

益生菌辅助治疗牙周病的研究进展

黄嘉玲, 徐依萍, 刘忠斌, 葛颂*

遵义医科大学附属口腔医院牙周科, 贵州 遵义 563000

黄嘉玲, 徐依萍, 刘忠斌, 葛颂. 益生菌辅助治疗牙周病的研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(1): 340-350.

HUANG Jialing, XU Yiping, LIU Zhongbin, GE Song. Research progress of probiotics in adjuvant treatment of periodontal disease[J]. Microbiology China, 2023, 50(1): 340-350.

摘要: 牙周病是累及牙周支持组织的慢性感染性疾病。牙菌斑生物膜中的微生物及其代谢产物是其必不可少的始动因素, 可导致口腔微生态失衡和宿主免疫反应, 最终引起牙周病的发生发展。目前, 牙周病的基础治疗主要是机械清除牙菌斑生物膜和牙石, 但治疗效果具有局限性。益生菌通过产生抑菌物质、刺激局部免疫反应、与致病菌争夺黏膜受体和营养物质, 从而改善口腔微生态平衡, 促进牙周病的治疗。本文就近年来益生菌在牙周病治疗上的实验和临床研究、作用机制、安全性等进行综述, 为将来益生菌辅助治疗牙周病的应用提供参考。

关键词: 益生菌; 牙周病; 口腔微生态; 牙菌斑生物膜

Research progress of probiotics in adjuvant treatment of periodontal disease

HUANG Jialing, XU Yiping, LIU Zhongbin, GE Song*

Department of Periodontology, Hospital of Stomatology, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China

Abstract: Periodontal disease is a chronic infectious disease involving periodontal supporting tissue. Microorganisms and their metabolites in dental plaque biofilm are key initiating factors of periodontal disease, which can lead to oral microecological imbalance and host immune response. At present, periodontal disease is mainly treated by mechanical removal of dental plaque biofilm and calculus, which has limited therapeutic effect. Probiotics can improve the balance of oral microecology and promote the treatment of periodontal diseases by producing antibacterial substances, stimulating local immune responses, and competing with pathogenic

资助项目: 国家自然科学基金(81860197); 遵义市创新人才团队培养项目(遵市科人才[2020] 5号)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81860197) and the Zunyi Innovative Team Project ([2020] 5).

*Corresponding author. E-mail: zykq2015@163.com

Received: 2022-05-07; Accepted: 2022-07-06; Published online: 2022-08-23

bacteria for mucosal receptors and nutrients. This paper reviews the experimental and clinical studies, mechanism of action, and safety of probiotics in the treatment of periodontal disease in recent years, providing reference for the application of probiotics in this field in the future.

Keywords: probiotics; periodontal disease; oral microecology; dental plaque biofilm

人体微生物群作为一个复杂而协调的微生物网络,存在于皮肤、口腔、肠道、呼吸道和生殖系统的整个黏膜表面。口腔具有人体中第二大复杂的微生物群,仅次于肠道,口腔微生物丰富多样,包括细菌、真菌、病毒、古细菌和原虫等,大约有700种物种存在于口腔中^[1]。健康状态下,口腔微生物群落与宿主之间维持着动态平衡,共同参与宿主的代谢、免疫反应,保持口腔健康。当口腔微生态发生失衡时,会导致很多口腔疾病^[2](如龋病、牙周病、复发性口炎等)及全身系统性疾病^[3-5](如心血管疾病、糖尿病、阿尔茨海默病等)。牙周炎是一种发生在牙周支持组织的慢性感染性疾病,目前主要治疗方法是非手术牙周治疗,通过口腔卫生指导、洁刮治和根面平整(scaling and root planning, SRP)来机械清除牙菌斑生物膜和牙石,但治疗效果具有局限性^[6]。近年来,益生菌辅助治疗牙周病的报道逐渐增多,这给临床工作者提供了一条新的治疗牙周炎的思路^[7]。本文主要从口腔微生态角度阐述益生菌在牙周炎防治中的作用及相关机制,以期为进一步利用益生菌治疗牙周炎提供证据。

1 微生态失调与牙周炎发病机制

牙周炎不是由单一或少数特定微生物引起的,而是由微生物群落协同作用引起的疾病。牙周菌群失调与组织内稳态的破坏有关,这很大程度上是由微生物破坏宿主牙周组织的免疫和炎症反应所致。Hajishengallis等^[8-9]认为,辅助病原体(accessory pathogen)是特定微环境中的共生体,它们可增强其他病原体的定殖或代谢活性;

关键病原体(keystone pathogen)则通过调节菌群成员的组成和水平,从而操纵宿主反应,在低丰度状况下发挥其关键影响;而致病病原体(pathobiont)不一定是低丰度物种,其需要具有特定遗传或环境改变(例如免疫系统受损)的宿主来引起炎症,即利用破坏的宿主内环境平衡来发展和促进炎症性疾病。根据多微生物协同作用和生态失调(polymicrobial synergy and dysbiosis, PSD)模型^[10],关键病原体在营养和定殖支持方面得到辅助病原体的帮助,最初会破坏宿主的免疫反应、导致菌群失调,在这种失调的微生物群中,致病病原体过度激活宿主反应,并在由此产生的炎症环境中快速增殖;由于关键病原体可导致或促成内环境平衡的破坏,致病病原体作用于关键病原体的下游,而关键病原体又可能作用于提供营养或定殖支持的辅助病原体的下游。PSD模型理论强调了持续的循环过程,其中生态失调和炎症相互强化,生态失调促进了破坏性炎症,而炎症为嗜炎性病原体的进一步扩张创造了有利的营养环境,最终成为牙周病发病机制的驱动因素。

2 益生菌在牙周炎防治中的作用

目前,非手术牙周治疗仍是牙周炎最主要的治疗方式,主要是通过龈上洁治、龈下刮治和根面平整来机械清除牙菌斑生物膜和牙石。但与浮游状态细菌相比,生物膜使其中细菌对外界刺激具有更强的抵抗力和耐药性,使得临床上难以完全清除口腔生物膜的致病影响^[11-12]。然而,生物膜一旦脱落进入消化道,不仅导致口腔疾病的发

