



乌鲁木齐市学龄前儿童乳牙列期和混合牙列期 口腔及肠道微生物组成的差异分析*

马婷^{1,2,3}, 连冰洁^{1,2,3}, 吴泽钰^{1,2,3}, 赵今^{1,2,3△}

1. 新疆医科大学第一附属医院(附属口腔医院)牙体牙髓病科(乌鲁木齐 830000); 2. 新疆维吾尔自治区口腔医学研究所(乌鲁木齐 830000); 3. 新疆维吾尔自治区口腔疾病临床医学研究中心(乌鲁木齐 830000)

【摘要】目的 分析学龄前儿童乳牙列与混合牙列的口腔及肠道微生物组成,探究不同牙列期儿童口腔和肠道菌群组成特点。**方法** 使用16S rRNA技术对10名乳牙列期和10名混合牙列期儿童口腔唾液及粪便进行三代测序,比较两组儿童口腔、肠道菌群微生物的组成及差异。**结果** 菌群丰富度(Chao1指数)、均匀度(Shannon指数)在口腔和肠道中的差异具有统计学意义($P=0.001$)。在门水平,厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)为儿童口腔和肠道的三大优势菌门。在属水平,儿童口腔唾液中奈瑟菌属(*Neisseria*)、链球菌属(*Streptococcus*)等丰度较高,肠道中拟杆菌属(*Bacteroides*)、粪杆菌属(*Faecalibacterium*)等为丰度较高的菌属。乳牙列期口腔标志菌为乳杆菌目 o_Lactobacillales (LDA=5.04, $P<0.001$),奈瑟菌属 g_Neisseria (LDA=5.15, $P<0.001$)为混合牙列期儿童口腔标志菌属,乳牙列期儿童肠道标志菌包括拟杆菌目 o_Bacteroidetes (LDA=5.17, $P<0.001$)、毛螺菌科 f_Lachnospiraceae (LDA=5.16, $P<0.001$)等,混合牙列期儿童肠道标志菌包括瘤胃球菌科 f_Ruminococcaceae (LDA=5.09, $P<0.001$)、粪杆菌属 g_Faecalibacterium (LDA=5.03, $P<0.001$)等。在微生物代谢功能上,口腔菌群在乳糖降解、硝酸还原等通路上调,肠道菌群在醋酸酯产甲烷通路较为活跃。**结论** 不同牙列期的儿童口腔及肠道微生物组成具有差异,随着牙列变化,儿童口腔、肠道菌群的构成多样性以及代谢功能也发生变化。

【关键词】 乳牙列期 混合牙列期 口腔微生物 肠道微生物 16S rRNA

Differences in Oral and Gut Microbiome Composition Among Preschool Children in Urumqi During the Deciduous and Mixed Dentition Periods

MA Ting^{1,2,3}, LIAN Bingjie^{1,2,3}, WU Zeyu^{1,2,3}, ZHAO Jin^{1,2,3△}. 1. Department of Endodontics, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University (Affiliated Stomatology Hospital), Urumqi 830000, China; 2. Stomatology Disease Institute of Xinjiang Uyghur Autonomous Region, Urumqi 830000, China; 3. Clinical Research Center for Oral Diseases of Xinjiang Uyghur Autonomous Region, Urumqi 830000, China

△ Corresponding author, E-mail: merryjin@sina.com

This study was supported by the Xinjiang Medical University University-Level Natural Science Youth Research Grant (No. 2024XYZR27).

[Abstract] Objective To analyze the oral and gut microbial composition in preschool children during the deciduous and mixed dentition stages, and to investigate the characteristics of microbiota across different dentition stages. **Methods** Using 16S rRNA gene-based third-generation sequencing, this study analyzed saliva and fecal samples collected from 10 children with deciduous dentition and 10 with mixed dentition. The composition and differences in oral and gut microbiota between the two groups were compared. **Results** The differences in microbial richness (Chao1 index) and evenness (Shannon index) between the oral cavity and intestine were statistically significant ($P = 0.001$). Firmicutes, Proteobacteria, and Bacteroidetes were the three dominant phyla at both sites. At the genus level, *Neisseria* and *Streptococcus* were abundant in the oral cavity, while *Bacteroides* and *Faecalibacterium* predominated in the gut. o_Lactobacillus (LDA = 5.04, $P < 0.001$) was identified as a marker genus in the oral cavity during the deciduous dentition period, while g_Neisseria (LDA = 5.15, $P < 0.001$) served as an oral marker genus in children with mixed dentition. In the gut, marker genera during the deciduous dentition period included o_Bacteroides (LDA = 5.17, $P < 0.001$) and f_Lachnospiraceae (LDA = 5.16, $P < 0.001$), whereas f_Ruminococcus (LDA = 5.09, $P < 0.001$) and g_Faecalibacterium

* 新疆医科大学校级自然科学青年研究项目(No. 2024XYZR27)资助

△ 通信作者, E-mail: merryjin@sina.com

(LDA = 5.03, $P < 0.001$) were marker genera during the mixed dentition period. Upregulation of pathways including lactose degradation and nitrate reduction was observed in the oral microbiota, in contrast to the gut microbiota, where enhanced activity of the methanogenesis from acetate pathway was noted. **Conclusion** The composition of oral and gut microbiota varies among children at different dentition stages. As dentition changes, the structural diversity and metabolic functions of both oral and gut microbiota also change.

