

# 慢性牙周炎龈下菌群与龈沟液炎症因子及种植修复后种植体周围骨吸收的关系

谢宝强, 孙田力

(蚌埠市第三人民医院口腔科, 安徽 蚌埠 233000)

**【摘要】目的:** 探究慢性牙周炎 (CP) 龈下菌群与龈沟液炎症因子及种植修复后种植体周围骨吸收的关系。**方法:** 选取行种植修复的 108 例 CP 牙列缺损患者纳入 CP 组, 另选取 50 例同时期牙周健康的牙列缺损患者作为对照组。比较两组患者种植修复前后龈下菌群分布情况、龈沟液炎症因子 [ 白细胞介素 6 (IL-6)、白细胞介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、基质金属蛋白酶 9 (MMP-9) ] 水平及修复后 3 个月种植体周围骨吸收情况, 采用 Pearson 相关性分析 CP 患者术前龈下菌群数量与龈沟液炎症因子及修复后 3 个月种植体周围骨吸收量的相关性。**结果:** 两组种植修复后 3 个月龈下菌斑中牙龈卟啉单胞菌 (P. g)、中间普氏菌 (P. i)、具核梭杆菌 (F. n)、粘性放线菌 (A. v)、变形链球菌 (S. m) 数量均较修复前下降 ( $P < 0.05$ ), 且 CP 组修复前后 P. g、P. i、F. n、A. v、S. m 菌群数量均大于对照组 ( $P < 0.05$ ); 两组修复后 3 个月龈沟液 IL-6、IL-1 $\beta$ 、MMP-9 水平均较修复前下降, 且 CP 组修复前后水平均大于对照组 ( $P < 0.05$ ); CP 组修复后 3 个月种植体周围近中、远中边缘骨吸收量均大于对照组 ( $P < 0.05$ ); Pearson 相关性分析显示, CP 组龈下 P. g、P. i、F. n、A. v、S. m 菌群数量与龈沟液 IL-6、IL-1 $\beta$ 、MMP-9 水平及种植修复后 3 个月近中、远中边缘骨吸收量均呈正相关关系 ( $P < 0.05$ )。**结论:** CP 患者龈下菌斑中 P. g、P. i、F. n、A. v、S. m 菌群数量的增加与局部炎症加重及种植修复后种植体周围骨吸收密切相关。

**【关键词】** 慢性牙周炎; 种植修复; 龈下菌群; 炎症因子; 种植体; 骨吸收

**【中图分类号】** R781.4 **【文献标志码】** A

## Relationship between subgingival microbiota and inflammatory factors in gingival crevicular fluid in chronic periodontitis, and peri-implant bone resorption after implant restoration

XIE Bao-qiang, SUN Tian-li

(Department of Stomatology, the Third the People's Hospital of Bengbu, Bengbu 233000, Anhui, China)

**【Abstract】Objective:** To explore the relationship between subgingival microbiota and inflammatory factors in gingival crevicular fluid (GCF) in chronic periodontitis (CP), as well as peri-implant bone resorption after implant restoration. **Methods:** A total of 108 patients with CP who underwent implant restoration were included in the CP group, 50 patients with periodontally healthy dentitions and tooth loss during the same period were selected as the control group. The distribution of subgingival microbiota, levels of inflammatory factors in gingival crevicular fluid [ interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), matrix metalloproteinase 9, (MMP-9) ], and peri-implant bone resorption 3 months after restoration were compared between the two groups. Pearson correlation analysis was used to evaluate the correlation between the preoperative subgingival microbiota count in CP patients and the levels of inflammatory factors in gingival crevicular fluid, as well as the amount of peri-implant bone resorption 3 months after restoration. **Results:** In both groups, the counts of Porphyromonas gingivalis (P. g), Prevotella intermedia (P. i), Fusobacterium nucleatum (F. n), Aggregatibacter actinomycetemcomitans (A. v), and Streptococcus mutans (S. m) in subgingival plaque decreased 3 months after implant restoration compared to pre-restoration levels ( $P < 0.05$ ). The CP group had higher counts of P. g, P. i, F. n, A. v, and S. m both before and after restoration compared to the control group ( $P < 0.05$ ). The levels of IL-6, IL-1 $\beta$ , and MMP-9 in gingival crevicular fluid decreased after restoration in both groups, with the CP group exhibiting higher levels before and after restoration compared to the control group ( $P < 0.05$ ). Peri-implant bone resorption at the mesial and distal aspects 3 months after restoration was higher in the CP group compared to the control group ( $P < 0.05$ ). Pearson correlation analysis revealed positive correlations between the counts of P. g, P. i, F. n, A. v, S. m in subgingival plaque, levels of IL-6, IL-1 $\beta$ , MMP-9 in gingival crevicular fluid, and the amount of peri-implant bone resorption at the mesial and distal aspects in the CP group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The increased counts of P. g, P. i, F. n, A. v, and S. m in subgingival plaque of CP pa-