生,也会造成胃肠道等其他系统疾病的发生、发展。本课题组前期研究曾发现,牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)可通过微生物-肠-脑轴影响阿尔茨海默病的发生、发展^[5]。

抗生素辅助疗法和光动力疗法是辅助治疗牙周炎的常见方式,但具有耐药性或长期疗效不稳定等局限^[13]。为了克服这些局限,许多临床工作者呼吁关注牙周炎的新型辅助治疗方法。近年来,微生态调节技术得到了越来越多学者的关注^[14]。益生菌(probiotics)被联合国粮农组织(Food and Agriculture Organization, FAO)/世界卫生组织(World Health Organization, WHO)定义为“活性微生物,当给予足够的剂量时,对宿主的健康有益”^[15]。目前,应用最广泛的益生菌主要是乳杆菌属和双歧杆菌属,并且已广泛应用于治疗胃肠道疾病^[16]、泌尿系统感染^[17]、呼吸道感染^[18]等。近年来,益生菌在口腔疾病的临床研究也越来越多。例如,用于减少龋病的发生^[19]、降低口腔念珠菌感染^[20]、控制口臭^[21]及牙周炎的治疗^[7]。益生菌主要是通过竞争性抑制牙周病原菌来增加有益细菌的比例,从而恢复口腔微生态平衡,并调节宿主反应。因此,益生菌辅助治疗可能在牙周病的治疗中具有较大的潜力。

2.1 实验研究

2.1.1 体外实验

一些体外研究检测了不同乳杆菌菌株对牙周病原菌的抗菌活性。例如,罗伊氏乳杆菌 AN417 对 *P. gingivalis* BAA308 和具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*) KCTC 15573 具有抑制作用;德氏乳杆菌 STYM1 对 *P. gingivalis* W83 的生长也具有抑制作用^[22-23]。Jia 等^[24]研究发现,植物乳杆菌 AR113 和副干酪乳杆菌 AR340 能够抑制口腔病原体 β 溶血性链球菌 CICC 10373 和金黄色葡萄球菌 ATCC 29213,并且能抑制脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的

RAW264.7 巨噬细胞产生肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和一氧化氮(nitric oxide, NO)。有体外研究也发现金黄色葡萄球菌 8325-4 对嗜酸乳杆菌 IMV B-7279 高度敏感,而金黄色葡萄球菌是在侵袭性牙周炎中发现的病原体^[25]。

有研究先以 *P. gingivalis* W83 和 ATCC 33277 菌株感染牙龈上皮细胞,再以罗伊氏乳杆菌 DSM 17938、鼠李糖乳杆菌 Lr-32 和 HN001、嗜酸乳杆菌 LA-5 和 NCFM 等 12 种益生菌处理后发现,牙龈上皮细胞产生的炎症细胞因子白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、TNF- α 水平降低^[26]。Huck 等^[27]关于嗜黏蛋白阿克曼氏菌(*Akkermansia muciniphila*) ATCC BAA-835 对 *P. gingivalis* 381 诱导的炎症和牙周骨破坏情况进行了系统的体内外实验,结果发现巨噬细胞产生的抗炎因子 IL-10 增加,而促炎因子 IL-12 减少;此外,牙龈上皮细胞中整合素- β 1 (integrin- β 1)、E-钙粘蛋白(E-cadherin)和紧密连接分子(tight junction molecules) ZO-1 等连接完整性标志物的表达增加了,*P. gingivalis* 的牙龈素 mRNA 表达则显著降低。

2.1.2 动物实验

Ricoldi 等^[28]研究发现,实验性牙周炎大鼠在 SRP 并辅助应用 15 d 双歧杆菌 HN019 后,需氧菌/厌氧菌比值升高,免疫组织化学分析发现牙周组织中的破骨细胞数降低,IL-1 β 和人类 IL-8 同源物——细胞因子诱导的中性粒细胞趋化剂(cytokine-induced neutrophil chemoattractant, CINC)表达水平降低,而转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 1 和 IL-10 表达水平升高。Prescott 等^[29]和 Ouweland 等^[30]的研究也发现口服双歧杆菌 HN019 能增加母乳和血液中的 TGF- β 1 水平。而 TGF- β 已被证明能抑制成纤维细胞和巨噬细胞产生胶原酶,增强基质金属蛋白酶组织抑制剂的表达,增加细胞外基质分子的合

成, 促进对骨细胞的趋化作用^[31]。

Maekawa 等^[32]通过定量实时聚合酶链反应测定牙龈组织促炎细胞因子的表达发现, 相较于安慰剂组, 经短乳杆菌 CD2 局部治疗小鼠的 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-17A 表达显著降低, 该组小鼠的厌氧菌计数较低, 而需氧菌计数较高; 此外, 该研究还发现在 *P. gingivalis*/大肠杆菌/Pam3CSK4 脂肽的刺激下, 人单核细胞系 THP-1 细胞产生促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-8 增加, 而在添加短链杆菌 CD2 提取物后, 激活的 THP-1 细胞中所有炎症介质的产生均被显著抑制, 提示益生菌短乳杆菌 CD2 可以通过调节宿主反应和牙周微生物群来抑制牙周炎症。

Oliveira 等^[33]研究发现, 实验性牙周炎大鼠使用双歧杆菌 HN019 后, 龈下菌斑中放线菌类和链球菌样细菌(如戈氏放线菌、以色列放线菌、中间链球菌及口腔链球菌样细菌)所占比例升高, 而小韦荣球菌、生痰二氧化碳噬纤维菌、嗜蚀艾肯菌、中间普氏菌所占比例降低; 并且使用双歧杆菌 HN019 治疗后牙龈组织的骨保护素(osteoprotegerin, OPG)和 β -防御素表达明显升高, 而 IL-1 β 和核因子 κ B 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand, RANKL)水平降低。