[Key words] Deciduous dentition Mixed dentition Oral microbiota Gut microbiota 16S rRNA

口腔健康是全身健康的重要组成部分,而儿童时期是口腔微生物群落建立和定植的关键时期。学龄前儿童(通常指3~6岁)正处于牙列发育的重要阶段,经历着从乳牙列期(所有牙齿均为乳牙)到混合牙列期(乳牙逐渐脱落,恒牙开始萌出)的转变。这一时期的口腔环境经历着生理与解剖结构变化,对儿童的口腔乃至全身健康产生深远影响。在乳牙列期,儿童口腔中的微生物群落已初步建立,但结构相对简单,以链球菌、韦荣氏菌等为主要优势菌^[1]。随着第一颗恒磨牙和切牙的萌出,进入混合牙列期,口腔内的生态位点(如牙龈沟深度、邻接关系)发生改变,食物残渣更易滞留,这为更多样化、更复杂的微生物定植提供了条件^[2]。

肠道作为人体最大的微生态系统,在儿童期处于动态成熟过程。学龄前儿童的肠道菌群正从婴儿期的不稳定状态向成人化的稳定群落转变,以厚壁菌门和拟杆菌门为主导,儿童时期肠道菌群微生物系统的建立对整个青春期乃至成人后的身体健康稳态产生深远影响^[3]。近年来,越来越多的证据揭示了“口腔-肠轴”的存在,表明口腔与肠道这两个生态位点之间存在密切的微生物交流。例如,口腔中常见的链球菌和韦荣氏菌在肠道中被检测到,通常与肠道菌群失调有关^[4]。因此,研究儿童口腔与肠道菌群的共变关系,微生物群落的演替特征,是理解局部口腔疾病如何潜在影响全身健康的关键切入点。然而,在乳恒牙替换这一特定时期生理转折点,目前儿童口腔和肠道微生物尚缺乏系统性的研究。

在学龄前儿童生长发育期间,口腔、肠道的微生态与饮食习惯、健康保健行为、社会经济等各种因素存在阶段性、地方性关联^[5]。乌鲁木齐市具有特殊地理位置和饮食习惯,且目前针对乌鲁木齐市学龄前儿童乳牙列期和混合牙列期口腔及肠道微生物组成特点的研究尚不全面。综上所述,本研究拟聚焦于新疆乌鲁木齐地区的学龄前儿童,通过采集乳牙列期和混合牙列期儿童的唾液与粪便样本,运用16S rRNA基因高通量测序技术检测菌群组成差异,旨在比较两个牙列期儿童口腔唾液和肠道菌群的结构与功能特征。本研究结果将为乌鲁木齐市学龄前儿童口腔及肠道菌群微生物的动态研究奠定理论基础,为理解儿童口腔微生态发育提供新的视角,并为从微

生态调控角度预防儿童口腔疾病和促进消化道健康提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究开始前获得新疆医科大学第一附属医院伦理委员会审查批准(20170214-162),所有研究对象均签署知情同意书。本团队前期流行病学调查组采用分层、整群抽样方法对乌鲁木齐市8个区16所幼儿园进行口腔及体格流行病学调查,每所幼儿园再分为大、中、小班,每个层级抽取整1个班,共48个班,初步纳入838名儿童进行筛选。做测序分析时,根据纳入、排除标准,将符合条件的儿童采用简单随机抽样方法抽样。具体方法为:对符合条件的儿童进行编号,并在Excel表格中使用RAND函数及排序进行简单抽样。

纳入标准:(1)年龄3~6岁;(2)口腔健康,口内无龋坏、正畸装置等;(3)唾液及粪便样本留取前6个月内,无服用抗生素史、无应激状态(严重感染、创伤等)、无便秘、腹泻、腹痛等胃肠道症状及其他影响微生物组成的全身性疾病;(4)乳牙期儿童:口内全部20颗乳牙已萌出完毕且未见任何恒牙萌出;(5)混牙列期儿童:口腔内至少有一颗恒牙已萌出,并且至少有一颗乳牙尚未脱落。

排除标准:(1)患有龋病、釉质发育不全、牙髓炎、根尖炎、活动性软组织疾病等任何口腔疾病;(2)研究对象不能配合;(3)实验DNA检测结果不合格者。

最终抽取乳牙列期及混合牙列期儿童各10名。每人采集唾液及粪便样本,共计40份,分为乳牙列期口腔组(deciduous dentition-oral, D-Oral)、乳牙列期肠道组(deciduous dentition-gut, D-Gut)、混合牙列期口腔组(mixed dentition-oral, M-Oral)、混合牙列期肠道组(mixed dentition-gut, M-Gut)。

1.2 唾液及粪便采集

唾液样本的采集严格遵循国际通用的HMP标准操作规范,已确保样本一致性^[6],在儿童清晨空腹状态下收集非刺激性全唾液约5~10 mL,存放于无菌离心管中。收集好后用封口膜封口置于冰盒内,于2 h内放入-80 °C冰箱冻存。给研究对象发放粪便采集盒及粪菌基因保护液

(Microeco公司)进行粪便样本采集,严格按照产品说明书进行操作,将采集回来的粪便样本在无菌操作台上分装为3份,保存于 -80°C 冰箱保存备用。

1.3 DNA提取、PCR扩增及上机测序

采用Omega M5635-02试剂盒对样本基因组DNA进行提取,DNA质量检测合格者进行文库制备。以正向AGAGTTTGATCMTGGCTCAG、反向ACCTTGTTACGACTT为引物,对16S rRNA基因全区进行扩增。测序工作委托派森诺公司在PacBio平台上对群落DNA片段开展双端测序。产生的原始数据进一步通过QIIME2(2019.4版本)流程进行质控和物种注释。

