

学龄前儿童口腔不同生态位菌群特征的比较研究

刘伽伽 孙毓徽 伍爵妃 汤帅 丁刚
山东第二医科大学口腔医学院, 潍坊 261053

[摘要] **目的** 探究学龄前儿童口腔不同生态位(舌背黏膜、牙齿表面、颊黏膜)微生物群落的结构差异、优势菌属特征及其潜在功能,明确局部微环境对菌群定植的影响,为儿童口腔疾病的微生态调控提供理论依据。**方法** 采集35名健康学龄前儿童(4~6岁)的舌背黏膜、牙齿表面及颊黏膜菌斑样本共105份,基于16S rRNA基因高通量测序技术,分析各生态位菌群结构与 α 、 β 多样性。通过主坐标分析、UPGMA系统聚类及LEfSe分析筛选优势差异菌属,结合PICRUST2功能预测评估不同生态位菌群的潜在代谢功能差异。**结果** 3类口腔生态位的菌群组成与结构存在空间异质性,牙齿表面与颊黏膜的物种丰富度高于舌背黏膜。3类生态位菌群的主要优势菌门包括厚壁菌门、放线菌门、变形菌门、拟杆菌门、梭杆菌门和微小菌群门。在属水平上,牙齿表面富集放线菌属和棒状杆菌属,舌背黏膜富集韦荣球菌属,颊黏膜富集链球菌属。 β 多样性分析及聚类分析显示3类生态位样本的群落结构明显分离。LEfSe分析结果显示,不同口腔部位存在明显的特异性菌属分布。功能预测显示,3类生态位在氨基酸代谢、碳水化合物代谢、细胞运动、翻译、信号转导、免疫系统、感染性疾病及膜转运等功能模块差异存在统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 学龄前儿童舌背黏膜、牙齿表面及颊黏膜3类口腔生态位在菌群组成、多样性及代谢功能潜力方面存在明显差异,提示局部生态环境对菌群定植及功能具重要调控作用。

[关键词] 学龄前儿童; 口腔微生态; 生态位; 16S rRNA测序; 菌群多样性; 功能预测

[中图分类号] R780.2 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2025.2025285



本文链接 开放科学标识码

Comparative analysis of microbial communities in different oral ecological niches of preschool children

Liu Jiajia, Sun Yuhui, Wu Juefei, Tang Shuai, Ding Gang

School of Stomatology, Shandong Second Medical University, Weifang 261053, China

Supported by: Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2024MH147); Weifang City "Yuan Du" Scholar Program (ydxz2023002)

Correspondence: Ding Gang, E-mail: dinggang@sdsu.edu.cn; Tang Shuai, E-mail: tangshuai579@163.com

[Abstract] **Objective** This study aims to investigate the structural differences, dominant bacterial genera, and potential functions of microbial communities in different oral ecological niches (dorsal tongue, tooth surface, and buccal mucosa) of preschool children to clarify the influence of local microenvironments on microbial colonization and provide a theoretical basis for the microbiota-targeted regulation of pediatric oral diseases. **Methods** A total of 105 plaque samples were collected from the dorsal tongue, tooth surface, and buccal mucosa of 35 healthy preschool children (aged 4-6 years). High-throughput sequencing of the 16S rRNA gene was performed to analyze the microbial community structure and alpha/beta diversity. Principal coordinate analysis, UPGMA clustering, and LEfSe analysis were

used to identify niche-specific dominant genera. PICRUST2 was applied to predict the potential metabolic functional profiles across niches. **Results** Spatial heterogeneity in microbial composition and structure was observed across the three oral niches. Species richness was significantly higher on the tooth surface and buccal mu-

[收稿日期] 2025-07-11

[基金项目] 山东省自然科学基金(ZR2024MH147);潍坊市鸢都学者特聘专家项目(ydxz2023002)

[第一作者] 刘伽伽, 实验师, 学士, E-mail: jiajiali1983@163.com

[通信作者] 丁刚, 教授, 博士, E-mail: dinggang@sdsu.edu.cn; 汤帅, 博士, E-mail: tangshuai579@163.com

cosa than on the dorsal tongue. The dominant phyla included Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes, Fusobacteria, and Patescibacteria. At the genus level, Actinomyces and Corynebacterium were enriched on the tooth surface, Veillonella was enriched on the dorsal tongue, and Streptococcus was predominant on the buccal mucosa. Beta diversity and clustering analyses confirmed distinct microbial community structures among the niches. LEfSe analysis identified several niche-specific genera. PICRUST2 functional prediction revealed significant differences in amino acid metabolism, carbohydrate metabolism, cell motility, translation, signal transduction, immune system, infectious diseases, and membrane transport ($P < 0.05$). **Conclusion** The dorsal tongue, tooth surface, and buccal mucosa in preschool children harbor distinct microbial communities with different taxonomic composition, diversity, and functional potential. The findings suggest that local microenvironmental factors shape oral microbiota and may contribute to the early onset of oral diseases. This study provides foundational data and theoretical insights for early microbiome-based risk assessment and personalized oral health interventions in children.

[Key words] preschool children; oral microbiota; ecological niches; 16S rRNA sequencing; microbial diversity; functional prediction

人类口腔是继肠道之后的第二大微生态定植区域，栖息着 700 余种微生物，在维持口腔局部稳态、抵御病原菌入侵及调控宿主免疫应答等方面发挥着不可或缺的作用^[1-2]。儿童期，尤其是学龄前阶段，是口腔菌群从初始建立到逐步演替并趋于稳定的关键时期，其菌群组成和功能特征受乳牙萌出、饮食结构转变及口腔清洁行为等多种因素的显著影响^[3-5]。

研究^[6]表明，口腔各部位由于解剖构造、生理特性、黏膜类型及机械扰动等方面存在差异，构建了各自独特的微生态环境，从而影响菌群的定植能力与组成结构。例如，舌背表面乳头状突起丰富，为兼性厌氧菌和厌氧菌提供了适宜附着的微环境；牙齿作为非脱落性硬组织，是牙菌斑生物膜形成的主要基质；颊黏膜为柔软的非角化上皮组织，暴露于唾液冲刷和机械应力之下，环境动态性强^[7]。这些生态位差异共同塑造了口腔菌群在空间上的异质性，导致不同区域间的微生物多样性和优势菌属存在显著差异。