Messori 等^[34]发现实验性牙周炎大鼠口服枯草芽孢杆菌 DSM 5750 和地衣芽孢杆菌 DSM 5749 后, 大鼠的牙槽骨量升高 52.74%, 骨孔隙度降低 40.08%, 其无骨或牙周韧带区域及附着丧失(attachment loss, AL)显著降低, 而下颌第一磨牙根分叉至牙槽嵴顶的距离也降低 66.97%; 而且大鼠牙槽骨中的破骨细胞数量减少, 这可能是由于芽孢杆菌及其产物对破骨细胞分化和活化途径的影响, 如对核转录因子- κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B)通路和丝裂原活化蛋白激

酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路的影响。有学者研究发现, 枯草芽孢杆菌 KMD 2311 产生的表面活性剂通过抑制 *P. gingivalis*-LPS 刺激的 THP-1 细胞中的 NF- κ B 活性, 显著降低了其 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-12 的产生^[35]。Foureaux 等^[36]研究证明, 芽孢杆菌类可以降低应激大鼠牙周组织中 p38 MAPK 的表达; 而 Matsumoto 等^[37]研究认为, p38 MAPK 通路的激活在 RANKL 诱导的骨髓前体细胞向破骨细胞的分化中起重要作用。

Jia 等^[38]研究发现, 去卵巢大鼠经灌胃给予鼠李糖乳杆菌 HN001、乳双歧杆菌 BI-04、动物双歧杆菌 HN019 等 10 种益生菌后, 其肠道微生物群落发生重构, 产丁酸菌属增加并提高了肠道丁酸盐产量, 短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)生成增加, 大鼠回肠的肠绒毛高度、肠绒毛密度、肠绒毛高度与肠隐窝深度的比值(V/C)恢复正常, 从而改善了肠道屏障功能, 降低了肠道通透性; 大鼠骨髓中辅助性 T 细胞 17 (T helper cell 17, Th17)比率降低、调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)比率升高使得 Th17/Treg 细胞平衡, 改善了实验性牙周炎和根尖周炎大鼠的牙槽骨丢失。这表明益生菌还可能通过重构肠道微生物群、调节骨免疫而有效地减轻牙槽骨丢失。该课题组的前期研究也发现, 肠道微生物群在骨稳态和病理学中具有关键作用, 肠道微生物群可以通过“肠-骨轴”来影响骨健康^[39]。

此外, 益生菌也被发现有预防牙周炎的作用, 预防性地联合使用必需脂肪酸 omega-3 和副干酪乳杆菌 DSM 24734、植物乳杆菌 DSM 24730、嗜酸乳杆菌 DSM 24735、保加利亚德布布鲁克乳杆菌亚种 DSM 24734、长双歧杆菌 DSM 24736、婴儿双歧杆菌 DSM 24737、短双歧杆菌 DSM 24732、嗜热链球菌 DSM 24731 可

减少实验性牙周炎大鼠的牙槽骨丢失,改善血清中 IL-1 β 、IL-6 和 IL-10 水平^[40]。

2.2 临床研究

2.2.1 改善牙周病的临床指标

有研究^[41]对 27 名轻至中度牙周炎患者分为试验组和对照组,对照组仅接受 SRP,试验组接受 SRP 后每天口服罗伊氏乳杆菌 UBLRu-87 咀嚼片,结果发现,试验组和对照组的菌斑指数(plaque index, PI)、牙龈指数(gingival index, GI)、牙周袋探诊深度(probing pocket depth, PPD)和临床附着水平(clinical attachment level, CAL)在 1 月、3 月时较基线显著改善,而且试验组的牙周临床参数改善更为明显;与基线相比,两组在 3 月时的中度牙周袋(PPD=5-7 mm)的数量显著减少、而轻度牙周袋(PPD \leq 4 mm)的数量显著增加,而且试验组的改善较对照组更加显著。

Ikram 等^[42]首次比较罗伊氏乳杆菌或全身抗生素辅助 SRP 治疗效果,结果发现 SRP 联合使用罗伊氏乳杆菌 DSM 17938、ATCC PTA 5289 或全身抗生素(阿莫西林+甲硝唑)对探诊出血(bleeding on probing, BOP)、PI、PPD 和 CAL 等各项牙周临床参数均有相似的改善,这表明两种辅助治疗方法在缓解牙周炎症和改善牙周预后方面有相似的疗效。Morales 等^[43]对慢性牙周炎患者进行 SRP 后,也发现辅助使用鼠李糖乳杆菌 SP1 组和阿奇霉素组的 CAL、PPD 和 BOP 都得到了明显改善,表明辅助使用鼠李糖乳杆菌 SP1 与阿奇霉素具有相似的临床治疗效果。

Laleman 等^[44]对刮治后残留 PPD \geq 5 mm 的牙周袋并伴有 BOP 的患者使用罗伊氏乳杆菌 DSM 17938 和 ATCC PTA 5289 含片,24 周后发现该组的总体 PPD 相比安慰剂组显著降低,这种差异在中度(4-6 mm)和深度(\geq 7 mm)牙周袋中更加明显;在罗伊氏乳杆菌组中,第 24 周 PPD \geq 4 mm 的牙周袋减少、PPD \leq 3 mm 的牙周袋

增加,需要手术的部位显著减少。Teughels 等^[45]发现,慢性牙周炎患者在 SRP 辅助使用罗伊氏乳杆菌 DSM 17938 和 ATCC PTA 5289 含片形式的益生菌 3 个月后,该组和仅接受 SRP 组的临床参数均显著改善,而在中、深度牙周袋中,联合使用益生菌组的 PPD 减少和 CAL 增加更为显著。这与 Penala 等^[46]的研究结果相一致。

Theodoro 等^[47]发现,使用罗伊氏乳杆菌 DSM 17938 含片辅助治疗吸烟患者的慢性牙周炎,其 PPD、BOP 改善优于仅接受 SRP 组,这表明对于有吸烟习惯的慢性牙周炎患者,益生菌制剂同样具有辅助治疗效果。