1.4 生物信息学分析

对原始序列进行去引物、去噪等过程后,对非单例扩增子序列变异(non-singleton amplicon sequence, asvs)进行比对聚类,与人类口腔微生物组数据库和《人肠道微生物组参考基因集》(an integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome)进行比对和分类注释。在门、科、属、种4个水平进行物种组成分析,在各组之间进行菌群多样性及差异性分析,同时采用基于线性判别分析效应大小的方法(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)对所有分类水平完成组间标志菌群筛选。PICRUST2软件对菌群代谢功能潜能进行预测分析。

1.5 统计学方法

通过SPSS 26.0统计软件,对于分类变量(性别、族别)的组间比较使用卡方检验,若存在期望频数小于5的情况,则使用Fisher精确检验。对于年龄、各分类水平上的物种丰度等计量资料,符合正态性检验者采用两独立样本 t 检验进行比较分析,否则采用非参数(Wilcoxon)秩和检验。

物种丰度与功能通路比较数据结果为测序公司完成,并在系统平台上传,功能通路数据均进行了多重比较校正(FDR校正)。在物种组成分析及差异分析时,使用Wilcoxon秩和检验展示物种组成分析中各物种丰度最高的组,并检验该分组与余下样本相比的差异,FDR校正的 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

α 多样性通过Chao1指数(物种丰富度)、Goods_coverage指数(测序覆盖度)、Shannon指数(综合丰富度与均匀度)、Simpson指数(优势种集中度)四个指标评估。通过Kruskal-Wallis秩和检验和dunn's test作为事后检验,验证不同样本组之间的Alpha多样性差异。双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

基于Weighted-UniFrac矩阵距离等 β 多样性分析,进行主坐标分析(principal coordinate analysis, PCoA)及

NMDS分析评估组间微生物结构的差异。PCoA是基于由物种组成计算的weighted UniFrac距离矩阵得出的,对各组样本进行降维排序,用于反映样本间群落差异。双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

物种丰度比较结果以LEfSe分析为主要差异分析方法。LEfSe分析是一种将非参数的Kruskal-Wallis以及Wilcoxon秩和检验,与线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)效应量(effect size)相结合的分析手段,LEfSe的统计框架本身已通过内部的多重检验控制、后续的LDA效应量筛选的方式控制了假阳性。内部的多重检验控制:先对每个分类单元进行Kruskal-Wallis秩和检验(多组)或Wilcoxon秩和检验(两组),然后使用Bonferroni校正来控制家族式错误率(FWER),以此对所有分类水平进行差异分析;LDA效应量筛选:将LDA值设置为5,来寻找分组之间稳健的具有统计学意义的差异物种及标志物种。双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象基本特征及测序结果

纳入的儿童性别、族别等在两组间无明显差异($P > 0.05$)。年龄在混合牙列组及乳牙列组的组间差异具有统计学意义($P < 0.001$),见表1。

表1 研究对象基本信息

Table 1 Demographic and clinical characteristics				
Characteristic	<i>n</i>	Deciduous dentition	Mixed dentition	<i>P</i>
Age/month	20	55.50 ± 6.43	73.60 ± 4.43	< 0.001
Ethnicity/case				0.661
Han	12	7	5	
Ethnic minorities	8	3	5	
Gender/case				1.000
Male	13	7	6	
Female	7	3	4	

本研究20名儿童40份样本共获得154757条有效序列,使用QIIME软件根据各样本序列量及ASV数绘制稀疏曲线(图1)及丰度等级曲线(附图1),稀疏曲线最终趋于平缓,代表本研究测序深度高,继续增加测序深度已无新ASV被检测到,当前测序深度能够反映样本物种多样性;丰度等级曲线图中各折线在横轴上的长度尚可,走向平缓,代表本研究对应样本微生物群落丰度良好且分布较均匀。附图1见网络资源附件。

2.2 Alpha多样性分析

α 多样性分析结果如图2所示,Goods_coverage指数在

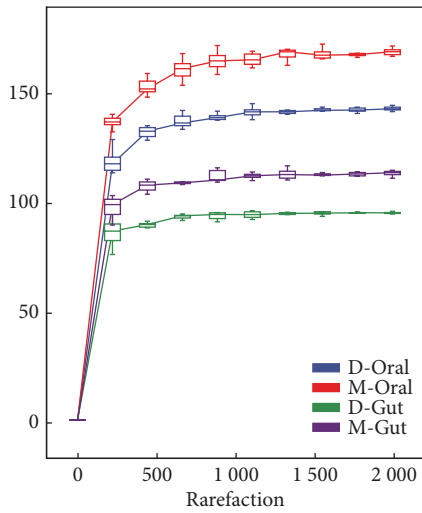


图 1 稀疏曲线

Fig 1 Rarefaction curve

D-Oral: deciduous dentition-oral; M-Oral: mixed dentition-oral; D-Gut: deciduous dentition-gut; M-Gut: mixed dentition-gut. Rarefaction curve: The horizontal axis represents the rarefaction depth, and the vertical axis represents the median alpha diversity index shown as a boxplot. In the boxplot, the upper and lower ends of the box indicate the interquartile range (IQR); the midline shows the median; and the upper and lower edges represent the maximum and minimum values.

