DOI:10.12441/spyswjs.20251105002 [文章编号] 1673-1689(2026)08-0067-10

植物乳植杆菌CCFM1137对大鼠牙周炎的缓解作用及机制研究

俞昌浩[1,2] 徐晚晴[2] 唐 鑫[2] 毛丙永[2] 姚青蔚[1] 张秋香[2*] 崔树茂[1,2]

(1. 无锡特殊食品与营养健康研究院有限公司,江苏 无锡 214029; 2. 江南大学食品学院,江苏 无锡 214122)

摘要:【目的】评估植物乳植杆菌CCFM1137对牙周炎的缓解作用及机制。**【方法】**建立大鼠牙周炎模型,通过体内试验评估植物乳植杆菌CCFM1137对牙周表型、炎症细胞因子和骨吸收的影响;采用体外试验分析其发酵上清液对牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌的生物膜形成及毒力基因表达的抑制作用。**【结果】**经植物乳植杆菌CCFM1137干预后的牙周炎大鼠第5周体质量较模型组增加66.05 g,其牙龈指数和探诊深度均显著降低。大鼠牙龈组织中炎症细胞因子如肿瘤坏死因子-α(tumour necrosis factor-α,TNF-α)、白细胞介素-1β(interleukin-1β,IL-1β)和白细胞介素-8(interleukin-8,IL-8)的水平分别下降23.85%、31.96%和7.90%。Micro-CT分析结果显示,大鼠骨吸收量降低38.80%,骨体积分数增加84.08%,骨孔隙率下降51.14%。口腔菌群分析结果显示,该菌株可显著抑制牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌的口腔定植,降低其在菌群中的相对丰度。体外抑菌试验表明,该菌株的发酵上清液使2种致病菌的双菌生物膜形成量减少54.80%,水不溶性胞外多糖产量减少71.88%,生物膜中活菌数明显下降,毒力基因*foma*、*fada*、*rgpacd*和*fima*的表达均显著下调。**【结论】**植物乳植杆菌CCFM1137可通过抑制口腔致病菌定植、调节微生态结构、减轻局部炎症反应和抑制牙槽骨吸收等多种途径缓解牙周炎,为口腔益生菌的开发和应用提供了理论依据。

关键词:植物乳植杆菌CCFM1137;牙周炎;牙槽骨吸收;牙龈卟啉单胞菌;具核梭杆菌

Alleviation Effect and Mechanism of Periodontitis in Rats by *Lactiplantibacillus plantarum* CCFM1137

YU Changhao[1,2] *XU Wanqing*[2] *TANG Xin*[2] *MAO Bingyong*[2] *YAO Qingwei*[1]
ZHANG Qiuxiang[2*] *CUI Shumao*[1,2]

(1. Wuxi Institute for Specialized Nutrition and Health Co., Ltd., Wuxi 214029, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: [**Objective**] This study aimed to evaluate the alleviating effect and mechanism of *Lactiplantibacillus plantarum* (*L. plantarum*) CCFM1137 on periodontitis. [**Method**] The rat model of periodontitis was established. The effects of *L. plantarum* CCFM1137 on periodontal phenotype, inflammatory factors, and bone resorption were evaluated *in vivo*. The inhibitory effects of fermentation supernatant on biofilm formation and virulence gene expression of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* were analyzed *in vitro*. [**Result**] Compared with the rat model of periodontitis, *L. plantarum* CCFM1137 intervention increased the body mass by 66.05 g at week 5 and significantly reduced the gingival index and probing depth. The levels of inflammatory factors tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), and interleukin-8 (IL-8) in the gingival tissue of rats decreased

基金项目:无锡市太湖人才计划创业领军人才项目。

通信作者:张秋香(1979—),女,博士,教授,博士研究生导师,主要从事益生菌理论与技术、特殊生境益生菌功能发掘、口腔微生态与健康研究。E-mail:zhangqx@jiangnan.edu.cn

收稿日期:2025-11-05 **修回日期:**2025-12-26

by 23.85%, 31.96%, and 7.90%, respectively. Micro-CT analysis showed that the intervention decreased the bone resorption by 38.80%, increased the bone volume fraction by 84.08%, and decreased the bone porosity by 51.14%. Oral microbiota analysis showed that this strain significantly inhibited the oral colonization of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* and reduced their relative abundance in the microbiota. The *in vitro* antibacterial experiments showed that the fermentation supernatant of the strain reduced the biofilm formation of two pathogenic bacterial species by 54.80% and the production of water-insoluble extracellular polysaccharides by 71.88%, significantly decreased the number of viable bacteria in the biofilm, and significantly down-regulated the expression of virulence genes *foma*, *fada*, *rgpacd*, and *fima*. [**Conclusion**] *L. plantarum* CCFM1137 could alleviate periodontitis through multiple pathways such as inhibiting the colonization of oral pathogenic bacteria, modulating the microecological structure, reducing local inflammatory responses, and inhibiting alveolar bone resorption. The findings provide a theoretical basis for the development and application of oral probiotics.

Keywords: *Lactiplantibacillus plantarum* CCFM1137; periodontitis; alveolar bone resorption; *Porphyromonas gingivalis*; *Fusobacterium nucleatum*

牙周炎是由口腔菌群失调与宿主免疫反应共同诱发的，主要临床特征包括牙龈出血、肿痛、牙周附着丧失、牙槽骨吸收等，最终导致牙齿松动和口腔咀嚼功能下降[1]。目前牙周炎已被世界卫生组织认定为全球第六大流行性疾病[2]。流行病学调查显示，全球有超过10亿人受牙周炎的困扰，约占世界总人口的13%[3]。预测显示，到2050年，全球严重牙周炎患者人数将超过15亿[4]。除口腔健康问题外，糖尿病、心血管疾病、类风湿性关节炎及阿尔茨海默病等疾病的发生也与牙周炎相关[5]。