tients are closely associated with aggravated local inflammation and peri-implant bone resorption after implant restoration.

**【Key words】** Chronic periodontitis; Implant restoration; Subgingival microbiota; Inflammatory factors; Dental implant; Bone resorption

口腔种植技术是当代牙科医学的重要成就,为牙列缺损患者提供了更优质、稳定的修复方案,但其伴随的并发症如种植体周围炎、种植体黏膜炎等种植体周围病已成为影响种植体存活率和稳定性的主要因素<sup>[1]</sup>。种植体周围病的病理过程与牙周病类似,都与口腔内微生物菌群失衡有关,龈下菌斑中一些主要的致病菌如牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, P. g)、中间普氏菌(*Prevotella intermedia*, P. i)、具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*, F. n)、粘性放线菌(*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, A. v)、变形链球菌(*Streptococcus mutans*, S. m)等起关键作用,可引发口腔内炎症反应,刺激龈沟液中炎症因子的释放,进而导致破坏牙周组织和种植体周围骨的吸收<sup>[2]</sup>。近年来,临床已明确了牙周病与种植体周围病的关联,但对于龈下菌群数量与种植体周围骨吸收量之间关系的深入探讨尚不足<sup>[3]</sup>。此外,龈下菌群的数量与种植体周围病的严重程度有关,然而在慢性牙周炎(chronic periodontitis, CP)患者种植修复后的龈下菌群变化的报道尚少<sup>[4]</sup>。基于此,本研究拟探讨 CP 患者种植修复前后龈下菌群数量的变化,以及龈下菌群数量与龈沟液炎症因子水平与种植术后种植体周围骨吸收的相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2020 年 1 月至 2023 年 1 月蚌埠市第三人民医院收治行种植修复的 108 例 CP 牙列缺损患者纳入 CP 组,另选取同时期牙周健康的 50 例牙列缺损患者作为对照组。纳入标准:(1)年龄 > 18 岁;(2)牙列缺损时间 ≥ 90 d,剩余骨量充足,在蚌埠市第三人民医院进行种植修复;(3)CP 组符合 CP 诊断标准<sup>[5]</sup>;(4)对照组牙周健康,无牙周疾病史。排除标准:(1)孕期或哺乳期女性;(2)患糖尿病等系统性疾病者;(3)有其他口腔疾病;(4)近期接受过其他口腔手术;(5)有严重牙周疾病且未经有效治疗者;(6)长期使用口腔冲洗液、抗生素、糖皮质激素、免疫抑制药物者;(7)有骨质疏松症或长期使用影响骨代谢的药物者。CP 组中,男性 56 例,女性 52 例;年龄 25 ~ 65 岁;缺牙数目 1 ~ 5 颗,平均 3.25 颗。对照组中,男性 27 例,女性 23 例;年龄 19 ~ 64 岁;缺牙数目 1 ~ 4 颗,平均 3.12 颗。两组患者性别、年龄、缺牙数目比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。本研究已获医院伦理委员会审批通过,并

由患者签署知情同意书。

### 1.2 治疗方法

(1)CP 组:术前进行牙周基础治疗,利用超声波洁牙器和手工刮治器具,除去牙菌斑和牙结石,包括龈下和深达牙根表面的部分;初期治疗后 6 ~ 8 周,重新测量牙周袋深度,以确定是否需要进一步的治理,必要时可能会再次进行根面刮治;局部麻醉后,通过切开牙龈形成翻瓣,暴露牙齿的根面和牙槽骨,清洁、平滑牙根表面;择期行种植手术,麻醉后,在牙槽骨上钻出一个合适大小的孔,将种植体螺入孔中,将种植体表面覆盖,进入恢复期等待骨愈合,在种植体与骨愈合稳定后进行修复,包括安装基台、印模和试戴,然后固定最终修复体,如冠、桥或义齿。