四组均达到了 > 95% 的物种覆盖度, 表明测序深度足够覆盖群落中所有物种。Chao1 指数和 Shannon 指数在四组之间差异具有统计学意义 ($P = 0.001$, $P = 0.033$), 口腔组物种丰富度 (Chao1) 与均匀度 (Shannon) 均高于肠道微生物, 但乳牙列和混合牙列之间的口腔微生物无明显差异 ($P > 0.05$), 提示口腔微生物物种更丰富, 分布也较均衡。

2.3 Beta多样性分析

PCoA 分析及 NMDS 分析 (图 3) 显示口腔与肠道微生物

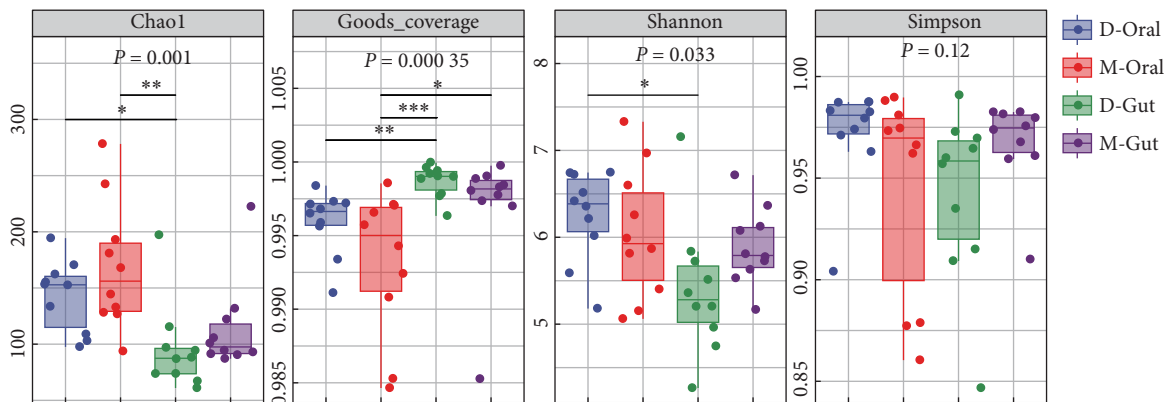


图 2 Alpha多样性分析

Fig 2 Analysis of alpha diversity

D-Oral, M-Oral, D-Gut, and M-Gut have the same meanings as in Fig 1. Each panel corresponds to an alpha diversity index, labeled in the gray area at the top. In each panel, the horizontal axis shows the group labels, and the vertical axis shows the values of the corresponding alpha diversity index. In the boxplot, the upper and lower edges of the box represent the interquartile range (IQR); the midline represents the median; the upper and lower whiskers represent the maximum and minimum values within 1.5 times the IQR; and points outside the whiskers represent outliers. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

物组间分离较为明显, 说明微生物组成与定植部位关系密切, 而乳牙类和混合牙列期的口腔、肠道微生物组内样本聚集性较好。PCo1 (44.5% 变异): 是群落差异的主要驱动因素, 分离了口腔与肠道样本, PCo2 (9.7% 变异): 解释了次要差异, 可能反映了组内细分差异 (如乳牙列与混合牙列的区别)。

2.4 微生物物种组成及差异分析

用 ASV 丰度表制作韦恩图, 各组独有的以及组间共有的 ASV 的个数见图 4A。根据微生物组成分析 (图 4B、4C) 可见, 乳牙列期和混合牙列期儿童的口腔及肠道菌群微生物组成存在差异。在门水平, 儿童口腔和肠道中厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidete) 为三大优势菌门, 丰度占比超过 90%。在属水平, 儿童口腔唾液中奈瑟菌属 (*Neisseria*)、链球菌属 (*Streptococcus*)、普雷沃氏菌属 (*Prevotella*)、嗜血杆菌属 (*Haemophilus*) 相对丰度较高, 而肠道中优势菌属包括拟杆菌属 (*Bacteroides*)、粪杆菌属 (*Faecalibacterium*)、普雷沃氏菌属 (*Prevotella*) 以及布劳特菌属 (*Blautia*)。

使用 LEfSe 分析对组间所有分类水平物种进行差异分析, 并绘制 LDA 柱状图, 以寻找组间稳健的标志物种。选取 LDA > 5, $P < 0.05$ 的差异物种作为组间标志物, 结果可见 (图 5 及附图 2): 在 D-Oral 组, 标志菌为乳杆菌目 o_Lactobacillales (LDA = 5.04, $P < 0.001$), 在 M-Oral 组, 标志菌为变形菌门 p_Proteobacteria (LDA = 5.26, $P < 0.001$), β -变形菌纲 c_Betaproteobacteria (LDA = 5.19, $P < 0.001$), 奈瑟菌目 o_Neisseriales (LDA = 5.16, $P < 0.001$), 奈瑟氏菌科 f_Neisseriaceae (LDA = 5.16, $P < 0.001$), 奈瑟氏菌属 g_Neisseria (LDA = 5.15, $P < 0.001$); D-Gut 组标志菌包括拟