在发病机制上，口腔菌群从共生状态向致病状态的转变是牙周炎发生的始动环节。以牙龈卟啉单胞菌（*Porphyromonas gingivalis*）和具核梭杆菌（*Fusobacterium nucleatum*）为代表的牙周致病菌过度增殖，并通过形成生物膜在牙周组织中定植[6]。然而，破坏牙周组织的核心驱动力并非细菌本身，而是由致病菌毒力因子引发的宿主过度免疫炎症反应。在感染过程中，炎症诱导的免疫细胞中核因子κB（nuclear factor kappa-B，NF-κB）和核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3（nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3，NLRP3）炎症小体等信号被毒力因子激活，这导致牙龈组织中TNF-α、IL-1β和IL-8等炎症细胞因子水平激增，从而诱导强烈的炎症损伤反应[7-8]。此外，持续的炎症微环境会促进破骨细胞分化，进而加速牙槽骨吸收并加重牙周附着丧失，最终导致牙齿脱落[9]。因此，调节口腔微生态、抑制过度的宿主免疫反应，可能是控制牙周炎的有效策略。

益生菌作为一种微生态调节剂，在牙周炎的防治中展现出广阔的应用前景。近年来的研究已鉴定出多种具有缓解牙周炎潜能的益生菌菌株，这些菌株通过多种机制发挥作用。例如，嗜黏蛋白阿克曼菌（*Akkermansia muciniphila*）DSM 22959能够通过抑制具核梭杆菌的生长及其生物膜形成，改善其诱导的大鼠牙周炎[10]。另有研究表明，戊糖乳杆菌（*Lactobacillus pentosus*）NK357和动物双歧杆菌乳亚种（*Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis*）能够通过抑制NF-κB和核因子κB受体活化因子配体（receptor activator of nuclear factor-κB ligand，RANKL）信号通路，有效缓解牙周炎并抑制牙槽骨吸收[11]。

作者所在实验室前期研究发现，植物乳植杆菌（*Lactiplantibacillus plantarum*）CCFM1137在体外抑制口腔致病菌混菌生物膜（牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌等）形成方面具有优异的生物学特性[12]，推测其对牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌诱导的牙周炎可能具有缓解作用。因此，以该菌株为研究对象，通过构建牙周炎大鼠模型，系统评估该菌株在缓解牙周炎、抑制骨吸收及调节口腔菌群结构方面的功效。同时，结合体外抑菌试验，进一步验证该菌株对牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌的直接抑制能力。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

1.1.1　菌株

植物乳植杆菌CCFM1137、牙龈卟啉单胞菌ATCC33277和具核梭杆菌ATCC25586：江南大学食品微生物菌种保藏中心。

1.1.2　材料与试剂

Wistar大鼠：北京维通利华实验动物技术有限公司；TNF-α、IL-1β、IL-8 ELISA试剂盒：南京森贝伽生物科技有限公司；PrimeScript™反转录试剂盒、Quant-It PicoGreen dsDNA定量分析试剂盒：美国赛默飞世尔科技公司；引物：生工生物工程（上海）股份有限公司；SYBR Green预混液：伯乐生命医学产品（上海）有限公司；FastDNA SPIN Kit基因组提取试剂盒：安倍医疗器械贸易（上海）有限公司；QIAquick Gel Extraction Kit胶回收试剂盒：德国QIAGEN有限公司；高糖饲料Keyes 2000：南通特洛菲饲料科技有限公司。

1.1.3　仪器与设备

Micro-CT仪：Quantum GX型，美国PerkinElmer公司；多功能酶标仪：Multiscan Go型，美国赛默飞世尔科技公司；实时荧光定量PCR仪：CFX96型，美国Bio-Rad公司；Miseq测序仪：i100型，美国Illumina公司。

1.2　植物乳植杆菌CCFM1137的培养及其发酵上清液的制备

将冻存于−80 ℃的植物乳植物杆菌CCFM1137划线于MRS固体培养基上，于37 ℃恒温培养单菌落，将单菌落接种于MRS液体培养基中活化3代。活化后的菌株再次接种于MRS液体培养基，37 ℃恒温培养24 h，于4 ℃、3 000 *g*离心10 min，分别收集菌体沉淀及发酵上清液，用PBS洗涤菌体沉淀，用0.22 μm无菌滤膜处理发酵上清液，保存备用。

1.3　牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌的培养

从BHI固体培养基中挑取牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌的单菌落，分别接种于BHI液体培养基中，于37 ℃厌氧活化3代。活化菌液经3 000 *g*离心10 min，收集菌体沉淀。使用PBS（pH 7.0）洗涤菌体沉淀3次，备用。

1.4　牙周炎大鼠模型的构建

动物试验由无锡血吸虫病防治研究所动物伦理委员会批准，批准编号为IACUC-JIPD-2020035。18只5周龄的雄性Wistar大鼠被随机分为对照组、模型组及CCFM1137组，每组6只。所有大鼠都饲养于SPF屏障环境中，在温度（23±1）℃、湿度（50±10）%以及光/暗周期12 h/12 h条件下饲养。适应一周后，开始为期5周的正式试验。正式试验期间，对照组大鼠饲喂普通饲料、饮用无菌水，而模型组和CCFM1137组大鼠饲喂高糖饲料、饮用含100 g/L蔗糖的无菌水。

参照文献[13]的方法构建大鼠牙周炎模型并进行适当调整，具体流程见图1。试验起始（第1周），对模型组及CCFM1137组大鼠肌肉注射200 mg/kg盐酸氯胺酮进行麻醉，随后在左上颌第二磨牙处进行丝线结扎，结扎后大鼠恢复1周，期间连续3 d饮用含125 mg/kg氨苄青霉素的蒸馏水，以降低口腔原有菌群干扰。第2周起，混合牙龈卟啉单胞菌与具核梭杆菌菌液（均为1 mL，浓度1×10^9 CFU/mL），并沿丝线缓慢冲洗结扎部位，以建立致病菌感染模型。每次感染后禁食禁水0.5 h，以促进细菌定植。该感染程序每2 d重复一次，第2周内共计感染3次。第3周起，用1 mL的1×10^9 CFU/mL的植物乳植杆菌CCFM1137菌悬液缓慢冲洗CCFM1137组大鼠的相同牙位，每周干预6次，持续3周（第3周~第5周），每次益生菌干预后同样禁食禁水0.5 h，以促进其在口腔环境的定植。