(2)对照组:术前由专业的口腔卫生医师进行口腔卫生指导,包括正确的刷牙方式,如修饰性刷牙法和巴塞尔刷牙法,以及正确使用牙线和口腔冲洗器,种植手术及修复步骤同 CP 组。

### 1.3 龈下菌群检测方法

分别于治疗前后采用无菌刮治器从龈下腔深度 ≤ 4 mm 的牙周袋取样,取样前采用生理盐水冲洗口腔,采用吸盘吸去多余唾液,采集的样品置入无菌试管,用含有保护剂的生理盐水溶液稀释,菌液分别接种于 P. g、P. i、F. n、A. v、S. m 培养基中,厌氧菌培养 5 d,需氧菌培养 2 d,采用美国 APU 20-A 鉴定系统对菌落进行计数。

### 1.4 龈沟液炎症因子检测方法

分别于治疗前后,采用滤纸条采集龈沟液样本,采集过程中尽量避免接触到口腔其他部位,避免唾液污染,采集到的样本置于 EP 管中, - 80 °C 冻存待检。样本解冻离心,取上清液,采用酶联免疫吸附法测定上清液白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、白细胞介素 1β (IL-1β)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 水平。

### 1.5 骨吸收检测

种植修复后 3 个月,采用锥形束 CT 检查种植体周围骨吸收量,也即是种植体-基台结合部至牙槽嵴顶冠方距离差异,分别测量种植体周围近中、远中边缘部位的骨吸收量,接受多颗种植体植入的患者,计算种植体平均吸收量纳入分析。

### 1.6 观察指标

比较两组患者种植修复前后龈下菌群分布情况、龈沟液炎症因子水平及修复后 3 个月种植体周围骨吸收情况,分析 CP 患者术前龈下菌群数量与

龈沟液炎症因子及修复后 3 个月种植体周围骨吸收量的相关性。

### 1.7 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,非正态分布的计量资料采用对数转换为正态后进行分析,两组间比较采用独立样本  $t$  检验,同组治疗前后比较采用配对样本  $t$  检验;计数资料采用[ $n(\%)$ ]表示,组间比较采用 $\chi^2$  检验;采用 Pearson 相关性系数进行相关性分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组修复前后龈下菌群数量比较

种植修复后 3 个月,两组患者龈下菌斑中 P. g、P. i、F. n、A. v、S. m 数量均下降( $P < 0.05$ ),且 CP 组修复前后各菌群数量均大于对照组( $P < 0.05$ )。见表 1。

### 2.2 两组修复前后龈沟液炎症因子水平比较

修复后 3 个月,两组龈沟液 IL-6、IL-1 $\beta$ 、MMP-9 水平均下降( $P < 0.05$ ),且 CP 组修复前后各指标水平均大于对照组( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 1 两组修复前后龈下菌群数量比较( $\bar{x} \pm s$ , CFU/mL)

组别	P. g		P. i		F. n		A. v		S. m	
	修复前	修复后	修复前	修复后	修复前	修复后	修复前	修复后	修复前	修复后
CP 组( $n=108$ )	7.32 ± 1.41	5.13 ± 1.01 *	6.98 ± 1.34	4.82 ± 0.97 *	7.12 ± 1.45	5.01 ± 1.03 *	6.58 ± 1.37	4.69 ± 0.92 *	6.89 ± 1.43	4.93 ± 1.02 *
对照组( $n=50$ )	4.68 ± 0.93	3.24 ± 0.67 *	4.53 ± 0.87	3.12 ± 0.63 *	4.64 ± 0.92	3.18 ± 0.68 *	4.51 ± 0.89	3.11 ± 0.64 *	4.76 ± 0.95	3.29 ± 0.69 *
$t$ 值	12.069	12.051	11.816	11.326	11.094	11.451	9.764	10.968	9.590	10.320
$P$ 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

\*  $P < 0.05$ ,与同组修复前比较。

表 2 两组修复前后龈沟液炎症因子水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	IL-6 (pg/mL)		IL-1 $\beta$ (ng/mL)		MMP-9 (pg/mL)	
	修复前	修复后	修复前	修复后	修复前	修复后
CP 组( $n=108$ )	24.46 ± 4.32	11.73 ± 3.94 *	13.47 ± 2.81	8.34 ± 2.18 *	9.83 ± 2.03	6.09 ± 1.57 *
对照组( $n=50$ )	12.32 ± 2.64	9.43 ± 2.01 *	7.91 ± 1.68	6.23 ± 1.32 *	5.12 ± 1.09	3.98 ± 0.84 *
$t$ 值	18.331	3.895	12.948	6.322	15.393	8.920
$P$ 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