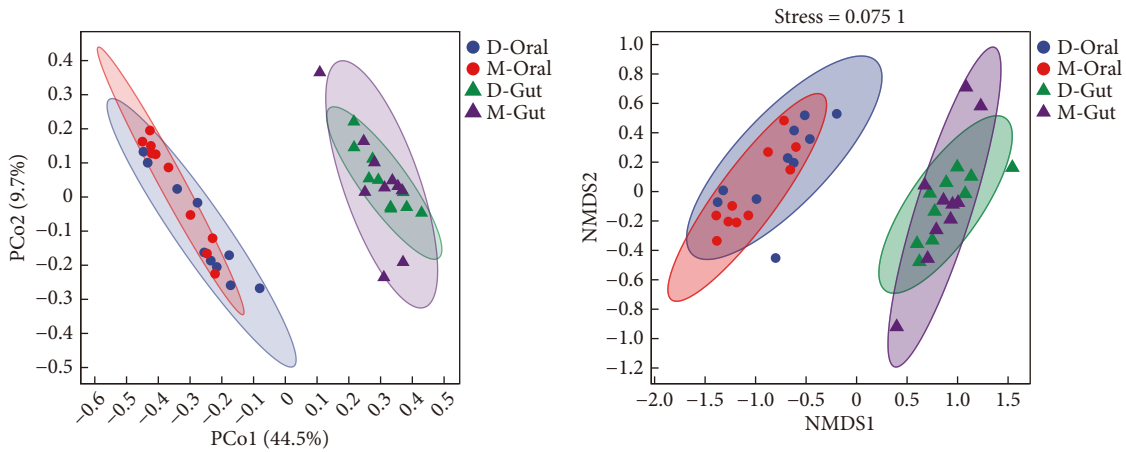


图 3 Beta多样性分析

Fig 3 Beta diversity analysis

D-Oral, M-Oral, D-Gut, and M-Gut have the same meanings as in Fig 1. Each point in the graph represents a sample, with different colors indicating different groups. The percentages in parentheses on the coordinate axes indicate the proportion of sample variance (from the distance matrix) explained by each axis.

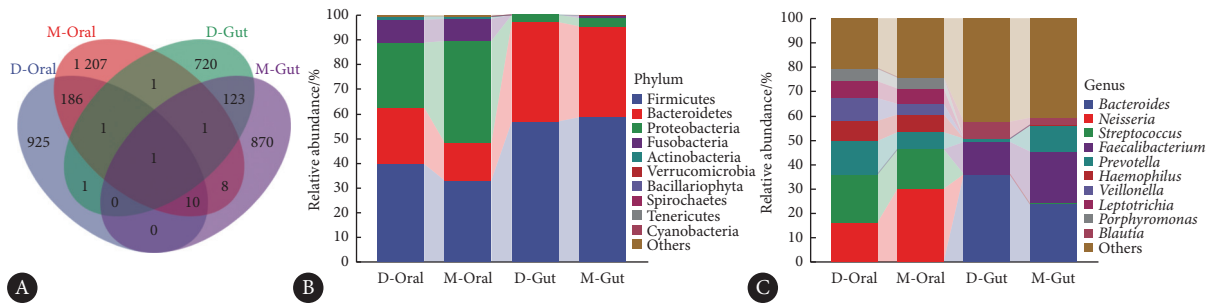


图 4 Venn图及物种组成分析

Fig 4 Venn diagram and species composition analysis plot

D-Oral, M-Oral, D-Gut, and M-Gut have the same meanings as in Fig 1. A, Venn diagram; B and C, taxonomic composition and abundance distribution at the phylum and genus levels.

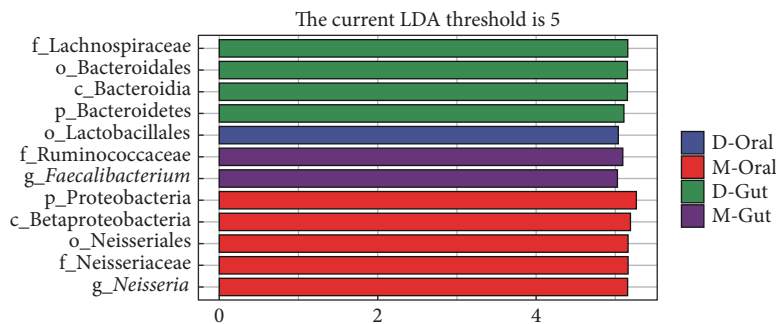


图 5 组间具有差异的分类单元柱状图

Fig 5 Linear discriminant analysis (LDA) identifies taxa with significant differences between groups

D-Oral, M-Oral, D-Gut, and M-Gut have the same meanings as in Fig 1. Bar chart: The vertical axis lists taxa with significant intergroup differences, while the horizontal axis shows the LDA analysis logarithmic score values for each taxon using bar graphs. Taxa are sorted by their score values to indicate their specificity within sample groups. A longer bar indicates greater significance of the taxon's differential expression, and the bar color corresponds to the sample group with the highest abundance of that taxon.

杆菌门p_Bacteroidetes(LDA= 5.15, $P < 0.001$), 拟杆菌纲c_Bacteroidia(LDA= 5.15, $P < 0.001$), 拟杆菌目o_Bacteroidales(LDA= 5.17, $P < 0.001$), 毛螺菌科

f_Lachnospiraceae(LDA= 5.16, $P < 0.001$); M-Gut组标志物种包括: 瘤胃球菌科f_Ruminococcaceae(LDA= 5.09, $P < 0.001$), 粪杆菌属g_Faecalibacterium(LDA= 5.03,