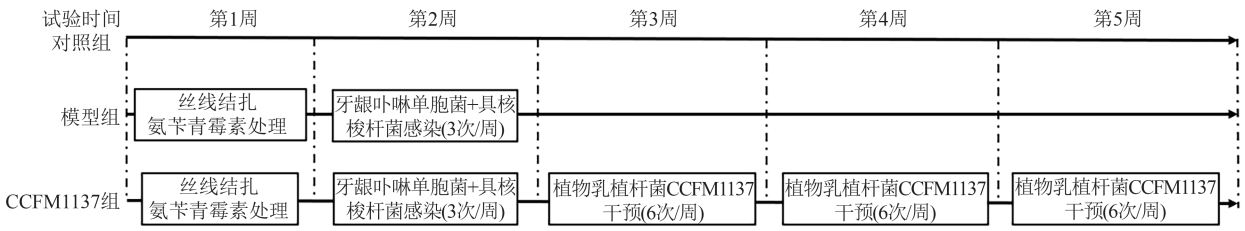


图1　大鼠试验流程

Fig. 1　Procedure of the rat experiment

1.5 大鼠体质量、牙龈指数和探诊深度的测定

每周第7天时，对大鼠体质量进行称量。参照Hong等[14]的方法测定大鼠牙龈指数及探诊深度。参照表1的标准，严格根据大鼠牙龈的病理发展情况对牙龈指数进行评分。采用牙周探针测量大鼠左上颌第二磨牙腭侧牙龈边缘至牙周袋底的深度，即探诊深度。

表1 牙龈指数评分标准

Table 1 Gingival index scoring criteria

口腔表观现象	牙龈指数
牙龈健康	0
轻度炎症，牙龈轻微变色，探诊不出血	1
中度炎症，牙龈红肿，探诊出血	2
重度炎症，牙龈红肿溃疡，自发性出血	3

1.6 炎症细胞因子水平的测定

采用ELISA试剂盒测定大鼠牙龈组织中TNF-α、IL-1β和IL-8的质量分数。

1.7 牙槽骨吸收水平的测定

牙槽骨经40 g/L多聚甲醛固定48 h、PBS漂洗及自然晾干后，采用Micro-CT扫描系统观察其形态结构。基于所获图像，对骨形态参数进行定量分析：骨吸收量（第二磨牙的釉牙骨质界至牙槽嵴顶的垂直距离）、骨体积分数（感兴趣区的骨组织体积占总体积的百分比）和骨孔隙率（感兴趣区的内孔隙体积占骨组织总体积的百分比）。

1.8 牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌定植量的计数

在正式试验的7、14、21、28、35 d，将无菌吸潮纸尖轻插入大鼠丝线结扎处的牙周袋，停留20 s以收集龈沟液样本[15]。样本稀释后，分别涂布于含体积分数5%去纤维绵羊血的BHI固体培养基和CVE固体培养基上，37 ℃厌氧培养，记录菌落数，最终结果表示为lg（CFU/mL）。

1.9 口腔菌群组成的测定

测定大鼠的口腔菌群结构参照Lu等[16]的方法并稍加修改。采用DNA提取试剂盒提取口腔拭子采集的大鼠唾液样本中的DNA，并使用通用引物341F和806R对16S rDNA V3—V4区的序列进行PCR扩增。然后，对扩增片段进行回收纯化、序列文库构建以及高通量测序。最后，采用QIIME平台对测序结果进行分析。

1.10 生物膜形成量的测定

将牙龈卟啉单胞菌菌悬液和具核梭杆菌菌悬液浓度调整至1×10^7 CFU/mL，并在96孔板中加入2种菌悬液各60 μL，于37 ℃厌氧培养48 h。为考察发酵上清液在不同时期对双菌生物膜形成的抑制效果，分别在厌氧培养0、12、24、36 h时加入80 μL的植物乳植杆菌CCFM1137发酵上清液进行干预，并设置等体积MRS液体培养基作为对照组。参照Wada等[17]的方法对双菌生物膜进行甲醇固定、结晶紫染色及乙醇溶解，并通过测定600 nm的吸光度来间接反映生物膜的形成量。

1.11 水不溶性胞外多糖产量的测定

在24孔板中分别加入600 μL浓度为1×10^7 CFU/mL的牙龈卟啉单胞菌菌悬液和具核梭杆菌菌悬液，于37 ℃厌氧培养48 h。在厌氧培养过程中，分别于0、12、24、36 h时加入800 μL植物乳植杆菌CCFM1137发酵上清液（对照组采用800 μL MRS液体培养基）进行干预。通过PBS洗脱生物膜、离心（4 ℃、6 000 *g*离心10 min）、1 mol/L氢氧化钠重悬、37 ℃孵育以及蒽酮-硫酸法测定等流程，对水不溶性胞外多糖进行定量[18]。

1.12 生物膜中活菌数的测定

将24 mm×24 mm的无菌盖玻片置于6孔板中，分别加入1.2 mL浓度为1×10^7 CFU/mL的牙龈卟啉单胞菌菌悬液和具核梭杆菌菌悬液。然后，于各孔加入1.6 mL的植物乳植杆菌CCFM1137发酵上清液，对照组为等体积的MRS液体培养基。37 ℃厌氧培养48 h后，将盖玻片转移至离心管中，加入适量无菌生理盐水，超声振荡2 h，使生物膜分散于生理盐水中。采用与1.8小节相同的方法测定2种致病菌的活菌数。

1.13 毒力基因表达水平的检测

除不加入盖玻片外，双菌生物膜的培养及发酵上清液的干预与1.12中的方法一致。37 ℃厌氧培养48 h后，严格按照反转录试剂盒说明书进行双菌生物膜总RNA的提取（Trizol法）、RNA的逆转录以及荧光定量PCR试验。取2 μL cDNA、1 μL正向引物、1 μL反向引物、10 μL SYBR Green和6 μL无菌水，构建反应体系。具体程序如下：95 ℃预变性2 min，95 ℃变性15 s，60 ℃退火/延伸30 s，共40个循环。采用具核梭杆菌和牙龈卟啉单胞菌的16S rDNA作为内参基因，并通过$2^{-\Delta\Delta C_t}$法测定毒力基因*foma*、*fada*、*rgpacd*和*fima*的相对表达水平（n=3），引物序列见表2。