尽管人类微生物组计划 (human microbiome project, HMP) 已系统揭示了成人口腔多个生态位的菌群特征，但学龄前儿童的口腔微生态仍缺乏深入系统的研究^[8]。目前，龋病、牙龈炎等儿童常见口腔疾病的发生被越来越多地认为与早期微生态失调密切相关^[9-10]。因此，识别和解析该年龄段不同口腔生态位菌群的定植特征，不仅有助于理解其生理演替规律，还可能为疾病的早期预警、个体化防控提供微生态学基础^[11-12]。本研究基于 16S rRNA 基因 V3-V4 区域的扩增子高通量测序技术，对 35 名健康学龄前儿童的舌背黏膜、牙齿表面及颊黏膜 3 类代表性生态位的菌群组成进行比

对分析，旨在揭示儿童早期口腔菌群的空间异质性及其潜在临床相关性，为儿童口腔微生态健康管理提供理论支持。

1 材料和方法

1.1 研究对象

研究共纳入山东省潍坊市某幼儿园中随机招募的 35 名学龄前健康儿童，年龄范围为 4~6 岁，平均年龄 (5.17±0.45) 岁。纳入标准：体检正常，无先天性畸形和系统性疾病 (如糖尿病、免疫缺陷等)，无明显龋损，无明显牙龈炎症及其他口腔软组织病变，且近 3 个月内未使用抗生素。所有儿童的监护人均签署了书面知情同意书，研究方案获得山东第二医科大学伦理委员会批准 (伦理审批号：2020YX072)。

1.2 样本采集

所有样本采集于上午时段完成，采样前要求受试儿童 24 h 内不刷牙，1 h 内禁食禁水。受试者先用清水漱口，去除口腔内残渣，由经培训的专业口腔医生使用预先以无菌生理盐水润湿的无菌棉签 (或吸潮纸尖)，依次采集舌背中部、上下前牙及上下颌乳磨牙 (第一、第二乳磨牙) 龈上牙面、双侧颊黏膜 3 类生态位的菌斑。每个部位仅采集 1 次，操作流程标准统一。采集样本共 105 份，采样后将棉签立即置入编号无菌 EP 管中，液氮速冻保存，并转储于 -80 °C 冰箱直至后续 DNA 提取。

1.3 DNA 提取与 16S rRNA 基因高通量测序

采用 BIOG[®] DNA Swab 提取试剂盒 (百岱生物技术有限公司) 提取样本总 DNA。使用 Nanodrop 2000 分光光度计 (Thermo Fisher Scientific 公

司, 美国) 及 1% 琼脂糖凝胶电泳联合检测 DNA 的浓度与纯度。以 16S rRNA 基因 V3-V4 高变区为靶标, 使用通用引物 341F (5'-CCTACGGGNGG-CWGCAG-3') 和 805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') 进行聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增。扩增产物经纯化后用于构建测序文库, 并在 Illumina MiSeq PE300 平台 (Illumina 公司, 美国) 上进行双端高通量测序。

1.4 生物信息学分析

原始序列数据首先使用 Trimmomatic 软件进行低质量序列过滤, 随后利用 FLASH 软件对双端序列进行拼接。在微生物组分析平台 QIIME2, 基于 VSEARCH 算法进行序列聚类 (相似性阈值设为 97%)。为分析不同生态位的菌群组成, 将操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 表注释至 SILVA 数据库 (release 138.1), 分别在门 (phylum) 和属 (genus) 水平统计相对丰度, 并比较各组的优势菌群分布。群落 α 多样性评价指标包括 Chao1、Simpson、Shannon、Pielou、Observed species、Faith's phylogenetic diversity (PD) 及 Good's coverage 指数。为比较不同生态位间属水平的共有与特有菌群分布情况, 基于属水平的丰度表采用 UpSetR 软件包 (R 语言, 版本 4.2.1) 进行 UpSet 分析, 直观展示各组间共享或特有属的数量及分布模式。 β 多样性分析通过构建 Bray-Curtis 距离矩阵, 应用主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA) 及 UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic means) 系统聚类探究不同生态位菌群结构差异。同时, 采用 PERMANOVA (permutational multivariate analysis of variance) 方法, 对 3 类生态位间菌群结构差异的显著性进行检验, 并计算解释变异比例 (R^2) 与显著性水平 (P 值)。

差异菌属的筛选采用 LEfSe (Linear discriminant analysis Effect Size) 方法, 阈值设定为 LDA 分值 >4.0 (绝对值), $P < 0.05$ 。为便于区分不同组别, LEfSe 软件在绘制 LDA 直方图时将富集于不同组的特征赋予正负方向, 表示菌群差异来源的分组。

基于 16S rRNA 扩增子测序结果, 采用 PICRUSt2 (Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States) 进行功能预测, 并将所得基因功能注释至京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 数据库, 以获得主要代谢通路的相

对丰度分布, 探究不同口腔生态位菌群在功能水平上的潜在差异。

1.5 统计学方法

所有统计学分析使用 R 4.2.1 软件及 SPSS 27.0 软件完成。正态分布数据以均数 \pm 标准差表示, 组间比较采用单因素方差分析 (analysis of variance, ANOVA) 或最小显著差异法 (least significant difference, LSD); 非正态分布数据采用非参数检验, 包括 Mann-Whitney U 检验或 Kruskal-Wallis 检验。统计显著性以 $P < 0.05$ 为界定标准。

2 结果

2.1 测序数据质量与覆盖性分析

研究共获得 5 125 512 条有效高质量序列, 平均序列长度为 471 bp。经聚类分析, 共识别出 6 800 个 OTU。Good's coverage 指数为 99.42%, 表明测序覆盖度高, 能够代表样本菌群的整体特征。稀释曲线及物种累积曲线趋于平台状态, 表明测序深度充分, 数据质量良好; Shannon 指数曲线亦随测序深度趋于稳定, 进一步支持测序结果的可靠性与代表性 (图 1)。