\*  $P < 0.05$ ,与同组修复前比较。

### 2.3 两组种植修复后种植体周围骨吸收比较

修复后 3 个月,CP 组患者种植体周围近中、远中边缘骨吸收量均大于对照组( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 两组种植修复后种植体周围骨吸收比较( $\bar{x} \pm s$ , mm)

组别	近中边缘骨吸收量	远中边缘骨吸收量
CP 组( $n=108$ )	1.85 ± 0.30	1.78 ± 0.36
对照组( $n=50$ )	0.84 ± 0.17	0.81 ± 0.16
$t$ 值	22.190	18.214
$P$ 值	<0.001	<0.001

### 2.4 术前龈下菌群数量与龈沟液炎症因子水平相关性分析

CP 组龈下 P. g、P. i、F. n、A. v、S. m 菌群数量与龈沟液 IL-6、IL-1 $\beta$ 、MMP-9 水平均呈正相关关系( $P < 0.05$ )。见表 4。

### 2.5 术前龈下菌群数量与种植体周围骨吸收的相关性分析

CP 组龈下 P. g、P. i、F. n、A. v、S. m 菌群数量与种植修复后 3 个月近中、远中边缘骨吸收量均呈正相关关系( $P < 0.05$ )。见表 5。

表 4 术前龈下菌群数量与龈沟液炎症因子水平相关性分析

龈下菌群数量	IL-6		IL-1 $\beta$		MMP-9	
	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值
P. g	0.563	<0.001	0.509	0.004	0.523	0.002
P. i	0.578	<0.001	0.534	0.002	0.547	<0.001
F. n	0.526	0.002	0.491	0.005	0.504	0.003
A. v	0.567	<0.001	0.511	0.004	0.528	0.002
S. m	0.551	<0.001	0.514	0.003	0.529	0.002

表 5 术前龈下菌群数量与种植体周围骨吸收的相关性分析

龈下菌群数量	近中边缘骨吸收量		远中边缘骨吸收量	
	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值
P. g	0.489	0.006	0.472	0.008
P. i	0.503	0.005	0.487	0.007
F. n	0.484	0.006	0.468	0.008
A. v	0.492	0.006	0.475	0.008
S. m	0.498	0.005	0.482	0.007

## 3 讨论

CP 是一种由口腔内特定病原菌引起的,以牙周袋形成、牙槽骨吸收为主要特征的疾病。近年来,随

着口腔种植学的发展,种植修复在压裂缺损患者中得到了广泛的应用<sup>[6]</sup>。然而,CP患者口腔环境复杂,种植修复的成功率受到牙周病原菌的影响,病原菌刺激宿主产生炎症反应,导致种植体周围的骨组织破坏,从而影响种植体的稳定性和成功率<sup>[7]</sup>。

本研究选取了CP患者进行种植修复前后以及牙周健康的牙列缺损患者进行种植修复前后的口腔样本,对比分析了修复前后龈下菌群数量的变化,发现无论是种植修复前还是种植修复后,CP组患者的龈下菌群数量 *P. g.*、*P. i.*、*F. n.*、*A. v.*、*S. m.* 均高于对照组,提示在CP患者中,口腔内微生物环境的失衡情况严重,病原菌数量显著增多。*P. g.*、*P. i.*、*F. n.*、*A. v.*、*S. m.* 等病原菌可通过破坏宿主口腔菌群平衡,触发和加剧炎症反应,可改变口腔内活动,刺激宿主产生炎症反应,进一步诱导免疫细胞产生并释放炎症因子,进而促进骨溶解,导致骨组织破坏<sup>[8]</sup>。*P. g.* 不仅可刺激宿主炎症反应,还可影响其他口腔菌群的活动,比如通过产生酶和毒素,破坏宿主的口腔黏膜,为 *P. i.*、*F. n.* 等其他病原菌提供更有利的生存环境,进一步加剧口腔菌群的失衡,加重口腔炎症<sup>[9]</sup>。*A. v.*、*S. m.* 是口腔内的共生菌,但在特定环境下,如口腔卫生条件差或宿主免疫力下降时,也可转变为病原体,进一步加重口腔炎症<sup>[10]</sup>。此外,本研究发现虽然种植修复后CP组患者的龈下病原菌数量有所下降,但仍然高于对照组,这可能是由于CP患者的口腔卫生管理不佳,无法有效抑制病原菌的生长。种植修复后,适应和恢复期较长,患者的身体条件、口腔卫生状况以及个体生理差异等诸多因素均会影响到口腔内的微生物平衡状态,若术后未能进行有效的口腔卫生管理,病原菌易过度繁殖<sup>[11]</sup>。