$P < 0.001$)。附图2见网络资源附件。

2.5 微生物代谢功能潜能预测分析

使用PICRUST2将16S rRNA基因序列在多个功能数据库中预测,本研究采用MetaCyc数据库进行对比注释。由预测结果可知(附图3),乳牙列期和混合牙列期儿童口腔及肠道菌群的功能潜在生物合成(biosynthesis)、降解/利用/退化(degradation/utilization/assimilation)第一层次分类表现出了较高的丰度;在氨基酸生物合成(amino acid biosynthesis),碳水化合物生成(carbohydrate biosynthesis),细胞结构生物合成(cell structure biosynthesis),辅助因子、辅基、电子载体、维生素生物合成(cofactor, prosthetic group, electron carrier, and vitamin biosynthesis),脂肪酸和脂类生物合成(fatty acid and lipid biosynthesis),核苷和核苷酸生物合成(nucleoside and nucleotide biosynthesis),次级代谢产物生物合成(secondary metabolite biosynthesis),碳水化合物降解(carbohydrate degradation),发酵(fermentation)等第二层次分类的功能潜能上表现出较高丰度。选取差异具有统计学意义(筛选标准: $|\log FC| > 5$, $P < 0.05$)的代谢通路进行进一步分析,结果发现(附图4、附图5):在乳牙列期,相对于肠道菌群,儿童口腔微生物在甲戊二羟酸途径PWY-922(mevalonate pathway I)、香叶酰二磷酸生物合成超途径PWY-5910(superpathway of gergeranyldiphosphate biosynthesis I)、乳糖和半乳糖降解LACTOSECAT-PWY(lactose and galactose degradation I)、硝酸还原DENITRIFICATION-PWY(nitrate reduction I)四条代谢通路上调,在醋酸酯产甲烷METH-ACETATE-PWY(methanogenesis from acetate)下调。在混合牙列期,相对于肠道菌群,儿童口腔微生物在硝酸还原I(反硝化)DENITRIFICATION-PWY[nitrate reduction I(denitrification)]这一条代谢通路上上调,在醋酸酯产甲烷METH-ACETATE-PWY(methanogenesis from acetate),核苷酸糖衍生物的生物合成PWY-7315(dTDP-N-acetylthomosamine biosynthesis)下调。附图3~附图5见网络资源附件。

3 讨论

本研究通过对比分析乌鲁木齐市学龄前儿童乳牙列和混合牙列的口腔及肠道微生物组成,揭示了牙列发育过程中微生态的动态变化及其潜在功能意义。本研究采用的16S rRNA测序技术,抽平深度足够覆盖群落中所有物种,稀疏曲线平缓,Alpha多样性分析中的Goods_coverage(测序覆盖度)指数在四组中均大于95%,说明物

种覆盖度高,未检测到的物种少,测序结果可靠。Alpha多样性和Beta多样性指数,分别表征物种在生境内和生境间的多样性。在Alpha多样性层面,口腔微生物(D-Oral/M-Oral)的物种丰富度(Chao1)和综合多样性(Shannon)高于肠道微生物(D-Gut/M-Gut)($P < 0.05$),且口腔群落内物种分布更均匀(Shannon高),但优势种集中度(Simpson)与肠道差异无统计学意义。这可能由于口腔环境(如唾液、食物残渣、牙齿表面)为微生物提供了更丰富的生态位,支持更多物种共存;而肠道因相对稳定的pH和厌氧环境,物种数量可能更受限^[7]。Beta多样性旨在分析群落之间物种组成差异,如图3所示,PCo1(44.5%变异解释度)是群落差异的主要驱动因素,分离了口腔与肠道样本。这表明可能口腔和肠道的微环境(如pH、氧气、营养来源)差异导致了两类微生物群落的整体组成截然不同(如口腔以链球菌、放线菌为主,肠道以厚壁菌门、拟杆菌门为主)^[8]。PCo2(9.7%变异解释度)解释了次要差异,可能反映了组内细分差异(如乳牙列与混合牙列的细微区别),但贡献率较低。这些结果说明儿童口腔和肠道微生物群落的发育具有部位特异性,临床干预(如口腔卫生管理或肠道微生态调节)需针对不同部位的特点制定策略。

物种组成以及标志菌结果显示:①在门水平,乌鲁木齐市儿童口腔及肠道菌群中厚壁菌门、拟杆菌门和变形菌门占主导地位(占比>90%),与全球儿童肠道菌群研究一致^[3],但变形菌门(Proteobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidete)比例在混合牙列期上升,毛螺菌科(Lachnospiraceae)在乳牙列期肠道的富集(LDA=5.16),可能反映高纤维饮食的地方特色^[5]。此外,样本均来自无龋儿童,规避了疾病对菌群的干扰,但可能限制结论对高风险人群的普适性。②在属水平,乳牙列期和混合牙列期口腔菌群均以奈瑟菌属、链球菌属以及韦荣球菌属为主要定植菌群,这与CRIELAARD等^[9]研究相似。随着年龄递增,儿童从乳牙列迈向混合牙列,菌群丰度也发生了变化,奈瑟菌属在混合牙列中的丰度逐渐升高(LDA=5.15, $P < 0.01$)。奈瑟菌属通常被认为是口腔早期定植的“基石”菌属之一。随着牙列更替,恒牙萌出提供了新的、尚未被完全占据的生态位(如新的窝沟、邻接面)。奈瑟菌能利用唾液中的底物(如乳酸)进行生长,其丰度增加可能标志着口腔微生物群落复杂性和稳定性的提升,向更成熟的“成人型”菌群转变^[2,9]。而普雷沃氏菌属(LDA=4.76, $P < 0.01$)、嗜血杆菌属(LDA=4.65, $P < 0.01$)、韦荣球菌属丰度下降(LDA=4.60, $P < 0.01$)。某些普雷沃氏菌在乳牙列期与龋病的发生密切相关(特别是低龄儿童龋,