Alshareef 等^[48]对慢性牙周炎患者 SRP 后辅助口服益生菌含片(含嗜酸乳杆菌 HA-122、干酪乳杆菌 HA-108、双歧杆菌 HA-132、鼠李糖乳杆菌 HA-111 和唾液乳杆菌 HA-118) 30 d,对照组仅接受 SRP,结果发现对照组和试验组的临床牙周参数都得到显著降低;相较于对照组,试验组的出血指数(bleeding index, BI)得到显著降低,但 PI、PPD、CAL 无明显改善。还有研究对慢性牙周炎患者 SRP 后辅助应用罗伊氏乳杆菌 DSM 17938 和 ATCC PTA 5289 含片,在第 21、90、180 及 360 天发现患者的 PI、GI、BOP 和 PD 均得到明显改善^[49]。可见,辅助使用益生菌时细菌种类与组合等的选择及治疗周期可能影响临床治疗效果。因此,益生菌的牙周治疗效果值得进一步阐明。

此外,两项研究^[50-51]均对种植体周围炎非手术治疗中罗伊氏乳杆菌 DSM 17938 和 ATCC PTA 5289 辅助治疗情况进行了分析,结果发现 PPD 和 BOP 显著减少。然而, Laleman 等^[52]研究却发现使用罗伊氏乳杆菌 DSM 17938 和 ATCC PTA 5289 辅助治疗种植体周围炎无额外的效果,这可能与种植体类型、炎症程度等有关。尽管如此,我们认为益生菌的使用为预防和辅助

治疗种植体周围疾病提供了一种新的可选方案, 但需要对其多种变量、参数进行标准化及更大规模和多中心研究来进一步阐明。

2.2.2 改善牙周病微生物学和免疫学指标

Invernici 等^[53]评估了双歧杆菌 HN019 在广泛型慢性牙周炎患者非手术牙周治疗中的抗菌和免疫效果, 对照组仅接受 SRP, 试验组接受 SRP 后每天口服双歧杆菌 HN019 含片, 研究结果发现双歧杆菌 HN019 能够粘附于口腔上皮细胞, 从而降低 *P. gingivalis* ATCC 33277 对口腔上皮细胞的粘附, 试验组牙周组织中的 β 防御素-3 (beta-defensin-3, BD-3)、Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 表达量和 CD4⁺ 细胞数高于对照组。该课题组前期研究还发现, 慢性牙周炎患者 SRP 后辅助应用双歧杆菌 HN019 后, 患者的红色和橙色复合体微生物明显减少, 其龈沟液中促炎细胞因子 IL-8、IL-1 β 的表达水平低于未接受益生菌治疗的患者, 而 IL-10 表达水平显著高于未接受益生菌治疗的患者^[54]。

3 益生菌防治牙周病的可能机制

益生菌在口腔的作用机制与胃肠道的作用机制类似, 主要通过产生抑菌物质、刺激局部免疫反应、与致病细菌争夺黏膜受体和营养物质, 以及改变口腔与肠道微生态的组成、减少过度炎症反应等发挥作用。

3.1 产生抗牙周致病菌的化合物

益生菌产生的多种代谢产物可作为抗菌剂, 如有机酸、过氧化氢、细菌素和类细菌素等抑菌物质来抑制致病微生物的生长。Pangsomboon 等^[55]研究发现, 一种来自副干酪乳杆菌 HL32 的细菌素能够引起病原体胞膜肿胀和孔隙形成, 从而杀死主要牙周致病菌 *P. gingivalis* ATCC 33277。有研究证明, 罗伊氏乳杆菌 KCTC 3594 和 KCTC 3678 产生的有机酸和过氧化氢可以完全抑制

F. nucleatum ATCC 10953 和 *P. gingivalis* ATCC 33277 产生甲硫醇(methyl mercaptan, CH₃SH), 而 CH₃SH 可降低牙周膜细胞内 pH 并抑制细胞迁移、促进牙周病的发生与发展^[56]。另外, Huang 等^[57]研究发现, 在停止刷牙后的 24–72 h 内, 牙龈存在一个无症状的“亚健康”(suboptimal health, SoH) 状态, 期间牙菌斑微生物组、代谢物和唾液细胞因子发生快速而规律性的改变, 11 种唾液细胞因子被激活, 而菌斑衍生的甜菜碱和良性菌罗斯菌属(*Rothia* spp.) 均快速减少。牙菌斑中可能具有“促健康”或“抗炎”效能的共生菌或其产物, 甜菜碱和良性菌罗斯菌属对牙周健康可能具有保护作用, 而甜菜碱可能是罗斯菌属的代谢产物。甜菜碱和罗斯菌属可能作为新的益生元或益生菌促进牙周健康, 但这些尚需要进一步实验研究验证。

3.2 调节宿主的免疫反应

益生菌能通过激活巨噬细胞和淋巴细胞、增强细胞介导的免疫反应, 以及提高 T 淋巴细胞增殖、单核细胞吞噬能力和自然杀伤细胞(natural killer cell, NK) 杀瘤活性, 从而增强宿主的免疫调节功能, 影响促炎细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-8、IL-6) 和抗炎因子(IL-10) 的表达水平^[58]。此外, 它们还提高唾液中免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, IgA) 抗体表达, 从而改善口腔免疫力^[59]。Shin 等^[60]发现, 用不同牙周病原菌的 LPS 处理 THP-1 细胞, 在牙周病原菌(*P. gingivalis* ATCC 33277、*F. nucleatum* ATCC 25586、福赛坦氏菌 ATCC 43037 和齿垢密螺旋体 ATCC 35405) 存在的情况下, 乳酸乳球菌 HY449 能降低这些牙周病原菌脂多糖诱导的 IL-6 和 TNF- α 的表达水平。