2.2 α 多样性分析

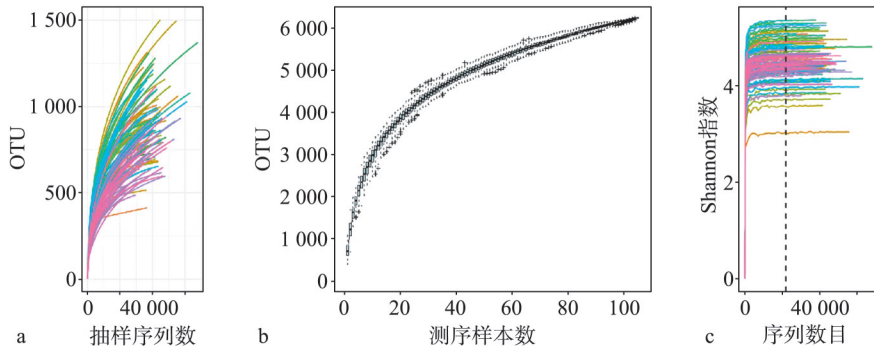
不同生态位的 α 多样性指数分析结果见图 2。舌背黏膜的 Chao1 指数低于牙齿表面 ($P < 0.05$), Faith's PD 与 Observed species 指数低于牙齿表面和颊黏膜 ($P < 0.05$), 但牙齿表面与颊黏膜间的这 3 个指数差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果提示, 牙齿表面和颊黏膜作为相对开放且稳定的生态位, 菌群的物种丰富度及系统发育谱系多样性均高于舌背黏膜, 而牙齿表面和颊黏膜之间无明显差异。Simpson、Shannon 及 Pielou 指数在 3 类生态位间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示整体群落的均匀性和多样性水平较为一致。各组 Good's coverage 指数均接近 100%, 说明测序深度充分、结果具有可靠性。

2.3 菌群组成与结构差异

2.3.1 物种分类构成

经物种注释, 共鉴定出 18 个门、30 个纲、70 个目、128 个科及 253 个属。在门水平上, 厚壁菌门 (Firmicutes)、放线菌门 (Actinobacteria)、变形菌门 (Proteobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、梭杆菌门 (Fusobacteria) 和微小菌群门 (Patescibacteria) 为主要优势菌门, 累计相对丰度超过 98%。在属水平上, 链球菌属 (Streptococ-

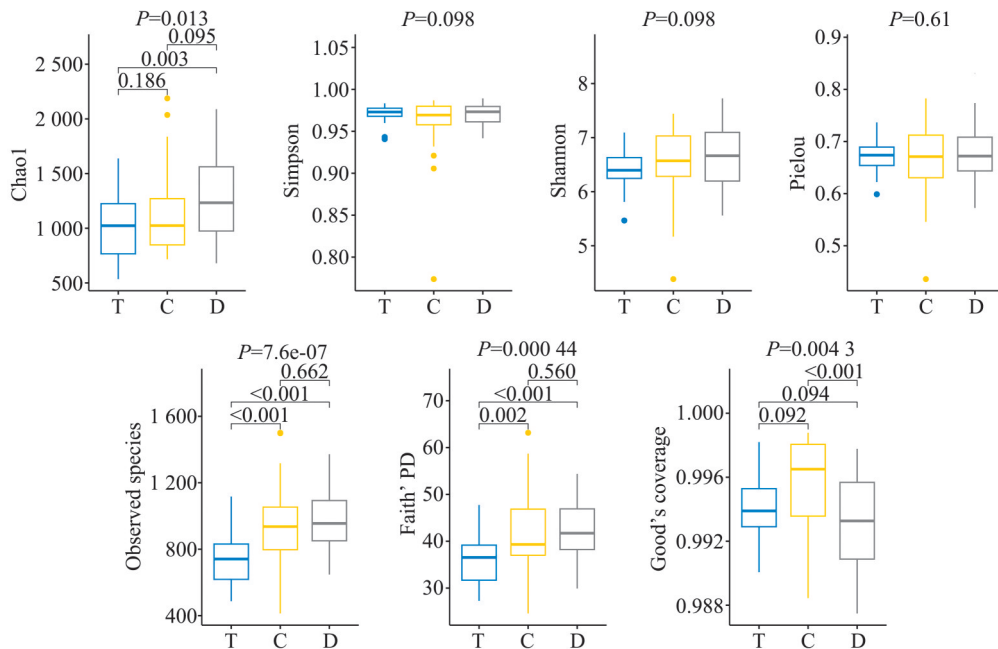
cus)、放线菌属 (Actinomyces)、韦荣球菌属 (Rothia) 和棒状杆菌属 (Corynebacterium) 等为 (Veillonella)、奈瑟菌属 (Neisseria)、罗氏菌属 优势菌属 (图3)。



a: 稀释曲线; b: 物种累积曲线; c: Shannon 指数曲线。各线条代表不同的测序样本, 趋于平台状态, 表明测序深度满足分析要求。

图 1 样本测序覆盖性分析

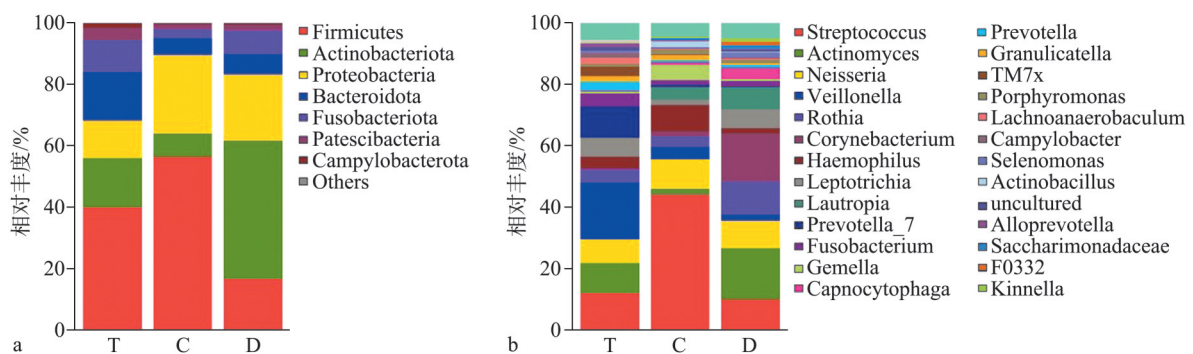
Fig 1 Sample sequencing coverage analysis