表2　引物序列

Table 2　Primer sequences

基因	正向引物（5′—3′）	反向引物（5′—3′）	长度/bp
具核梭杆菌的16S rDNA	CGCAGAAGGTGAAAGTCCTGTAT	TGGTCCTCACTGATTCACACAGA	110
牙龈卟啉单胞菌的16S rDNA	AGTCGCGTGAAGGAAGACTG	TACCGAACACACTACGCACC	193
foma	CCAGCTTGGAGACCAAATGGATCA	TGTTAAAGTTTGTAATCTTCCTGC	141
fada	CACAAGCTGACGCTGCTAGA	TTACCAGCTCTTAAAGCTTG	232
rgpacd	CTCCGTACCGAGGTGAAAGTGGCA	GGCAGGAATATCTTTGTGATCGCC	147
fima	CTGTGTGTTTATGGCAAACTTC	TTCGTCATCGCCAACTCCAA	141

1.14　统计方法

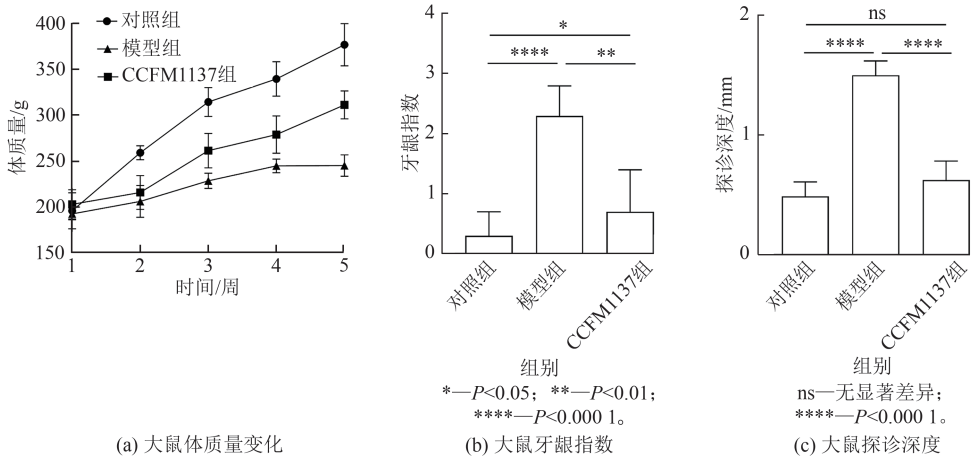
试验数据以平均值±标准差的形式表示。用GraphPad Prism 10.1.2软件中的Tukey事后检验算法分析组间数据的差异性。

2　结果与讨论

2.1　植物乳植杆菌CCFM1137对大鼠体质量及口腔表观指标的影响

体质量是反映宿主全身健康状况的重要指标。如图2（a）所示，第1周时各组大鼠体质量基本一致。从第2周至第5周，模型组大鼠的平均体质量较对照组分别降低52.98、85.69、94.61、131.44 g。在构建牙周炎模型后，模型组与对照组之间的体质量差距逐渐变大，说明牙周炎会导致大鼠体质量下降。该现象可能归因于牙龈肿痛造成的食欲降低和进食困难，或牙周炎诱导的全身炎症[1,5]。值得注意的是，在建模结束后的第3、4、5周，CCFM1137组大鼠的平均体质量较模型组分别高出32.75、34.08、66.05 g。表明植物乳植杆菌CCFM1137虽不能完全逆转牙周炎引起的体质量下降，但对大鼠的牙周炎可能具有一定的缓解作用。

在口腔局部表征方面，牙龈指数和探诊深度是评估牙周组织病理改变的关键指标，分别反映了牙龈炎症程度和牙槽骨吸收水平。如图2（b）~（c）所示，相较于对照组，模型组大鼠的牙龈指数和探诊深度均显著升高，证实牙周炎可造成大鼠牙龈组织炎性损伤及牙槽骨吸收。而CCFM1137组上述2项指标均显著低于模型组，说明植物乳植杆菌CCFM1137的干预可改善牙周炎导致的牙龈炎症与牙槽骨吸收。综上，植物乳植杆菌CCFM1137具备一定的抗炎和抑制牙槽骨吸收的生物活性。接下来，将通过定量检测牙龈组织中炎症细胞因子水平，并利用Micro-CT技术扫描分析牙槽骨形貌，进一步从分子与结构层面验证植物乳植杆菌CCFM1137对牙周炎的缓解作用。



(a) 大鼠体质量变化　(b) 大鼠牙龈指数　(c) 大鼠探诊深度

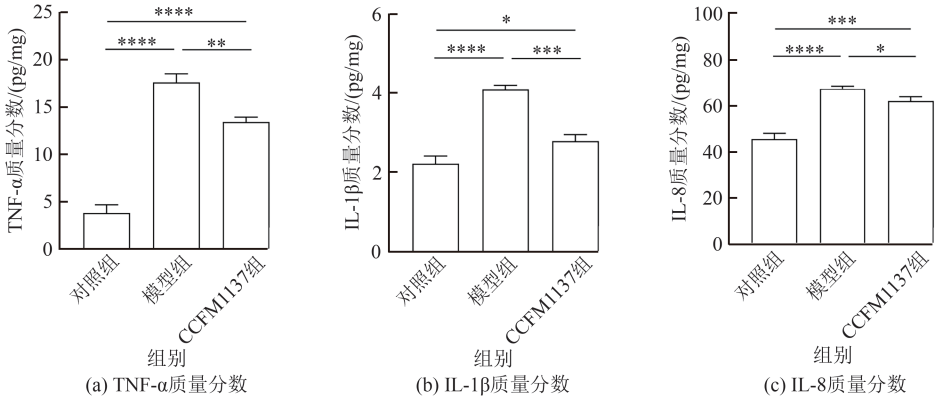
图2　植物乳植杆菌CCFM1137对大鼠体质量、探诊深度及牙龈指数的影响

Fig. 2　Effects of *L. plantarum* CCFM1137 on body mass, probing depth and gingival index of rats

