性的物质。这些表明,植物乳杆菌-SLH在治疗牙周炎方面具有潜在的治疗价值。尽管如此,植物乳杆菌-SLH发挥其抗菌活性的确切机制尚未得到充分验证,还需要在未来的研究中进一步探讨和证实。通过深入研究,可以更好地理解植物乳杆菌-SLH的作用机制,并为牙周炎的治疗提供新的策略和方法。

综上所述,本研究选用从临床健康婴儿粪便样本中分离得到的一株植物乳杆菌-SLH菌株作为

研究对象,通过体内外实验评估该菌株的基本生物学特性以及对牙菌斑生物膜和实验性牙周炎的影响,为进一步开发和利用益生菌治疗牙周炎提供参考,并为临床工作中牙周炎的辅助治疗提供新的思路。

利益冲突声明:作者声明本文无利益冲突。

4 参考文献

- [1] Zhang SP, Yu N, Arce RM. Periodontal inflammation: integrating genes and dysbiosis[J]. *Periodontol* 2000, 2020, 82(1): 129-142.
- [2] Jiao J, Jing WD, Si Y, et al. The prevalence and severity of periodontal disease in mainland China: data from the Fourth National Oral Health Survey (2015—2016)[J]. *J Clin Periodontol*, 2021, 48(2): 168-179.
- [3] Ebersole JL, Dawson III D, Emecen-Huja P, et al. The periodontal war: microbes and immunity[J]. *Periodontol* 2000, 2017, 75(1): 52-115.
- [4] Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2018, 16(12): 745-759.
- [5] Abdulkareem AA, Al-Taweel FB, Al-Sharqi AJB, et al. Current concepts in the pathogenesis of periodontitis: from symbiosis to dysbiosis[J]. *J Oral Microbiol*, 2023, 15(1): 2197779.
- [6] Tonetti MS, Van Dyke TE, GroupWorking 1 of the Joint EFP/AAP Workshop. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases[J]. *J Clin Periodontol*, 2013, 40 (s14): S24-S29.
- [7] Baeza M, Morales A, Cisterna C, et al. Effect of periodontal treatment in patients with periodontitis and diabetes: systematic review and meta-analysis [J]. *J Appl Oral Sci*, 2020, 28: e20190248.
- [8] Hajishengallis G, Chavakis T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities[J]. *Nat Rev Immunol*, 2021, 21(7): 426-440.
- [9] Bui FQ, Almeida-da-Silva CLC, Huynh B, et al. Association between periodontal pathogens and systemic disease[J]. *Biomed J*, 2019, 42(1): 27-35.
- [10] Slots J. Concise evaluation and therapeutic guidelines for severe periodontitis: a public health perspective[J]. *Periodontol* 2000, 2022, 90(1): 262-265.
- [11] Wei Y, Deng YX, Ma ST, et al. Local drug delivery systems as therapeutic strategies against periodontitis: a systematic review[J]. *J Control Release*, 2021, 333: 269-282.
- [12] Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, et al. Expert consensus document: the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14 (8): 491-502.
- [13] Król-Górniak A, Pomastowski P, Railean-Plugaru V, et al. The study of the molecular mechanism of *Lactobacillus paracasei* clumping via divalent metal ions by electrophoretic separation[J]. *J Chromatogr A*, 2021, 1652: 462127.
- [14] Khalaf H, Nakka SS, Sandén C, et al. Antibacterial effects of *Lactobacillus* and bacteriocin PLNC8 $\alpha\beta$ on the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*[J]. *BMC Microbiol*, 2016, 16(1): 188.
- [15] Sulijaya B, Yamada-Hara M, Yokoji-Takeuchi M, et al. Antimicrobial function of the polyunsaturated fatty acid KetoC in an experimental model of periodontitis[J]. *J Periodontol*, 2019, 90(12): 1470-1480.
- [16] 张晓旭, 刘欢, 肖苗, 等. 益生菌代谢产物对病原菌的抑菌作用研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(8): 297-302.
Zhang XX, Liu H, Xiao M, et al. Research progress in the antibacterial effect of probiotic metabolites on pathogens[J]. *Food Ferment Ind*, 2023, 49(8): 297-302.
- [17] Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Gil-Campos M, et al. Mechanisms of action of probiotics[J]. *Adv Nutr*, 2019, 10: S49-S66.
- [18] Abe-Yutori M, Chikazawa T, Shibasaki K, et al. Decreased expression of E-cadherin by *Porphyromonas gingivalis*-lipopolysaccharide attenuates epithelial barrier function[J]. *J Periodontal Res*, 2017, 52(1): 42-50.
- [19] Yamada M, Takahashi N, Matsuda Y, et al. A bacterial metabolite ameliorates periodontal pathogen-induced gingival epithelial barrier disruption via GPR-