横坐标中, T: 舌背黏膜; C: 颊黏膜; D: 牙齿表面。箱体表示四分位范围, 箱体中位数为中位数, 圆点代表离群值。

图 2 不同生态位的 α 多样性指数分析

Fig 2 Analysis of alpha diversity indices in different oral niches



a: 门水平分类组成; b: 属水平分类组成。横坐标中, T: 舌背黏膜; C: 颊黏膜; D: 牙齿表面。

图 3 不同生态位菌群的优势菌分布情况

Fig 3 Distribution of dominant bacteria in different oral ecological niches

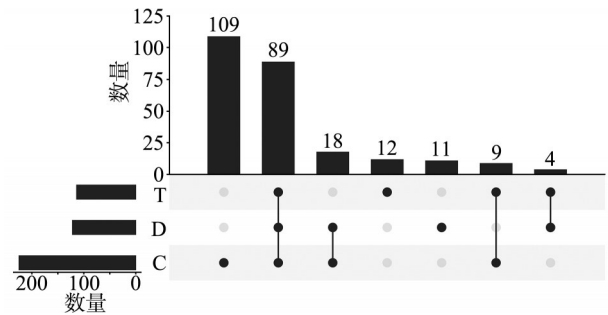
2.3.2 共性与特异性菌属分布

在属水平上, 舌背黏膜、牙齿表面和颊黏膜分别检出 114、122 和 225 个菌属 (图 4), 共 461 个菌属, 其中 89 个为三者共有, 占总检出菌属数的 35.2%, 提示不同部位之间存在一定的菌群重叠性。然而, 各部位仍呈现明显的定植差异: 牙齿表面富集 *Actinomyces* 和 *Corynebacterium* 属, 颊黏膜富集 *Streptococcus* 属, 舌背黏膜富集 *Veillonella* 属, 显示其具备生态位选择性及结构功能差异性。

2.4 β多样性分析与系统聚类

群落结构β多样性分析与系统聚类树见图 5。PCoA 主坐标分析基于 Bray-Curtis 距离计算, 结果显示 3 类生态位样本在 PC1 与 PC2 两个维度上分布明显分离, 累计解释 68.12% 的总变异量。其中颊黏膜样本主要聚类于 PC2 正向区域, 牙齿表面与舌背黏膜样本主要聚类于负向区域, 表明 3 类生态位的菌群结构存在空间层级上的差异。UPGMA 类生态位样本, 组内一致性较高。进一步的 PER-

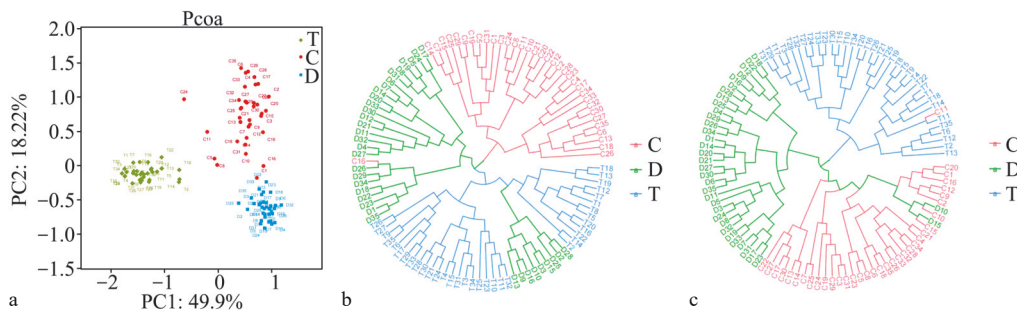
MANOVA 分析结果显示, 不同生态位间菌群结构差异具有统计学意义 ($R^2=0.309, P=0.001$), 即生态位因素可解释菌群差异中约 30.9% 的总变异量, 进一步支持了群落结构的显著分离性。



左下部分为各类生态位的属水平物种数量; 右上部分为各类生态位共有或特有属的数量, 即交集或独立区域代表的菌属数; 右下部分的节点和连线展示了样本间的共有或特有菌属分布。T: 舌背黏膜; C: 颊黏膜; D: 牙齿表面。

图 4 不同生态位属水平的 UpSet 分析

Fig 4 UpSet analysis of genus-level distribution in different oral niches



a: PCoA 图, 采用 Bray-Curtis 距离矩阵进行分析, 图中每个点代表一个样本, 颜色区分不同生态位, 点之间距离越近表示菌群组成越相似; b、c: 系统聚类树, 分别基于加权 UniFrac 与非加权 UniFrac 距离矩阵构建, 分支距离越短表示样本间菌群结构越接近。T: 舌背黏膜; C: 颊黏膜; D: 牙齿表面。

图 5 群落结构β多样性分析与系统聚类树

Fig 5 Community structure β diversity analysis and systematic clustering tree

2.5 差异菌属识别

LEfSe 分析结果显示, 不同口腔部位存在明显的特异性菌属分布 (图 6)。颊黏膜富集 *Streptococcus* 属, 牙齿表面富集 *Actinomyces*、*Corynebacterium* 和毛滴虫样杆菌属 (*Capnocytophaga*), 舌背黏膜富集 *Veillonella* 和普雷沃氏菌属 (*Prevotella*) 等。上述菌属可能与局部环境条件, 如黏膜类型、机械刺激程度及氧化还原状态密切相关, 提示其具备生态位适应性差异。