2.2 植物乳植杆菌CCFM1137对牙龈组织炎症细胞因子水平的影响

在牙周炎发病机制中，TNF-α、IL-1β和IL-8等关键炎症细胞因子通过多重途径加剧疾病进展：其一，作为强效炎症信号，激活并聚集炎症细胞，从而放大局部炎症反应[19]；其二，诱导牙周成纤维细胞释放基质金属蛋白酶，该蛋白酶可降解牙龈结缔组织中的胶原纤维，促使牙周袋形成和牙周附着丧失[20]；其三，通过破坏骨保护素（osteoprotegerin，OPG）/RANKL系统平衡，导致牙槽骨成骨细胞与破骨细胞比例失调，从而引发牙槽骨吸收[21]。

如图3所示，与对照组相比，模型组大鼠牙龈组织中的TNF-α、IL-1β和IL-8的水平分别显著升高至对照组的4.6倍、1.9倍和1.5倍，表明建模处理诱导了牙龈组织炎症细胞因子的高表达，牙周炎建模成功。而经植物乳植杆菌CCFM1137干预后，上述炎症细胞因子水平较模型组分别显著降低了23.85%、31.96%、7.90%，证明植物乳植杆菌CCFM1137能够有效抑制牙周炎相关炎症细胞因子的表达。现有研究表明，多种菌株如嗜酸乳杆菌（*Lactobacillus acidophilus*）LA-5[22]、嗜黏蛋白阿克曼菌DSM 22959[10]及发酵粘液乳杆菌（*Limosilactobacillus fermentum*）CCFM1139[13]，可通过抑制致病菌增殖或其生物膜形成来改善口腔微生态，下调牙龈炎症细胞因子水平。尽管植物乳植杆菌CCFM1137表现出相似的抗炎潜力，但其是否通过相同途径缓解牙周炎仍有待进一步验证。



*—P<0.05；**—P<0.01；***—P<0.001；****—P<0.000 1。

图3 植物乳植杆菌CCFM1137对牙龈组织炎症细胞因子水平的影响

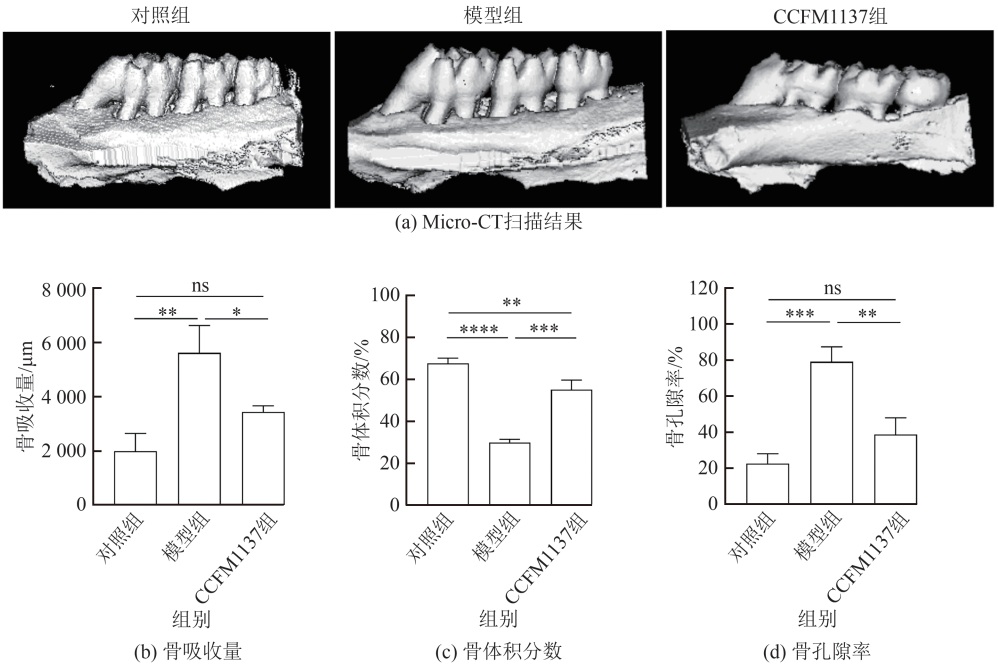
Fig. 3 Effects of *L. plantarum* CCFM1137 on gingival levels of inflammatory factors

2.3 植物乳植杆菌CCFM1137对大鼠牙槽骨吸收水平的影响

为评估植物乳植杆菌CCFM1137对大鼠牙槽骨吸收的调节作用，采用Micro-CT扫描并结合相关骨指标进行综合分析。如图4（a）所示，相较于对照组，模型组大鼠第一磨牙与第二磨牙之间的距离明显增大。如图4（b）~（d）所示，模型组的骨吸收量（5 601 μm）和骨孔隙率（78.64%）较对照组分别显著升高182.88%和250.13%。如图4（c）所示，模型组骨体积分数（29.93%）显著低于对照组（67.63%），仅为后者的44.26%。上述影像与数据结果表明，牙周炎建模成功并诱发了大鼠牙槽骨吸收。植物乳植杆菌CCFM1137干预有效缓解了上述骨吸收表型的异常变化。CCFM1137组大鼠的磨牙间距小于模型组，骨吸收量和骨孔隙率分别显著降低38.80%和51.14%，骨体积分数则显著增加84.08%，表明该菌株能够改善牙周炎诱导性牙槽骨损伤。有研究报道，某些益生菌如嗜链球菌（*Streptococcus cristatus*）CA119可通过提高小鼠血清中OPG/RANKL比例调控牙槽骨代谢[23]。结合本试验前期结果，植物乳植杆菌CCFM1137能够显著降低牙龈组织中TNF-α、IL-1β和IL-8等炎症细胞因子水平，推测其可能通过抑制炎症介导的破骨细胞分化，进而减轻牙槽骨吸收。