ECC)。随着孩子年龄增长,饮食习惯改变(如蔗糖摄入可能相对减少)、口腔卫生习惯的改善,可能导致这些与早期龋病状态相关的菌属丰度下降^[10]。嗜血杆菌属是儿童早期口腔菌群的特征之一,尤其与乳牙的菌斑形成有关。恒牙萌出后,新的牙面特性和变化的宿主免疫反应可能不再那么有利于其定植^[1]。而韦荣球菌属丰度在混合牙列期下降可能反映了整个口腔菌群代谢网络的重构,从以乳酸为中心的模式向更多元化的代谢模式转变^[11]。这些口腔菌属在乳牙列期到混合牙列期的丰度改变,正符合口腔菌群从“幼稚”向“成熟”发展的普遍规律^[2]。在肠道,乳牙列期的拟杆菌属(*Bacteroides*)占比为35.85%,到混合牙列期减少到23.74%,而粪杆菌属(*Faecalibacterium*)由乳牙列期的13.03%增加到混合牙列期的21.24%。这一结果与STEWART等^[3]大型儿童队列研究一致:其研究清晰地描绘了肠道菌群的发育轨迹,即随着年龄增长和膳食纤维摄入的增加,粪杆菌属等产丁酸盐菌的丰度增加,标志着肠道菌群功能的成熟^[12]。

口腔菌群与肠道菌群的关联:本研究发现了链球菌属、韦荣氏菌属和普雷沃氏菌属在口腔和肠道中共存。COSTA等^[4]通过宏基因组分析证实,约12%~15%的肠道菌群可能来源于口腔。口腔致病菌在肠道的定植与儿童炎症性肠病风险增加相关,这一结果提示我们调控口腔菌群可能成为改善肠道健康的潜在策略^[4,13]。

本研究通过宏基因组功能预测,揭示了口腔和肠道菌群在核心代谢功能上既存在共性,又为适应各自生境而表现出显著差异,并且这些功能随牙列发育发生动态演变。研究发现在第一、二层次的功能分类中,如生物合成与降解/利用/同化相关通路丰度最高,这反映了微生物群落维持其基本生命活动和新陈代谢的核心需求。这一发现与ZHENG^[4]等的研究一致,他们指出尽管人体不同部位的菌群组成差异巨大,但在核心代谢功能上表现出高度的保守性。硝酸盐还原通路(DENITRIFICATION-PWY)在口腔中上调,其在缺氧环境下可以高效产能,是口腔微生物一个稳定且核心的代谢特征^[15-16]。乳牙列期儿童菌群的代谢乳糖和半乳糖降解(LACTOSECAT-PWY)的上调反映了该时期的儿童与高糖饮食相关的代谢特征,可能提示牙体硬组织发生龋损的潜在风险增加^[17]。而醋酸酯产甲烷(METH-ACETATE-PWY)在口腔中始终低于肠道,则符合肠道更为严格厌氧的生态特征^[18]。

这些代谢通路的差异与之前观察到的菌群结构变化相互印证。例如:硝酸盐还原通路上调与口腔中奈瑟菌属和韦荣球菌属(已知的硝酸盐还原菌)的富集密切相

关^[15]。碳水化合物降解通路的活跃与乳牙列期口腔中链球菌等产酸菌的主导地位相符^[19]。肠道中粪杆菌属的增加,作为重要的膳食纤维发酵剂和丁酸盐生产者,也必然伴随着相关碳水化合物降解和短链脂肪酸合成通路的活跃^[20-21]。

综上所述,本研究全面地分析了乌鲁木齐市学龄前儿童乳牙列期和混合牙列期的口腔及肠道微生物构成特点及差异,初步探究了微生物菌群功能代谢变化。但是研究仍然存在一定的不足:本研究的发现受到样本规模的限制,这可能影响了对组间差异的检测效力,此外,横断面研究为描述性研究,研究设计难以解释微生物群随时间产生的动态变化。因此,对这些初步结论的解读和推广应保持谨慎。今后还需进行大样本量纵向追踪,展开宏基因组解析菌株水平差异,结合宏基因组学、代谢组学等深入口腔-肠道菌群交流机制探索,并有望基于菌群的特征精准开展干预策略和转化应用。

* * *

作者贡献声明 马婷负责论文构思、经费获取、初稿写作和审读与编辑写作,连冰清负责调查研究、研究方法和验证,吴泽钰负责数据审编、正式分析和软件,赵今负责研究项目管理、提供资源和监督指导。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution MA Ting is responsible for conceptualization, funding acquisition, writing--original draft, and writing--review and editing. LIAN Bingjie is responsible for investigation, methodology, and validation. WU Zeyu is responsible for data curation, formal analysis, and software. ZHAO Jin is responsible for project administration, resources, and supervision. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] WILLIS J R, GABALDON T. The Human Oral Microbiome in Health and Disease: From Sequences to Ecosystems. *Microorganisms*, 2020, 8(2): 308. doi: 10.3390/microorganisms8020308.
- [2] 屠叶, 徐欣, 周学东. 生命早期口腔菌群的定植及影响因素. *四川大学学报(医学版)*, 2022, 53(2): 220-225. doi: 10.12182/20220360303.
- [3] TU Y, XU X, ZHOU X D. Development and Influencing Factors of Oral Microbiota in Early Life. *J Sichuan Univ (Med Sci)*, 2022, 53(2): 220-225. doi: 10.12182/20220360303.
- [4] STEWART C J, AJAMI N J, O'BRIEN J L, et al. Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study. *Nature*, 2018, 562(7728): 583-588. doi: 10.1038/s41586-018-0617-x.
- [4] COSTA C, CORREIA T, ARAUJO R, et al. The oral-gut microbiota relationship in healthy humans: identifying shared bacteria between environments and age groups. *Front Microbiol*, 2024, 24(15): 1475159. doi: 10.3389/fmicb.2024.1475159.
- [5] MA T, WU Z, ZHAO J, et al. Characterization of the oral and gut