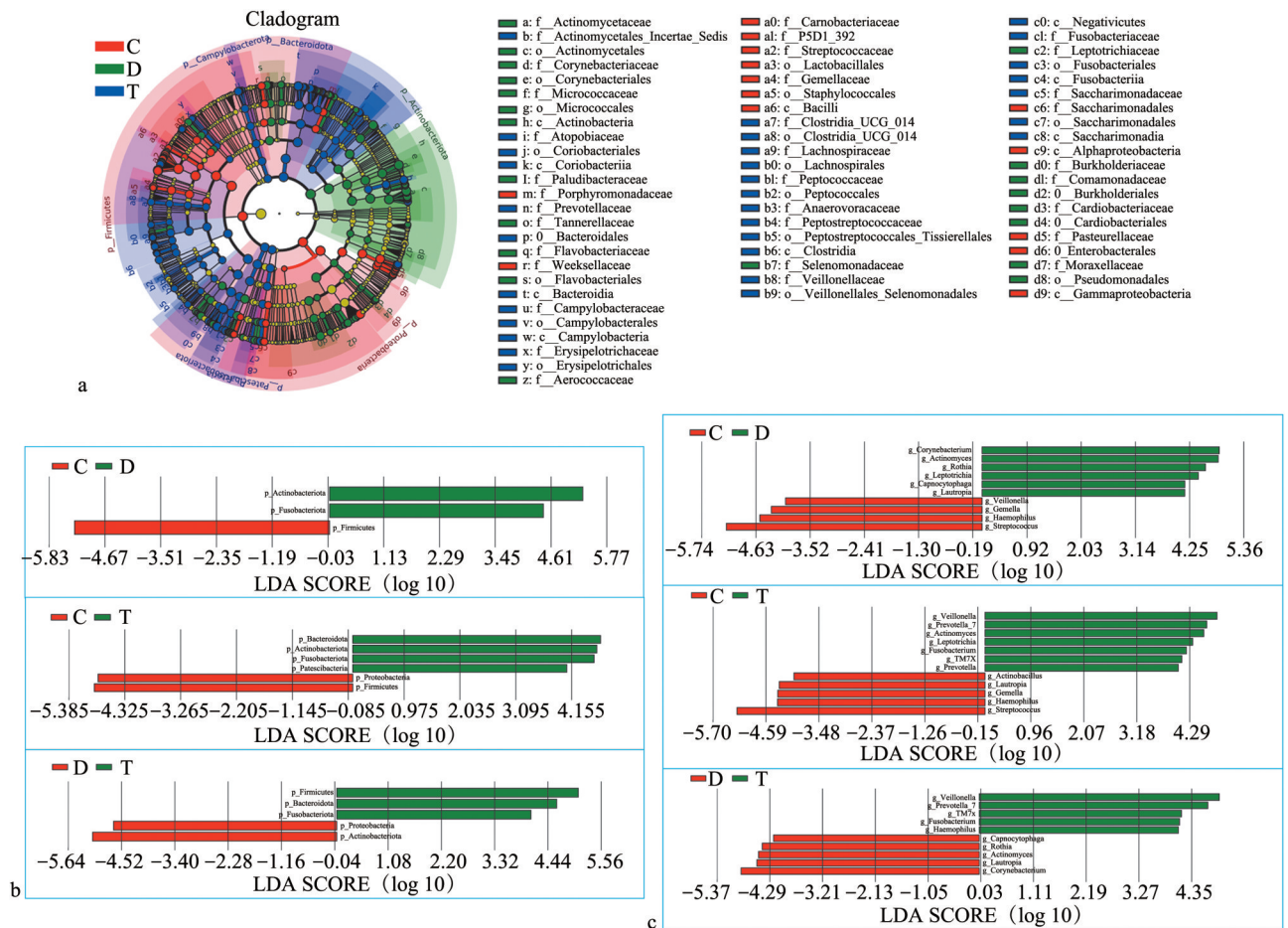
2.6 功能预测分析

KEGG 通路分析显示, 3 类生态位在氨基酸代谢 (amino acid metabolism)、碳水化合物代谢 (carbohydrate metabolism)、细胞运动 (cell motili-

ty)、翻译 (translation)、信号转导 (signal transduction)、免疫系统 (immune system)、感染性疾病 (infectious diseases) 及膜转运 (membrane transport) 等功能模块差异存在统计学意义, 而能量代谢 (energy metabolism) 通路差异无统计学意义 (图 7)。在代谢类通路中, 3 类生态位的氨基酸代谢相对丰度差异有统计学意义 ($P=0.011$), 牙齿表面最高; 碳水化合物代谢相对丰度差异也有统计学意义 ($P=0.027$), 颊黏膜最高; 能量代谢通路的差异无统计学意义 ($P=0.214$)。在细胞过程通路中, 细胞运动通路在牙齿表面相对更丰富 ($P=0.041$)。在遗传信息处理通路中, 翻译通路在舌背黏膜和颊黏膜高于牙齿表面 ($P=0.009$)。在环境

信息处理通路中，信号转导通路在牙齿表面相对丰度最高 ($P=0.032$)，膜转运通路在颊黏膜最为丰富 ($P=0.018$)。在宿主相关通路中，感染性疾

病通路在颊黏膜最高 ($P=0.007$)，而免疫系统通路在舌背黏膜最高 ($P=0.021$)。



a: 分类进化树图，显示在3类生态位中显著富集的优势分类单元；b: 门水平LDA直方图；c: 属水平LDA直方图。分类单位标识格式中，k_为界，p_为门，c_为纲，o_为目，f_为科，g_为属。T: 舌背黏膜；C: 颊黏膜；D: 牙齿表面。