3.3 竞争排斥机制

益生菌通过阻碍致病菌的黏附定殖和竞争相同的营养物质, 从而抑制病原体的生长, 改善口腔健康。研究发现 *P. gingivalis* ATCC 33277

的细胞毒性可能会导致牙龈上皮细胞的部分死亡和细胞数量的减少,当嗜酸乳杆菌 ATCC 4356 与 *P. gingivalis* 共培养时,嗜酸乳杆菌可减弱 *P. gingivalis* 对牙龈上皮细胞增殖的抑制作用,并可减弱 *P. gingivalis* 诱导的细胞凋亡^[61]。还有学者^[26]研究发现, *P. gingivalis* W83 和 ATCC 33277 能黏附和侵袭牙龈上皮细胞,使细胞活力显著下降,分泌炎症介质 TNF- α 和 IL-1 β 水平升高,表达 TLR4 水平上调;在与罗伊氏乳杆菌 DSM 17938、鼠李糖乳杆菌 Lr-32 和 HN001 等 12 种益生菌共培养后, *P. gingivalis* 对牙龈上皮细胞的黏附和侵袭降低, IL-1 β 和 TNF- α 的合成减少, TLR4 表达下调,表明益生菌的应用改变了 *P. gingivalis* 与上皮细胞之间的相互作用。而先前的研究表明, *P. gingivalis* 主要通过激活 TLR4 诱导促炎介质(如 TNF- α 和 IL-1 β)的合成与分泌增加,而这些细胞因子有助于维持局部炎症反应,并导致牙周结缔组织中的细胞外基质降解和破骨细胞生成^[62]。

4 益生菌的安全性

益生菌越来越多地用于预防、治疗或减轻疾病,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)将其认证为“公认安全”,并且应用某些益生菌种类添加到食物中。尽管传统观点认为益生菌是安全的,尚未有报道健康人群应用益生菌制剂会产生不良反应,但对于早产儿、免疫缺陷患者、短肠综合征患者等特定风险患者应慎用。2002 年 WHO 和 FAO 发布一份报告认为,益生菌可能会引起系统性感染、干扰代谢、刺激免疫系统、基因转移、胃肠道症状等副作用,在评估益生菌制剂的安全性时必须考虑以上因素^[63]。目前还未报道益生菌制剂辅助治疗牙周炎出现不良反应,

但由于缺乏关于益生菌具体作用机制、适当的给药方案及益生菌间相互作用的充分信息,因此需要在这些领域进行更为深入的研究。

5 展望

益生菌在牙周病的辅助治疗方面已经被证实发挥着重要作用,但对益生菌在口腔疾病防治中作用机制的研究仍处于探索阶段。目前已明确的是,益生菌主要是通过调节宿主的免疫反应、产生抗牙周病原体的抑菌物质、与牙周致病菌竞争营养物质等来逆转牙周炎中微生物菌群的失调,从而辅助牙周病的治疗。随着合成生物学领域的研究进展,益生菌的基因工程变得越来越容易,这促进了靶向治疗癌症、感染、代谢紊乱、炎症等疾病的研究发展^[64]。益生菌基因工程提供了将益生菌作为口服疫苗载体的可能性,使用活细菌载体特别是乳酸菌作为疫苗传递载体,具有口服给药和黏膜免疫刺激的优势,肠道相关淋巴组织(gut-associated lymphoid tissue, GALT)被用于诱导体液和细胞免疫反应,肠道免疫系统对许多乳酸菌具有天然耐受性,所以反复给药后发生过敏的风险很小^[65]。牙周病原体具有菌毛、脂多糖、蛋白酶、荚膜多糖等毒力因子,这些毒力因子有可能刺激宿主的免疫应答;同时,它们也可以被作为疫苗的靶点,由于牙周炎是复杂的多微生物感染疾病,研究人员试图通过生物膜内靶向特定革兰氏阴性厌氧病原体的抗原来开发牙周疫苗,这可能需要确定多种与疾病发病机制有关的细菌物种^[66]。利用重组益生菌作为牙周炎口服疫苗载体的应用可能是将来的一种潜在治疗方式,但还需要进一步的研究。目前,虽然益生菌已经广泛应用于胃肠道疾病防治,但对于辅助治疗口腔疾病的临床研究仍不多,对于菌株的类别、剂量、频率和给药途径等尚缺乏标准化体系,在临床实