2.4 植物乳植杆菌CCFM1137对大鼠口腔微生态的影响

为探究植物乳植杆菌CCFM1137能否通过抑制致病菌、改善口腔微生态缓解牙周炎，选取牙龈



(a) Micro-CT扫描结果

(b) 骨吸收量　(c) 骨体积分数　(d) 骨孔隙率

ns—无显著差异；*—P<0.05；**—P<0.01；***—P<0.001；****—P<0.000 1。

图4　植物乳植杆菌CCFM1137干预对大鼠牙槽骨吸收水平的影响

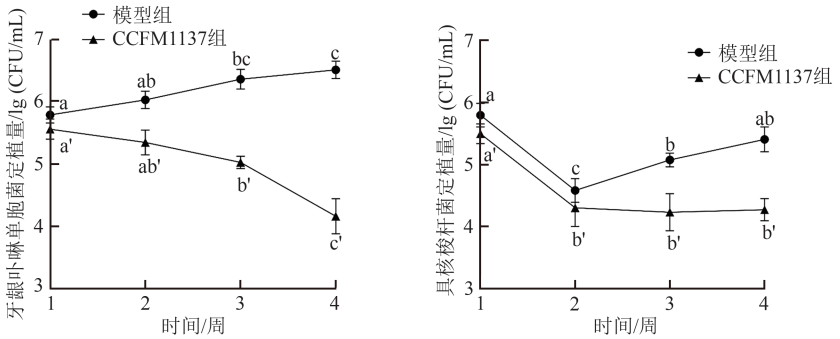
Fig. 4　Effects of *L. plantarum* CCFM1137 on alveolar bone resorption in rats

卟啉单胞菌和具核梭杆菌为代表性致病菌，分析其在大鼠口腔中定植水平的变化。如图5(a)所示，在模型组中，牙龈卟啉单胞菌的定植量从第2周的5.78 lg(CFU/mL)逐渐上升到第5周的6.50 lg(CFU/mL)，表明其在牙周炎发病过程中持续增殖。而在CCFM1137组中，该菌的定植量由第2周的5.50 lg(CFU/mL)显著下降至第5周的4.16 lg(CFU/mL)。如图5(b)所示，对于具核梭杆菌来说，CCFM1137组在整个试验期间的定植量均低于模型组。结果表明，植物乳植杆菌CCFM1137可能通过直接抑制口腔中牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌这2种关键致病菌的增殖，发挥其对牙周炎的缓解作用。

口腔菌群结构相对丰度变化见表3。本研究共鉴定出啮齿杆菌属(*Rodentibacter*)、罗氏菌属(*Rothia*)、聚集杆菌属(*Aggregatibacter*)等18个菌属，重点关注了与目标菌种牙龈卟啉单胞菌、具核梭杆菌和植物乳植杆菌对应的卟啉单胞菌属(*Porphyromonas*)、梭杆菌属(*Fusobacterium*)和乳杆菌属(*Lactobacillus*)的相对丰度。结果显示，模型组中卟啉单胞菌属和梭杆菌属的相对丰度显著升高，而植物乳植杆菌CCFM1137的干预有效抑制了这一趋势；模型组乳杆菌属的相对丰度下降，植物乳植杆菌CCFM1137干预则使其显著回升。该结果与前述致病菌定量结果一致，表明植物乳植杆菌CCFM1137能够调节口腔菌群结构，抑制致病菌属并促进有益菌属的恢复。这种调控作用可能源于植物乳植杆菌CCFM1137产生的抑菌性代谢产物，如有机酸、细菌素和过氧化氢等。已有研究报道，某些益生菌代谢物具备抑制口腔致病菌的潜力。粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)CAUM157产生的双肽细菌素M157可强效抑制具核梭杆菌的增殖[24]。然而，植物乳植杆菌CCFM1137是否依赖此类代谢物发挥其抑菌作用，仍有待确认。

2.5　植物乳植杆菌CCFM1137对牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌的体外抑制效果

为探究植物乳植杆菌CCFM1137代谢物对牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌的抑制能力，通过测定双菌生物膜形成量、水不溶性胞外多糖产量、生物膜中活菌数及相关毒力基因表达水平，系统评价其体外抑菌活性。牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌双菌生物膜的形成经历4个关键阶段，分别为细菌黏附期(0~12 h)、生物膜形成前期(12~24 h)、生物膜形成中期(24~36 h)及生物膜形成后期(36 h以后)[25]。在生物膜形成过程中，菌株分泌的水不溶性胞外多糖能够维持生物膜的稳定性，有助于菌



(a) 牙龈卟啉单胞菌定植量的变化　(b) 具核梭杆菌定植量的变化

不同字母代表组间差异显著（P<0.05）。

图 5　植物乳植杆菌 CCFM1137 对牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌定植量的影响

Fig. 5　Effects of *L. plantarum* CCFM1137 on colonization of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*

表 3　植物乳植杆菌 CCFM1137 对口腔菌群属水平的影响

Table 3　Effects of *L. plantarum* CCFM1137 on oral microbiota at the genus level

组别	相对丰度/%						
	啮齿杆菌属（*Rodentibacter*）	罗氏菌属（*Rothia*）	聚集杆菌属（*Aggregatibacter*）	链球菌属（*Streptococcus*）	棒状杆菌属（*Corynebacterium*）	孪生球菌属（*Gemella*）	另枝菌属（*Alistipes*）
对照组	37.89	26.04	10.47	3.82	4.22	1.17	0.47
模型组	48.61	17.25	9.24	6.42	3.53	1.00	0.44
CCFM1137组	42.76	20.45	10.34	8.06	6.62	0.97	0.10

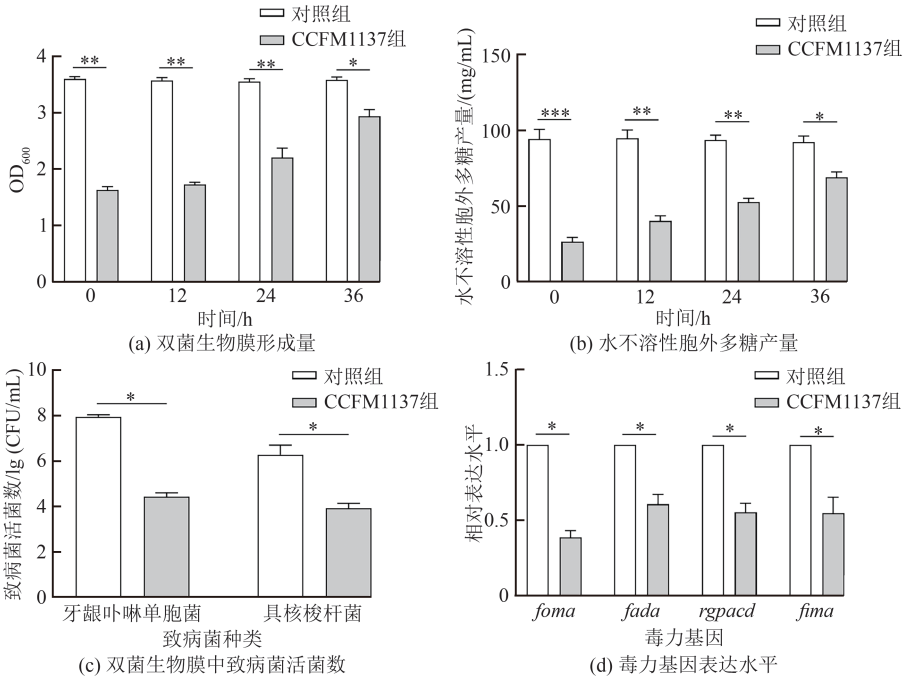
组别	相对丰度/%						
	梭杆菌属（*Fusobacterium*）	粪杆菌属（*Faecalibacterium*）	埃希氏菌-志贺氏菌属（*Escherichia-Shigella*）	克雷伯菌属（*Klebsiella*）	双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）	罗氏菌属（*Roseburia*）	乳杆菌属（*Lactobacillus*）
对照组	0.50	0.68	0.98	0.58	1.08	0.12	1.06
模型组	0.80	0.98	0.78	0.50	0.62	0.45	0.59
CCFM1137组	0.42	0.81	0.69	0.43	0.49	0.57	2.72