图6 LEfSe分析鉴定不同口腔生态位的优势菌群

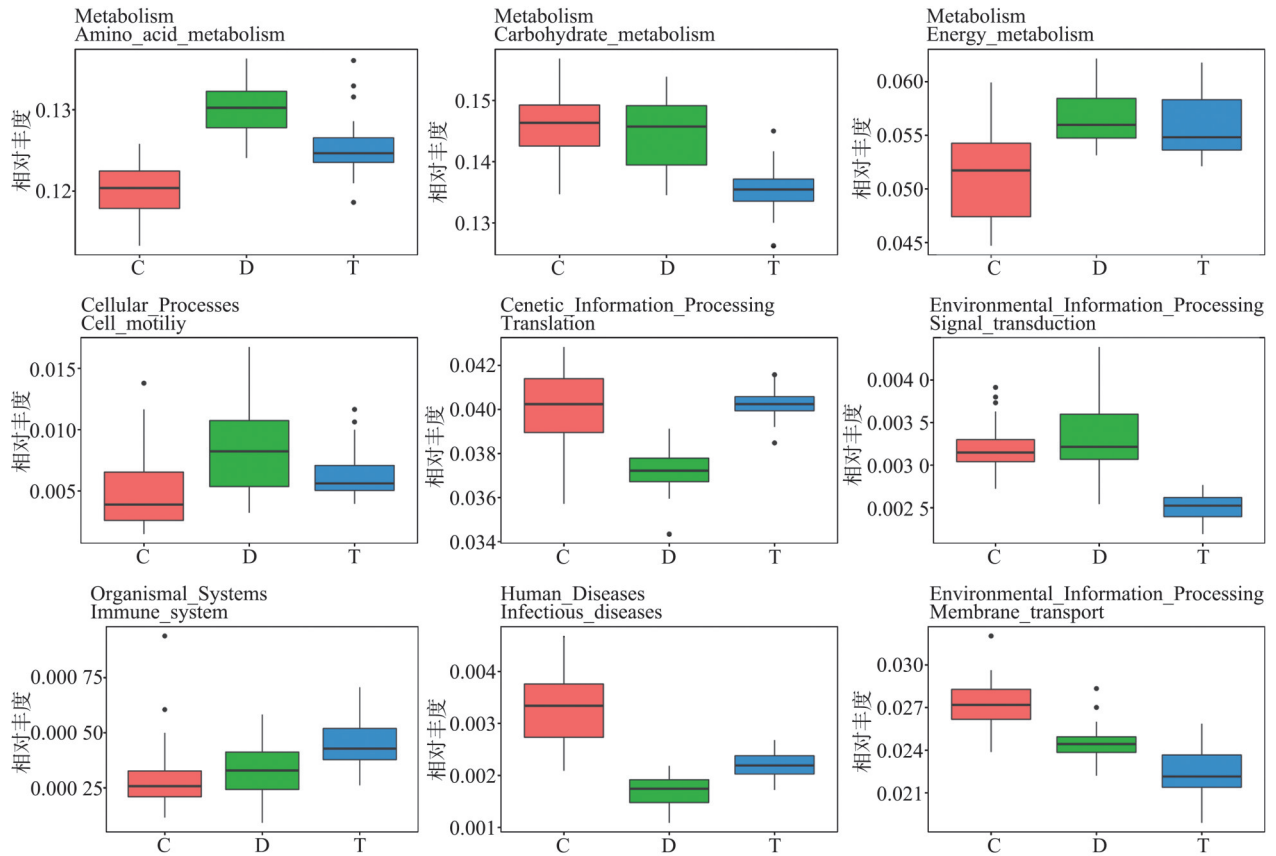
Fig 6 Identification of dominant microbial communities in different oral ecological niches by LEfSe analysis

3 讨论

本研究基于16S rRNA高通量测序技术，系统比较了学龄前儿童舌背、牙齿与颊黏膜3种口腔生态位的菌群多样性、结构组成及功能特征，结果显示不同生态位间存在显著的空间异质性，进一步印证了“生态位决定微生态”的基本理论^[13-14]。需要指出的是，本研究对象年龄范围为4~6岁，处于从乳牙列向混合牙列过渡的关键时期。研究指出，年龄增长及第一恒磨牙萌出可能对口腔菌群组成和多样性产生显著影响^[15-17]，其机制可能涉及牙列结构变化、食物类型转变、牙菌斑定植部位空间分布改变等多种因素^[18-20]。虽然本研究在样本纳入时已限定为“无明显龋损、无明显牙龈炎症

及其他软组织病变”的健康儿童，且菌群比较均在相同年龄区间内完成，但仍不排除年龄结构差异对局部菌群构成的轻度影响。后续研究可考虑进一步引入年龄分层分析，并结合牙列发育状态与菌群动态演替规律，从而更全面地阐明生态位间微生物差异的影响因素。

舌背黏膜具备丰富的乳头结构和相对厌氧的环境，形成了有利于厌氧菌定植的独特生态位^[21]。本研究中，舌背黏膜显著富集Veillonella属，该属具有良好的舌部黏附能力，并能代谢其他菌产生的乳酸，有助于维持局部pH稳定与微生态平衡^[22]。同时，舌背黏膜亦富集Prevotella属，该菌属虽在健康状态下为共生菌，但已有研究^[23]发现其与牙龈炎、舌苔异常和口臭等疾病密切相关，提示需关注其潜在的致病倾向。



横坐标中, T: 舌背黏膜; C: 颊黏膜; D: 牙齿表面。箱体表示四分位范围, 箱体中线为中位数, 圆点代表离群值。

图 7 9类功能通路在3类生态位中的相对丰度分布 (PICRUSt2分析)

Fig 7 Relative abundance distribution of nine functional pathways among three niches (PICRUSt2 analysis)

牙齿表面是口腔生物膜形成最关键的生态位^[24]。牙齿表面富集 *Corynebacterium* 和 *Actinomyces* 属, 具有较强的糖代谢活性与黏附能力, 是早期牙菌斑结构的奠基菌, 参与龋病与牙周炎的初始阶段^[17,25]。本研究还表明牙齿表面富集 *Capnocytophaga* 属, 其为兼性厌氧菌, 通常在免疫抑制状态下才表现致病性, 提示其在儿童口腔稳态中的“潜在病原”角色, 值得进一步关注。