践中使用益生菌辅助治疗前应仔细考虑这些问题, 为进一步开发和利用益生菌提供可靠依据。

REFERENCES

- [1] WADE WG. The oral microbiome in health and disease[J]. *Pharmacological Research*, 2013, 69(1): 137-143.
- [2] ZHANG YH, WANG X, LI HX, NI C, DU ZB, YAN FH. Human oral microbiota and its modulation for oral health[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 99: 883-893.
- [3] 李霞, 胡琳琳, 何权敏, 高丽, 葛颂. 牙龈卟啉单胞菌脂多糖对共培养体系中人脐动脉平滑肌细胞增殖及迁移能力的影响[J]. *中华口腔医学杂志*, 2021, 56(6): 549-556.
- LI X, HU LL, HE QM, GAO L, GE S. Effects of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide on the proliferation and migration of human umbilical artery smooth muscle cells under co-culture conditions[J]. *Chinese Journal of Stomatology*, 2021, 56(6): 549-556 (in Chinese).
- [4] POLAK D, SANUI T, NISHIMURA F, SHAPIRA L. Diabetes as a risk factor for periodontal disease-plausible mechanisms[J]. *Periodontology* 2000, 2020, 83(1): 46-58.
- [5] QIAN XS, ZHANG S, DUAN L, YANG FC, ZHANG K, YAN FH, GE S. Periodontitis deteriorates cognitive function and impairs neurons and *Glia* in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 2021, 79(4): 1785-1800.
- [6] RETAMAL-VALDES B, TEUGHELIS W, OLIVEIRA LM, da SILVA RN, FRITOLI A, GOMES P, SOARES GMS, TEMPORÃO N, FURQUIM CP, DUARTE PM, DOYLE H, FAVERI M, FIGUEIREDO LC, FERES M. Clinical, microbiological, and immunological effects of systemic probiotics in periodontal treatment: study protocol for a randomized controlled trial[J]. *Trials*, 2021, 22(1): 283.
- [7] VIVES-SOLER A, CHIMENOS-KÜSTNER E. Effect of probiotics as a complement to non-surgical periodontal therapy in chronic periodontitis: a systematic review[J]. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 2020, 25(2): e161-e167.
- [8] HAJISHENGALLIS G, LAMONT RJ. Polymicrobial communities in periodontal disease: their quasi-organismal nature and dialogue with the host[J]. *Periodontology* 2000, 2021, 86(1): 210-230.
- [9] HAJISHENGALLIS G, LAMONT RJ. Dancing with the stars: how choreographed bacterial interactions dictate nososymbiocity and give rise to keystone pathogens, accessory pathogens, and pathobionts[J]. *Trends in Microbiology*, 2016, 24(6): 477-489.
- [10] HAJISHENGALLIS G, LAMONT RJ. Breaking bad: manipulation of the host response by *Porphyromonas gingivalis*[J]. *European Journal of Immunology*, 2014, 44(2): 328-338.
- [11] FLEMMING HC, WINGENDER J, SZEWZYK U, STEINBERG P, RICE SA, KJELLEBERG S. Biofilms: an emergent form of bacterial life[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(9): 563-575.
- [12] BOWEN WH, BURNE RA, WU H, KOO H. Oral biofilms: pathogens, matrix, and polymicrobial interactions in microenvironments[J]. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(3): 229-242.
- [13] AI RX, NIE M, YANG JM, DENG DM. Effects of antibiotics versus repeated applications of photodynamic therapy as an adjunctive treatment for periodontitis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery*, 2021, 39(3): 211-220.
- [14] 王晖, 康迪, 周学东, 李雨庆. 微生态调节技术在感染性疾病预防中的应用[J]. *华西口腔医学杂志*, 2018, 36(5): 564-567.
- WANG H, KANG D, ZHOU XD, LI YQ. Prevention of infectious diseases through microecology modulation techniques[J]. *West China Journal of Stomatology*, 2018, 36(5): 564-567 (in Chinese).
- [15] MORELLI L, CAPURSO L. FAO/WHO guidelines on probiotics: 10 years later[J]. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2012, 46 suppl: S1-S2.
- [16] CHEN MS, FENG Y, LIU WL. Efficacy and safety of probiotics in the induction and maintenance of inflammatory bowel disease remission: a systematic review and meta-analysis[J]. *Annals of Palliative Medicine*, 2021, 10(11): 11821-11829.
- [17] NG QX, PETERS C, VENKATANARAYANAN N, GOH YY, HO CYX, YEO WS. Use of *Lactobacillus* spp. to prevent recurrent urinary tract infections in females[J]. *Medical Hypotheses*, 2018, 114: 49-54.
- [18] MULLISH BH, MARCHESI JR, MCDONALD JAK, PASS DA, MASETTI G, MICHAEL DR, PLUMMER S, JACK AA, DAVIES TS, HUGHES TR, WANG DL. Probiotics reduce self-reported symptoms of upper respiratory tract infection in overweight and obese adults: should we be considering probiotics during viral

- panemics?[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1900997.
- [19] SANDOVAL F, FALEIROS S, CABELLO R, DÍAZ-DOSQUE M, RODRÍGUEZ G, ESCOBAR A. The consumption of milk supplemented with probiotics decreases the occurrence of caries and the salivary concentration of hβD-3 in children[J]. *Clinical Oral Investigations*, 2021, 25(6): 3823-3830.
- [20] RIBEIRO FC, ROSSONI RD, de BARROS PP, SANTOS JD, FUGISAKI LRO, LEÃO MPV, JUNQUEIRA JC. Action mechanisms of probiotics on *Candida* spp. and candidiasis prevention: an update[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2020, 129(2): 175-185.
- [21] LEE DS, LEE SA, KIM M, NAM SH, KANG MS. Reduction of halitosis by a tablet containing *Weissella cibaria* CMU: a randomized, double-blind, placebo-controlled study[J]. *Journal of Medicinal Food*, 2020, 23(6): 649-657.
- [22] YANG KM, KIM JS, KIM HS, KIM YY, OH JK, JUNG HW, PARK DS, BAE KH. *Lactobacillus reuteri* AN417 cell-free culture supernatant as a novel antibacterial agent targeting oral pathogenic bacteria[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 1631.
- [23] CORNACCHIONE LP, KLEIN BA, DUNCAN MJ, HU LT. Interspecies inhibition of *Porphyromonas gingivalis* by yogurt-derived *Lactobacillus delbrueckii* requires active pyruvate oxidase[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2019, 85(18): e01271-e01219.
- [24] JIA GC, LIU XF, ZHI AM, LI JJ, WU YF, ZHANG Y. Characterization and selection of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus paracasei* for prevention of oral bacterial infections from Chinese pickle[J]. *AMB Express*, 2021, 11(1): 84.
- [25] LAZARENKO L, BABENKO L, SICHEL LS, PIDGORSKYI V, MOKROZUB V, VORONKOVA O, SPIVAK M. Antagonistic action of lactobacilli and bifidobacteria in relation to *Staphylococcus aureus* and their influence on the immune response in cases of intravaginal staphylococcosis in mice[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2012, 4(2): 78-89.
- [26] ALBUQUERQUE-SOUZA E, BALZARINI D, ANDO-SUGUIMOTO ES, ISHIKAWA KH, SIMIONATO MRL, HOLZHAUSEN M, MAYER MPA. Probiotics alter the immune response of gingival epithelial cells challenged by *Porphyromonas gingivalis*[J]. *Journal of Periodontal Research*, 2019, 54(2): 115-127.
- [27] HUCK O, MULHALL H, RUBIN G, KIZELNIK Z, IYER R, PERPICH JD, HAQUE N, CANI PD, de vos WM, AMAR S. *Akkermansia muciniphila* reduces *Porphyromonas gingivalis*-induced inflammation and periodontal bone destruction[J]. *Journal of Clinical Periodontology*, 2020, 47(2): 202-212.
- [28] RICOLDI MST, FURLANETO FAC, OLIVEIRA LFF, TEIXEIRA GC, PISCHIOTINI JP, MOREIRA ALG, ERVOLINO E, de OLIVEIRA MN, BOGSAN CSB, SALVADOR SL, MESSORA MR. Effects of the probiotic *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis on the non-surgical treatment of periodontitis. a histomorphometric, microtomographic and immunohistochemical study in rats[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179946.
- [29] PRESCOTT SL, WICKENS K, WESTCOTT L, JUNG W, CURRIE H, BLACK PN, STANLEY TV, MITCHELL EA, FITZHARRIS P, SIEBERS R, WU L, CRANE J, GROUP PS, BLACK P, CRANE J, FITZHARRIS P, GREEN C, JONES B, LAMPSHIRE P, LESTER S, et al. Supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* or *Bifidobacterium lactis* probiotics in pregnancy increases cord blood interferon-gamma and breast milk transforming growth factor-beta and immunoglobulin A detection[J]. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 2008, 38(10): 1606-1614.
- [30] OUWEHAND AC, BERGSMAN N, PARHIALA R, LAHTINEN S, GUEIMONDE M, FINNE-SOVERI H, STRANDBERG T, PITKÄLÄ K, SALMINEN S. *Bifidobacterium* microbiota and parameters of immune function in elderly subjects[J]. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2008, 53(1): 18-25.
- [31] DEREKA XE, MARKOPOULOU CE, VROTSOS IA. Role of growth factors on periodontal repair[J]. *Growth Factors*, 2006, 24 (4): 260-267.
- [32] MAEKAWA T, HAJISHENGALLIS G. Topical treatment with probiotic *Lactobacillus brevis* CD2 inhibits experimental periodontal inflammation and bone loss[J]. *Journal of Periodontal Research*, 2014, 49(6): 785-791.
- [33] OLIVEIRA LFF, SALVADOR SL, SILVA PHF, FURLANETO FAC, FIGUEIREDO L, CASARIN R, ERVOLINO E, PALIOTO DB, SOUZA SLS, TABA M JR, NOVAES AB Jr, MESSORA MR. Benefits of *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis probiotic in experimental periodontitis[J]. *Journal of Periodontology*,