组别	相对丰度/%				
	布劳特氏菌属（*Blautia*）	葡萄球菌属（*Staphylococcus*）	卟啉单胞菌属（*Porphyromonas*）	拟杆菌属（*Bacteroides*）	其他属（others）
对照组	0.66	0.15	0.20	0.49	9.17
模型组	0.51	0.17	1.04	0.35	6.53
CCFM1137组	0.46	0.42	0.01	0.05	3.50

株长期定植[26]。为此，分别在生物膜形成的 0、12、24、36 h 时加入植物乳植杆菌 CCFM1137 发酵上清液进行干预，以评估其对不同阶段生物膜形成及胞外多糖产量的影响。

如图 6（a）~（b）所示，与对照组相比，各时间点加入植物乳植杆菌 CCFM1137 发酵上清液均能显著抑制生物膜形成与水不溶性胞外多糖的生成。0、12、24、36 h 时，生物膜抑制率分别为 54.80%、51.77%、37.93%、18.14%；CCFM1137 组胞外多糖产量较对照组分别减少 71.88%、57.43%、43.67%、25.20%。结果表明，植物乳植杆菌 CCFM1137 发酵上清液的抑菌作用具有明显的时间依赖性，干预越早，抑制效果越显著。这一现象符合生物膜发育的基本规律。在初始阶段（0 h），植物乳植杆菌 CCFM1137 发酵上清液中的活性成分能直接作用于浮游状态的细菌，有效抑制其初始附着与生物膜形成，从而发挥最强的干预效果。随着生物膜进入形成中期与后期（12~36 h），其内部丰厚的胞外多糖基质构成了强大的物理与化学扩散屏障，显著阻碍了活性成分的渗透，降低了作用效率。同时，成熟生物膜中细菌的群体感应机制及其可能诱导的耐药性表型，也进一步削弱了外部干预的效果。

如图 6（c）所示，相较于对照组，植物乳植杆菌 CCFM1137 发酵上清液显著降低了双菌生物膜中的活菌数，其中牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌的活菌数分别下降 44.26% 和 37.54%。如图 6（d）所示，多个关键毒力因子的 mRNA 相对表达水平也出现显著下调，包括具核梭杆菌的 *foma*（编码生物膜相关外膜蛋白）和 *fada*（编码炎症相关黏附素），以及牙龈卟啉单胞菌的 *rgpacd*（编码精氨酸牙龈蛋白酶）和 *fima*（编码



*—P<0.05；**—P<0.01；***—P<0.001。

图6　植物乳植杆菌CCFM1137体外抑菌效果的评价

Fig. 6　Evaluation of the *in vitro* antibacterial activity of *L. plantarum* CCFM1137

菌毛蛋白FimA)[27-29]。综上所述，植物乳植杆菌CCFM1137发酵上清液可能通过抑制生物膜形成、减少水不溶性胞外多糖合成、降低生物膜活菌数及下调毒力基因表达等多重途径，阻碍牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌的定植。

3　结论

通过体内外试验证实，植物乳植杆菌CCFM1137能够显著缓解牙周炎大鼠的牙龈炎症与牙槽骨吸收，降低牙龈组织中关键炎症细胞因子TNF-α、IL-1β和IL-8的水平。在机制层面，植物乳植杆菌CCFM1137可有效抑制牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌的口腔定植，调节菌群结构，恢复乳杆菌属相对丰度；其发酵上清液在体外可抑制双菌生物膜形成、胞外多糖合成及毒力基因表达。结果表明，植物乳植杆菌CCFM1137可能通过抑制致病菌、改善口腔微生态及减轻炎症反应等多种途径发挥抗牙周炎作用。因此，区别于益生菌依赖单靶点（如抑菌或抗炎）调节口腔健康的传统认知，本研究结果说明益生菌可能通过多途径的协同作用发挥益生活性。本研究为口腔益生菌的开发提供了理论依据，但其具体活性成分与分子机制仍有待进一步解析。

参考文献

[1] Li J X，Wang Y X，Tang M M，et al. New insights into nanotherapeutics for periodontitis：a triple concerto of antimicrobial activity，immunomodulation and periodontium regeneration [J]. Journal of Nanobiotechnology，2024，22(1)：19.

[2] Rekabi A，Ram A，Nazari A，et al. Does crocin create new hope for the treatment of oral problems? A focus on periodontitis [J]. Molecular Biology Reports，2024，51(1)：224.

[3] Slowik J，Panasiuk A，Kaczor M，et al. Oral health-related quality of life in patients with periodontitis：a systematic review and meta-analysis [J]. Frontiers in Oral Health，2025，6：1503829.

[4] Nascimento G G，Alves-Costa S，Romandini M. Burden of severe periodontitis and edentulism in 2021，with projections up to 2050：the global burden of disease 2021 study [J]. Journal of Periodontal Research，2024，59(5)：823-867.

[5] Villoria G E M，Fischer R G，Tinoco E M B，et al. Periodontal disease：a systemic condition [J]. Periodontology 2000，2024，96(1)：7-19.