- microbiome in children with obesity aged 3 to 5 years. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 29(13): 1102650. doi: [10.3389/fcimb.2023.1102650](https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1102650).
- [6] MCINNES P, CUTTING M A. Core microbiome sampling protocol A HMP Protocol 07-001. *Hum Microbiome Proj*, 2010, 11(6380): 1-109.
- [7] HAJIAGHA M N, TAGHIZADEH S, ASGHARZADEH M, *et al*. Gut Microbiota and Human Body Interactions; Its Impact on Health: A Review. *Curr Pharm Biotechnol*, 2022, 23(1): 4-14. doi: [10.2174/1389201022666210104115836](https://doi.org/10.2174/1389201022666210104115836).
- [8] LLOYD-PRICE J, MAHURKAR A, RAHNAVAR D G, *et al*. Strains, functions and dynamics in the expanded Human Microbiome Project. *Nature*, 2017, 550(7674): 61-66. doi: [10.1038/nature23889](https://doi.org/10.1038/nature23889).
- [9] CRIELAARD W, ZAURA E, SCHULLER A A, *et al*. Exploring the oral microbiota of children at various developmental stages of their dentition in the relation to their oral health. *BMC Med Genomics*, 2011, 4: 22. doi: [10.1186/1755-8794-4-22](https://doi.org/10.1186/1755-8794-4-22).
- [10] WU Y, LI G, LYU C H, *et al*. Oral microbiota in preschoolers with rampant caries: a matched case-control study. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2024, 108(1): 533. doi: [10.1007/s00253-024-13362-5](https://doi.org/10.1007/s00253-024-13362-5).
- [11] MASHIMA I, NAKAZAWA F. The influence of oral *Veillonella* species on biofilms formed by *Streptococcus* species. *Anaerobe*, 2014, 28: 54-61. doi: [10.1016/j.anaerobe.2014.05.003](https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.05.003).
- [12] GENG P, ZHAO N, ZHOU Y, *et al*. *Faecalibacterium prausnitzii* regulates carbohydrate metabolic functions of the gut microbiome in C57BL/6 mice. *Gut Microbes*, 2025, 17(1): 2455503. doi: [10.1080/19490976.2025.2455503](https://doi.org/10.1080/19490976.2025.2455503).
- [13] KITAMOTO S, NAGAO H, HEIN R, *et al*. The Bacterial Connection between the Oral Cavity and the Gut Diseases. *J Dent Res*, 2020, 99(9): 1021-1029. doi: [10.1177/0022034520924633](https://doi.org/10.1177/0022034520924633).
- [14] ZHENG D, LIWINSKI T, ELINAV E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Res*, 2020, 30(6): 492-506. doi: [10.1038/s41422-020-0332-7](https://doi.org/10.1038/s41422-020-0332-7).
- [15] ALZAHTANI H S, JACKSON K G, HOBBS D A, *et al*. The role of dietary nitrate and the oral microbiome on blood pressure and vascular tone. *Nutr Res Rev*, 2021, 34(2): 222-239. doi: [10.1017/S0954422420000281](https://doi.org/10.1017/S0954422420000281).
- [16] MOROU E, TORRES J E, BERMUDEZ N S, *et al*. Pathways Linking Oral Bacteria, Nitric Oxide Metabolism, and Health. *J Dent Res*, 2022, 101(6): 623-631. doi: [10.1177/00220345211064571](https://doi.org/10.1177/00220345211064571).
- [17] VALENZUELA M, WATERHOUSE B, AGGARWAL V R, *et al*. Effect of sugar-sweetened beverages on oral health: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Public Health*, 2021, 31(1): 122-129. doi: [10.1093/eurpub/ckaa147](https://doi.org/10.1093/eurpub/ckaa147).
- [18] BORREL G, BRUGERE J F, GRIBALDO S, *et al*. The host-associated archaeome. *Nat Rev Microbiol*, 2020, 18(11): 622-636. doi: [10.1038/s41579-020-0407-y](https://doi.org/10.1038/s41579-020-0407-y).
- [19] LEI L, ZHANG B, MAO M, *et al*. Carbohydrate Metabolism Regulated by Antisense vicR RNA in Cariogenicity. *J Dent Res*, 2020, 99(2): 204-213. doi: [10.1177/0022034519890570](https://doi.org/10.1177/0022034519890570).
- [20] RIVA A, KUZYK O, FORSBERG E, *et al*. A fiber-deprived diet disturbs the fine-scale spatial architecture of the murine colon microbiome. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 4366. doi: [10.1038/s41467-019-12413-0](https://doi.org/10.1038/s41467-019-12413-0).
- [21] 舒妍妍, 林旭红. 肠道微生物在心血管疾病中的作用及机制. *中山大学学报(医学科学版)*, 2024, 45(6): 994-1005. doi: [10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ.med.sci.20241021.005](https://doi.org/10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ.med.sci.20241021.005).
- SHU Y Y, LIN X H. Role of Gut Microbiota in Cardiovascular Diseases and its Mechanism. *Journal of Sun Yat-Sen University (Medical Sciences)*, 2024, 45(6): 994-1005. doi: [10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ.med.sci.20241021.005](https://doi.org/10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ.med.sci.20241021.005).

(2025 - 11 - 21收稿, 2026 - 01 - 11修回)

编辑 吕 熙



开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用 4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2026 《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Sciences)*