颊黏膜为柔软的非角化黏膜, 易受咀嚼、舌头接触及唾液冲刷影响, 生态环境波动较大^[26]。本研究中, 颊黏膜组富集 *Streptococcus* 属, 该属中部分共生亚种 (如血链球菌) 可通过竞争性黏附与过氧化氢分泌等机制抑制变异链球菌的定植, 在维持菌群平衡与抗龋方面发挥重要作用^[27-28]。

β 多样性分析与系统聚类结果显示3类生态位的菌群结构存在显著差异, 提示不同生态位在演化过程中形成了独特的微生物群落组成。结合 LEfSe 分析所筛选的优势属, 基本勾勒出学龄前儿童口腔不同部位的核心菌群特征图谱, 为个体化疾病风险评估提供基础数据支持^[29]。

值得注意的是, 从结构与功能整合的角度看,

本研究筛选出的生态位优势菌属不仅存在明显的空间定植特征, 也展现出潜在的临床干预价值^[30]。牙齿表面的功能代谢活性最为丰富, 富集的 *Actinomyces* 和 *Corynebacterium* 属与氨基酸代谢、碳水化合物代谢通路上调相对应, 提示该类菌群可能通过产酸机制参与龋齿的形成过程; 同时, 预测中的信号转导增强, 或与生物膜成熟、多菌种协同作用有关, 为早期菌斑控制提供靶点。颊黏膜在感染性疾病及膜转运通路的预测值最高, 同时富集 *Streptococcus* 属, 尤其是健康相关的血链球菌, 可能通过“前哨”功能参与宿主黏膜防御调节。舌背黏膜在翻译及免疫相关功能方面优势明显, 结合其富集的 *Veillonella* 属, 可能与快速的菌群更新及乳酸代谢相关, 并在维持黏膜免疫稳态中发挥作用^[31]。本研究结果提示, 儿童不同口腔部位的优势菌属不仅体现出生态适应性差异, 也可能通过调控特定代谢或免疫路径参与口腔疾病的发生与防御过程。这与其他研究的结果相似。研究^[32-35]表明, 牙齿表面在氨基酸与碳水化合物代谢通路中功能较为活跃, 提示该部位菌群具备更强的营养获取与生物膜形成能力; 舌背黏膜组在遗

传信息处理通路尤其是翻译通路, 预测丰度更高, 可能反映该区域细菌群落在相对动态的微环境中具有更快的更新和适应能力; 颊黏膜在免疫系统和感染性疾病等通路中预测丰度最高, 提示该区域菌群可能更直接参与宿主黏膜的免疫调控与稳态维持。这些功能的差异与各部位菌群结构特征相互印证, 支持生态位微环境对菌群演化与功能塑造的关键作用, 不仅补充了菌群结构层面的差异观察, 也从功能的角度揭示了其潜在的生理与临床意义^[36]。

本研究的PICRUST2功能预测分析揭示了不同口腔生态位菌群在代谢活性、生态适应及宿主互作方面的潜在差异。需要指出的是, 本研究仍存在一定的局限性。首先, 样本来源集中于山东潍坊地区, 地域代表性有限; 其次, 研究仅聚焦于细菌群落, 未纳入真菌、病毒及代谢组等多组学信息^[37]; 此外, 虽然受试儿童均来自同一幼儿园, 生活作息与膳食安排相对一致, 且已排除近3个月使用抗生素者, 但研究未进行系统的饮食频次与营养成分调查, 亦未对口腔清洁方式与频率实施统一干预, 饮食结构等生活方式因素仍可能构成潜在混杂变量, 进而对菌群结构造成影响。未来应拓展样本来源, 整合多组学数据, 构建更为系统的儿童口腔微生态功能图谱^[38], 并基于这些“核心—功能—疾病”关联, 建立微生态监测与个体化干预的早期预测模型。

综上所述, 本研究明确揭示了学龄前儿童口腔舌背、牙齿与颊黏膜3类典型生态位在菌群多样性、结构组成及功能预测方面的显著差异, 构建了区域特异的“核心菌群分布模式”, 为早期疾病预警模型的建立及精准干预策略的制定提供了理论依据和微生物学支撑。

利益冲突声明: 作者声明本文无利益冲突。

[参考文献]

- [1] Tuganbaev T, Yoshida K, Honda K. The effects of oral microbiota on health[J]. *Science*, 2022, 376(6596): 934-936.
- [2] Mark Welch JL, Ramirez-Puebla ST, Borisy GG. Oral microbiome geography: micron-scale habitat and niche [J]. *Cell Host Microbe*, 2020, 28(2): 160-168.
- [3] Mason MR, Chambers S, Dabdoub SM, et al. Characterizing oral microbial communities across dentition states and colonization niches[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1): 67.
- [4] Ward TL, Dominguez-Bello MG, Heisel T, et al. Development of the human mycobiome over the first month of life and across body sites[J]. *mSystems*, 2018, 3(3): e00140-17.
- [5] Xiao J, Fiscella KA, Gill SR. Oral microbiome: possible harbinger for children's health[J]. *Int J Oral Sci*, 2020, 12(1): 12.
- [6] Liu HH, Chen HW, Liao Y, et al. Comparative analyses of the subgingival microbiome in chronic periodontitis patients with and without gingival erosive oral lichen planus based on 16S rRNA gene sequencing[J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 9995225.
- [7] Chen BY, Lin WZ, Li YL, et al. Roles of oral microbiota and oral-gut microbial transmission in hypertension[J]. *J Adv Res*, 2023, 43: 147-161.
- [8] Segata N, Haake SK, Mannon P, et al. Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples [J]. *Genome Biol*, 2012, 13(6): R42.
- [9] Yang F, Teng F, Zhang YF, et al. Single-tooth resolved, whole-mouth prediction of early childhood caries via spatiotemporal variations of plaque microbiota[J]. *Cell Host Microbe*, 2025, 33(6): 1019-1032.e6.
- [10] Weng L, Cui Y, Jian W, et al. Inter-kingdom interactions and environmental influences on the oral microbiome in severe early childhood caries[J]. *Microbiol Spectr*, 2025, 13(6): e0251824.
- [11] Teng F, Yang F, Huang S, et al. Prediction of early childhood caries via spatial-temporal variations of oral microbiota[J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 18(3): 296-306.
- [12] Grier A, Myers JA, O'Connor TG, et al. Oral microbiota composition predicts early childhood caries onset[J]. *J Dent Res*, 2021, 100(6): 599-607.
- [13] Proctor DM, Shelef KM, Gonzalez A, et al. Microbial biogeography and ecology of the mouth and implications for periodontal diseases[J]. *Periodontol 2000*, 2020, 82(1): 26-41.
- [14] Duran-Pinedo AE. Metatranscriptomic analyses of the oral microbiome[J]. *Periodontol 2000*, 2021, 85(1): 28-45.
- [15] 张洋洋, 何金枝, 周学东, 等. 人类黏膜微生物群落年龄相关性演替研究[J]. *华西口腔医学杂志*, 2014, 32(2): 177-181.
Zhang YY, He JZ, Zhou XD, et al. Human buccal mucosa microbiota succession across age[J]. *West China J*