[6] Ciani L，Libonati A，Dri M，et al. About a possible impact of endodontic infections by *Fusobacterium nucleatum* or *Porphyromonas gingivalis* on oral carcinogenesis：a literature overview [J]. International Journal of Molecular Sciences，2024，25(10)：5083.

[7] Lan C H，Qian Y M，Wang Y M，et al. The protective role of curcumin in human dental pulp stem cells stimulated by

lipopolysaccharide *via* inhibiting NF-κB p65 phosphorylation to suppress NLRP3 inflammasome activation[J]. Clinical Oral Investigations,2023,27(6):2875-2885.

[8] Baker J L,Mark Welch J L,Kauffman K M,et al. The oral microbiome:diversity,biogeography and human health[J]. Nature Reviews Microbiology,2024,22(2):89-104.

[9] de Oliveira G,de Andrade Rodrigues L,Souza da Silva A A,et al. Reduction of osteoclast formation and survival following suppression of cytokines by diacerein in periodontitis[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy,2024,177:117086.

[10] Song B Q,Xian W P,Sun Y,et al. *Akkermansia muciniphila* inhibited the periodontitis caused by *Fusobacterium nucleatum* [J]. npj Biofilms and Microbiomes,2023,9:49.

[11] Ma X Y,Yoo J W,Shin Y J,et al. Alleviation of *Porphyromonas gingivalis* or its extracellular vesicles provoked periodontitis and cognitive impairment by *Lactobacillus pentosus* NK357 and *Bifidobacterium bifidum* NK391[J]. Nutrients,2023,15(5):1068.

[12] 徐晚晴,张秋香,郑彦懿,等. 治疗牙周炎的乳杆菌筛选及口腔益生特性评价[J]. 食品与发酵工业,2021,47(15):70-76.
Xu W Q,Zhang Q X,Zheng Y Y,et al. Screeningand evaluation of *Lactobacillus* for treatment of periodontitis[J]. Food and Fermentation Industries,2021,47(15):70-76.(in Chinese)

[13] Zhang Q X,Xu W Q,Xu X Y,et al. Effects of *Limosilactobacillus fermentum* CCFM1139 on experimental periodontitis in rats[J]. Food & Function,2021,12(10):4670-4678.

[14] Hong Q,Ren Y,Tang X,et al. Impact of live *Ligilactobacillus salivarius* CCFM1332 and its postbiotics on *Porphyromonas gingivalis* colonization,alveolar bone resorption and inflammation in a rat model of periodontitis[J]. Microorganisms,2025,13(7):1701.

[15] Arruda-Vasconcelos R,Chiarelli-Neto V M,Louzada L M,et al. Quantitative analysis of culturable bacteria,levels of endotoxins,inflammatory mediators and substance P in teeth with symptomatic irreversible pulpitis and in teeth with vital normal pulp tissues [J]. International Endodontic Journal,2023,56(7):827-836.

[16] Lu M,Zhang Y N,Zhang Y,et al. Postmenopausal osteoporosis increases periodontal inflammation and the pathogenicity of the oral microbiota in a rat model[J]. Journal of Oral Microbiology,2025,17(1):2554381.

[17] Wada E,Ito C,Shinohara M,et al. Prunin laurate derived from natural substances shows antibacterial activity against the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*[J]. Foods,2024,13(12):1312-1917.

[18] Ma Q Z,Pan Y Y,Chen Y,et al. Acetylation of glucosyltransferases regulates *Streptococcus mutans* biofilm formation and virulence[J]. PLoS Pathogens,2021,17(12):e1010134.

[19] Wang R P,Huang J P,Chan K W Y,et al. IL-1β and TNF-α play an important role in modulating the risk of periodontitis and Alzheimer's disease[J]. Journal of Neuroinflammation,2023,20(1):71.

[20] Luchian I,Goriuc A,Sandu D,et al. The role of matrix metalloproteinases (MMP-8, MMP-9, MMP-13) in periodontal and peri-implant pathological processes[J]. International Journal of Molecular Sciences,2022,23(3):1806.

[21] Wu Z W,Duan S Y,Li M M,et al. Autophagy regulates bone loss *via* the RANKL/RANK/OPG axis in an experimental rat apical periodontitis model[J]. International Endodontic Journal,2024,57(9):1315-1325.

[22] Bueno M R,Martins F H,Rocha C M,et al. *Lactobacillus acidophilus* LA-5 ameliorates inflammation and alveolar bone loss promoted by *A. actinomycetemcomitans* and *S. gordonii* in mice and impacts oral and gut microbiomes[J]. Microorganisms,2024,12(4):836.

[23] Zhao D Y,Li M H,Pan T X,et al. Preventive and therapeutic potential of *Streptococcus cristatus* CA119 in experimental periodontitis in rats[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins,2025,17(5):3026-3040.

[24] Elnar A G,Kim G B. *In vitro* and *in silico* characterization of *N*-formylated two-peptide bacteriocin from *Enterococcus faecalis* CAUM157 with anti-*Listeria* activity[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins,2024,16(4):1130-1147.

[25] Abushahba F,Gürsoy M,Hupa L,et al. Effect of bioactive glass air-abrasion on *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis* biofilm formed on moderately rough titanium surface[J]. European Journal of Oral Sciences,2021,129(3):e12783.

[26] Deo R,Lakra U,Ojha M,et al. Exopolysaccharides in microbial interactions:signalling,quorum sensing,and community dynamics[J]. Natural Product Research,2025,39(11):3224-3239.

[27] Xu H W,Li P,Zhu S L. Immune responses of multi-epitope recombinant vaccine candidate strains against *Fusobacterium nucleatum* in mice [J]. Microbial Pathogenesis,2025,207:107824.

[28] Peng H Y,Chen S Y,Siao S H,et al. Targeting a cysteine protease from a pathobiont alleviates experimental arthritis[J]. Arthritis Research & Therapy,2020,22(1):114.

[29] Morales-Olavarría M,Nuñez-Belmar J,González D,et al. Phylogenomic analysis of the *Porphyromonas gingivalis*-*Porphyromonas gulae* Duo:approaches to the origin of periodontitis[J]. Frontiers in Microbiology,2023,14:1226166.