- 2017, 88(2): 197-208.
- [34] MESSORA MR, PEREIRA LJ, FOUREAUX R, OLIVEIRA LFF, SORDI CG, ALVES AJN, NAPIMOGA MH, NAGATA MJH, ERVOLINO E, FURLANETO FAC. Favourable effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on experimental periodontitis in rats[J]. Archives of Oral Biology, 2016, 66: 108-119.
- [35] PARK SY, KIM YH, KIM EK, RYU EY, LEE SJ. Heme oxygenase-1 signals are involved in preferential inhibition of pro-inflammatory cytokine release by surfactin in cells activated with *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide[J]. Chemico-Biological Interactions, 2010, 188(3): 437-445.
- [36] FOUREAUX R, MESSORA MR, de OLIVEIRA LFF, NAPIMOGA MH, PEREIRA ANJ, FERREIRA MS, PEREIRA LJ. Effects of probiotic therapy on metabolic and inflammatory parameters of rats with ligature-induced periodontitis associated with restraint stress[J]. Journal of Periodontology, 2014, 85(7): 975-983.
- [37] MATSUMOTO M, SUDO T, SAITO T, OSADA H, TSUJIMOTO M. Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway in osteoclastogenesis mediated by receptor activator of NF-kappa B ligand (RANKL)[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(40): 31155-31161.
- [38] JIA LM, TU Y, JIA XY, DU Q, ZHENG X, YUAN Q, ZHENG LW, ZHOU XD, XU X. Probiotics ameliorate alveolar bone loss by regulating gut microbiota[J]. Cell Proliferation, 2021, 54(7): e13075.
- [39] JIA XY, YANG R, LI JY, ZHAO L, ZHOU XD, XU X. Gut-bone axis: a non-negligible contributor to periodontitis[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2021, 11: 752708.
- [40] DOĞAN B, DOĞAN ESK, ÖZMEN Ö, FENTOĞLU Ö, KIRZIOĞLU FY, CALAPOĞLU M. Synergistic effect of omega-3 and probiotic supplementation on preventing ligature-induced periodontitis[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2022, 14(1): 114-120.
- [41] JEBIN AA, NISHA KJ, PADMANABHAN S. Oral microbial shift following 1-month supplementation of probiotic chewable tablets containing *Lactobacillus reuteri* UBLRu-87 as an adjunct to phase 1 periodontal therapy in chronic periodontitis patients: a randomized controlled clinical trial[J]. Contemporary Clinical Dentistry, 2021, 12(2): 121-127.
- [42] IKRAM S, HASSAN N, BAIG S, BORGES KJJ, RAFFAT MA, AKRAM Z. Effect of local probiotic (*Lactobacillus reuteri*) vs. systemic antibiotic therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment in chronic periodontitis[J]. Journal of Investigative and Clinical Dentistry, 2019, 10(2): e12393.
- [43] MORALES A, GANDOLFO A, BRAVO J, CARVAJAL P, SILVA N, GODOY C, GARCIA-SESNICH J, HOARE A, DIAZ P, GAMONAL J. Microbiological and clinical effects of probiotics and antibiotics on nonsurgical treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled trial with 9-month follow-up[J]. Journal of Applied Oral Science: Revista FOB, 2018, 26: e20170075.
- [44] LALEMAN I, PAUWELS M, QUIRYNEN M, TEUGHELIS W. A dual-strain lactobacilli reuteri probiotic improves the treatment of residual pockets: a randomized controlled clinical trial[J]. Journal of Clinical Periodontology, 2020, 47(1): 43-53.
- [45] TEUGHELIS W, DURUKAN A, OZCELIK O, PAUWELS M, QUIRYNEN M, HAYTAC MC. Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study[J]. Journal of Clinical Periodontology, 2013, 40(11): 1025-1035.
- [46] PENALA S, KALAKONDA B, PATHAKOTA KR, JAYAKUMAR A, KOPPOLU P, LAKSHMI BV, PANDEY R, MISHRA A. Efficacy of local use of probiotics as an adjunct to scaling and root planing in chronic periodontitis and halitosis: a randomized controlled trial[J]. Journal of Research in Pharmacy Practice, 2016, 5(2): 86-93.
- [47] THEODORO LH, CLÁUDIO MM, NUERNBERG MAA, MIESSI DMJ, BATISTA JA, DUQUE C, GARCIA VG. Effects of *Lactobacillus reuteri* as an adjunct to the treatment of periodontitis in smokers: randomised clinical trial[J]. Beneficial Microbes, 2019, 10(4): 375-384.
- [48] ALSHAREEF A, ATTIA A, ALMALKI M, ALSHARIF F, MELIBARI A, MIRDAD B, AZAB E, YOUSSEF AR, DARDIR A. Effectiveness of probiotic lozenges in periodontal management of chronic periodontitis patients: clinical and immunological study[J]. European Journal of Dentistry, 2020, 14(2): 281-287.
- [49] TEKCE M, INCE G, GURSOY H, DIRIKAN IPCI S, CAKAR G, KADIR T, YILMAZ S. Clinical and microbiological effects of probiotic lozenges in the