- 40 signaling[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 9008.
- [20] 翟佳琳, 赵景娜, 王丹丹, 等. 具有抑菌活性植物乳杆菌的筛选及抑菌物质特性的研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(13): 84-90.
- Zhai JL, Zhao JN, Wang DD, et al. Screening of *Lactiplantibacillus plantarum* with bacteriostatic activity and study on properties of bacteriostatic substances[J]. Food Ferment Ind, 2022, 48(13): 84-90.
- [21] 夏博园, 李艳, 丁旭, 等. 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子-1 α 在牙周炎诱发大鼠肝损伤中的作用研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2021, 39(5): 518-523.
- Xia BY, Li Y, Ding X, et al. Effect of peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α on liver injury induced by periodontitis in rats[J]. West China J Stomatol, 2021, 39(5): 518-523.
- [22] 余意, 王超越, 吴正钧, 等. 四株乳杆菌作为口腔益生菌的特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(15): 77-83.
- Yu Y, Wang CY, Wu ZJ, et al. Potentials of *Lactobacillus* strains as oral probiotics candidates[J]. Food Ferment Ind, 2021, 47(15): 77-83.
- [23] Shao Y, Garcia-Mauriño C, Clare S, et al. Primary succession of *Bifidobacteria* drives pathogen resistance in neonatal microbiota assembly[J]. Nat Microbiol, 2024, 9(10): 2570-2582.
- [24] Chen ZH, Leng XY, Zhou F, et al. Screening and identification of probiotic *Lactobacilli* from the infant gut microbiota to alleviate lead toxicity[J]. Probiotics Antimicrob Proteins, 2023, 15(4): 821-831.
- [25] Yu AO, Goldman EA, Brooks JT, et al. Strain diversity of plant-associated *Lactiplantibacillus plantarum*[J]. Microb Biotechnol, 2021, 14(5): 1990-2008.
- [26] Van Holm W, Lauwens K, De Wever P, et al. Probiotics for oral health: do they deliver what they promise[J]. Front Microbiol, 2023, 14: 1219692.
- [27] Guimarães A, Venancio A, Abrunhosa L. Antifungal effect of organic acids from lactic acid bacteria on *Penicillium nordicum*[J]. Food Addit Contam Part A, 2018, 35(9): 1803-1818.
- [28] 杨颖, 陈卫, 张灏, 等. 植物乳杆菌 HO-69 的口腔益生性质研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2008, 26(5): 482-485, 489.
- Yang Y, Chen W, Zhang H, et al. Probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* HO-69 applied in oral cavity[J]. West China J Stomatol, 2008, 26(5): 482-485, 489.
- [29] Yoon JH, Oh MS, Lee SY. Effectiveness of organic acids for inactivating pathogenic bacteria inoculated in laboratory media and foods: an updated minireview[J]. Food Sci Biotechnol, 2024, 33(12): 2715-2728.
- [30] 张军, 田子罡, 王建华, 等. 有机酸抑菌分子机理研究进展[J]. 畜牧兽医学报, 2011, 42(3): 323-328.
- Zhang J, Tian ZG, Wang JH, et al. Advances in antimicrobial molecular mechanism of organic acids[J]. Acta Vet Zootechnica Sin, 2011, 42(3): 323-328.
- [31] Wang SY, Nie ZY, Zhu L, et al. Probiotic characteristics and the anti-inflammatory effects of *Lactiplantibacillus plantarum* Z22 isolated from naturally fermented vegetables[J]. Microorganisms, 2024, 12(11): 2159.
- [32] de Almeida Brandão D, Spolidorio LC, Johnson F, et al. Dose-response assessment of chemically modified curcumin in experimental periodontitis[J]. J Periodontol, 2019, 90(5): 535-545.
- [33] Pudgar P, Povšič K, Čuk K, et al. Probiotic strains of *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus plantarum* as adjunct to non-surgical periodontal therapy: 3-month results of a randomized controlled clinical trial[J]. Clin Oral Investig, 2021, 25(3): 1411-1422.
- [34] Lam RS, O'Brien-Simpson NM, Lenzo JC, et al. Macrophage depletion abates *Porphyromonas gingivalis*-induced alveolar bone resorption in mice[J]. J Immunol, 2014, 193(5): 2349-2362.
- (本文编辑 王姝)