- Stomatol, 2014, 32(2): 177-181.
- [16] AlHarbi SG, Almushayt AS, Bamashmous S, et al. The oral microbiome of children in health and disease—a literature review[J]. *Front Oral Health*, 2024, 5: 1477004.
- [17] Opydo-Szymaczek J, Torlińska-Walkowiak N, Maćkowiak K, et al. Supragingival plaque microbiota and caries risk factors among children with mixed dentition[J]. *BMC Oral Heal*, 2025, 25: 791.
- [18] Lee E, Park S, Um S, et al. Microbiome of saliva and plaque in children according to age and dental caries experience[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2021, 11(8): 1324.
- [19] Rajasekaran JJ, Krishnamurthy HK, Bosco J, et al. Oral microbiome: a review of its impact on oral and systemic health[J]. *Microorganisms*, 2024, 12(9): 1797.
- [20] Yang XX, He LD, Yan SQ, et al. The impact of caries status on supragingival plaque and salivary microbiome in children with mixed dentition: a cross-sectional survey [J]. *BMC Oral Heal*, 2021, 21: 319.
- [21] Giacomini JJ, Torres-Morales J, Dewhirst FE, et al. Spatial ecology of the Neisseriaceae family in the human oral cavity[J]. *Microbiol Spectr*, 2025, 13(5): e0327524.
- [22] Tsai CY, Tang CY, Tan TS, et al. Subgingival microbiota in individuals with severe chronic periodontitis[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2018, 51(2): 226-234.
- [23] Chaple-Gil AM, Santiesteban-Velázquez M, Urbizo Vélez JJ. Association between oral microbiota dysbiosis and the risk of dementia: a systematic review[J]. *Dent J*, 2025, 13(6): 227.
- [24] Ho TE, Yang YM, Gu WJ, et al. Construction of an early childhood caries risk prediction model based on the oral microbiome: a nested case–control study[J]. *BMC Oral Heal*, 2025, 25: 923.
- [25] Qudeimat MA, Alyahya A, Karched M, et al. Dental plaque microbiota profiles of children with caries-free and caries-active dentition[J]. *J Dent*, 2021, 104: 103539.
- [26] Tynior W, Klósek M, Salatino S, et al. Metagenomic analysis of the buccal microbiome by nanopore sequencing reveals structural differences in the microbiome of a patient with molar incisor hypomineralization (MIH) compared to a healthy child: case study[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(23): 13143.
- [27] Sato-Suzuki Y, Washio J, Wicaksono DP, et al. Nitrite-producing oral microbiome in adults and children[J]. *Sci Rep*, 2020, 10: 16652.
- [28] Wicaksono DP, Washio J, Abiko Y, et al. Nitrite production from nitrate and its link with lactate metabolism in oral *Veillonella* spp[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2020, 86(20): e01255-20.
- [29] Ma SY, Zhou QN, Cai S, et al. A comparative study of microbial changes in dental plaque before and after single- and multiappointment treatments in patients with severe early childhood caries[J]. *BMC Oral Heal*, 2024, 24: 695.
- [30] Borisy GG, Valm AM. Spatial scale in analysis of the dental plaque microbiome[J]. *Periodontol 2000*, 2021, 86(1): 97-112.
- [31] Stephen AS, Dhadwal N, Nagala V, et al. Interdental and subgingival microbiota May affect the tongue microbial ecology and oral malodour in health, gingivitis and periodontitis[J]. *J Periodontal Res*, 2021, 56(6): 1174-1184.
- [32] Zeng X, Ma Q, Huang CX, et al. Diagnostic potential of salivary microbiota in persistent pulmonary nodules: identifying biomarkers and functional pathways using 16S rRNA sequencing and machine learning[J]. *J Transl Med*, 2024, 22: 1079.
- [33] Luo SS, Shao RR, Hong Y, et al. Identifying the oral microbiome of adolescents with and without dental fluorosis based on full-length 16S rRNA gene sequencing[J]. *Front Microbiol*, 2024, 15: 1296753.
- [34] Jaber Y, Sarusi-Portuguez A, Netanel Y, et al. Gingival spatial analysis reveals geographic immunological variation in a microbiota-dependent and -independent manner [J]. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2024, 10(1): 142.
- [35] Cantalupo P, Diacou A, Park S, et al. Single-cell RNA-seq reveals a resolving immune phenotype in the oral mucosa[J]. *iScience*, 2024, 27(9): 110735.
- [36] Samaranayake L, Matsubara VH. Normal oral flora and the oral ecosystem[J]. *Dent Clin N Am*, 2017, 61(2): 199-215.
- [37] Martínez-Porchas M, Villalpando-Canchola E, Vargas-Albores F. Significant loss of sensitivity and specificity in the taxonomic classification occurs when short 16S rRNA gene sequences are used[J]. *Heliyon*, 2016, 2(9): e00170.
- [38] Na HS, Song YR, Yu Y, et al. Comparative analysis of primers used for 16S rRNA gene sequencing in oral microbiome studies[J]. *MPs*, 2023, 6(4): 71.