- treatment of chronic periodontitis: a 1-year follow-up study[J]. *Journal of Clinical Periodontology*, 2015, 42(4): 363-372.
- [50] GALOFRÉ M, PALAO D, VICARIO M, NART J, VIOLANT D. Clinical and microbiological evaluation of the effect of *Lactobacillus reuteri* in the treatment of mucositis and peri-implantitis: a triple-blind randomized clinical trial[J]. *Journal of Periodontal Research*, 2018, 53(3): 378-390.
- [51] TADA H, MASAKI C, TSUKA S, MUKAIBO T, KONDO Y, HOSOKAWA R. The effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics combined with azithromycin on peri-implantitis: a randomized placebo-controlled study[J]. *Journal of Prosthodontic Research*, 2018, 62(1): 89-96.
- [52] LALEMAN I, PAUWELS M, QUIRYNEN M, TEUGHELIS W. The usage of a lactobacilli probiotic in the non-surgical therapy of peri-implantitis: a randomized pilot study[J]. *Clinical Oral Implants Research*, 2020, 31(1): 84-92.
- [53] INVERNICI MM, FURLANETO FAC, SALVADOR SL, OUWEHAND AC, SALMINEN S, MANTZIARI A, VINDEROLA G, ERVOLINO E, SANTANA SI, SILVA PHF, MESSORA MR. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* HN019 presents antimicrobial potential against periodontopathogens and modulates the immunological response of oral mucosa in periodontitis patients[J]. *PLoS One*, 2020, 15(9): e0238425.
- [54] INVERNICI MM, SALVADOR SL, SILVA PHF, SOARES MSM, CASARIN R, PALIOTO DB, SOUZA SLS, TABA M JR, NOVAES AB JR, FURLANETO FAC, MESSORA MR. Effects of *Bifidobacterium* probiotic on the treatment of chronic periodontitis: a randomized clinical trial[J]. *Journal of Clinical Periodontology*, 2018, 45(10): 1198-1210.
- [55] PANGSOMBOON K, KAEWNOPPARAT S, PITAKPORNPREECHA T, SRICHANA T. Antibacterial activity of a bacteriocin from *Lactobacillus paracasei* HL32 against *Porphyromonas gingivalis*[J]. *Archives of Oral Biology*, 2006, 51(9): 784-793.
- [56] KANG MS, OH JS, LEE HC, LIM HS, LEE SW, YANG KH, CHOI NK, KIM SM. Inhibitory effect of *Lactobacillus reuteri* on periodontopathic and cariogenic bacteria[J]. *The Journal of Microbiology*, 2011, 49(2): 193-199.
- [57] HUANG S, HE T, YUE F, XU XJ, WANG LJ, ZHU PF, TENG F, SUN Z, LIU XH, JING GC, SU XQ, JIN LJ, LIU JQ, XU J. Longitudinal multi-omics and microbiome meta-analysis identify an asymptomatic gingival state that links gingivitis, periodontitis, and aging[J]. *mBio*, 2021, 12(2): e03281-e03220.
- [58] ROCHA-RAMÍREZ LM, PÉREZ-SOLANO RA, CASTAÑÓN-ALONSO SL, MORENO GUERRERO SS, RAMÍREZ PACHECO A, GARCÍA GARIBAY M, ESLAVA C. Probiotic *Lactobacillus* strains stimulate the inflammatory response and activate human macrophages[J]. *Journal of Immunology Research*, 2017, 2017: 4607491.
- [59] LIN WY, KUO YW, CHEN CW, HUANG YF, HSU CH, LIN JH, LIU CR, CHEN JF, HSIA KC, HO HH. Viable and heat-killed probiotic strains improve oral immunity by elevating the IgA concentration in the oral mucosa[J]. *Current Microbiology*, 2021, 78(9): 3541-3549.
- [60] SHIN HS, BAEK DH, LEE SH. Inhibitory effect of *Lactococcus lactis* on the bioactivity of periodontopathogens[J]. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 2018, 64(2): 55-61.
- [61] ZHAO JJ, JIANG L, ZHU YQ, FENG XP. Effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Porphyromonas gingivalis* on proliferation and apoptosis of gingival epithelial cells[J]. *Advances in Medical Sciences*, 2019, 64(1): 54-57.
- [62] WANG PL, AZUMA Y, SHINOHARA M, OHURA K. Toll-like receptor 4-mediated signal pathway induced by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide in human gingival fibroblasts[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 273(3): 1161-1167.
- [63] DORON S, SNYDMAN DR. Risk and safety of probiotics[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2015, 60(suppl_2): S129-S134.
- [64] AGGARWAL N, BREEDON A, DAVIS CM, HWANG IY, CHANG MW. Engineering probiotics for therapeutic applications: recent examples and translational outlook[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2020, 65: 171-179.
- [65] SOLA-OLADOKUN B, CULLIGAN EP, SLEATOR RD. Engineered probiotics: applications and biological containment[J]. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2017, 8: 353-370.
- [66] MYNENI SR, BROCAVICH K, WANG HH. Biological strategies for the prevention of periodontal disease: probiotics and vaccines[J]. *Periodontology* 2000, 2020, 84(1): 161-175.