本研究发现,种植修复后两组龈沟液 IL-6、IL-1 $\beta$ 、MMP-9 水平均有所下降,提示患者口腔内炎症反应得到缓解,然而CP组修复前后龈沟液炎症因子水平均高于对照组,可能是由于CP患者口腔微生物环境失衡,导致病原菌持续刺激宿主的免疫反应。IL-6、IL-1 $\beta$ 、MMP-9 是重要的炎症反应标志物,均在牙周病和种植体周围病中都发挥着关键作用,其中 IL-6 和 IL-1 $\beta$  可刺激免疫反应,调节骨重塑,影响种植体的骨结合和骨吸收;MMP-9 是一种能够降解骨基质的酶,过量的 MMP-9 可能导致种植体周围骨的破坏<sup>[12]</sup>。因此,虽然种植修复后,IL-6、IL-1 $\beta$ 、MMP-9 表达下调,但基于CP组患者口腔中病原菌数量较多,该类因子的水平仍高于健康者,极可能会对种植体的稳定性产生影响。本研究显示,CP组种植体周围近中和远中边缘骨吸收量均高于对照组,这可能是由于CP组患者龈下病原菌数量较多,导致持续性炎症反应。研究表明,CP患者龈下 *P. g.*、*P. i.*、

*F. n.*、*A. v.*、*S. m.* 菌群数量与龈沟液中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、MMP-9 水平呈正相关,免疫系统产生的炎症反应越剧烈,龈沟液炎症因子水平越高。此外,本研究还显示CP组患者的龈下病原菌数量与种植修复后3个月的近中和远中边缘骨吸收量存在正相关关系,进一步证实病原菌可通过刺激宿主产生的炎症反应,导致骨组织的破坏和吸收,且这种破坏不仅限于口腔局部,还可能影响到整个种植体的稳定性和成功率。

综上,在种植修复过程中控制口腔内病原菌数量尤为重要,龈下菌群 *P. g.*、*P. i.*、*F. n.*、*A. v.*、*S. m.* 数量与龈沟液炎症因子 IL-6、IL-1 $\beta$ 、MMP-9 表达呈正相关关系,密切影响种植修复后骨吸收。

#### 参考文献

- [1] 陈斌,李丽丽,张倩,等. 侵袭性牙周炎、慢性牙周炎与牙周健康者龈下菌群的差异研究[J]. 中华口腔医学杂志,2020,55(7):466-474.
- [2] 牛家慧,李创,李蓉,等. 基于高通量测序技术探究2型糖尿病合并慢性牙周炎患者牙周治疗前后龈下菌群的变化[J]. 新疆医科大学学报,2021,44(4):453-457.
- [3] 高鑫,杨付田,刘路阳,等. 慢性牙周炎患者龈下菌群与病情及种植修复临床效果的相关性[J]. 中国微生态学杂志,2022,34(8):912-915,920.
- [4] 闫乐,王宪娥,詹雅琳,等. 超声龈下清创联合手工根面平整术治疗重度牙周炎的临床效果[J]. 北京大学学报(医学版),2020,52(1):64-70.
- [5] Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: framework and proposal of a new classification and case definition[J]. Journal of Clinical Periodontology, 2018, 45: S149-S161.
- [6] 叶良静,李慧,孙卫国,等. 龈沟液 miR-155、miR-223 表达水平与慢性牙周炎伴2型糖尿病患者牙周临床指标、口腔龈下菌群以及 Th17/Treg 失衡的相关性分析[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(2): 350-355.
- [7] 牛家慧,李创,李蓉,等. 高通量测序分析牙周基础治疗对65岁以上糖尿病合并慢性牙周炎患者龈下菌群的影响[J]. 临床与病理杂志, 2022, 42(2): 346-351.
- [8] 张晶,刘英奇,高庆玲,等. Er, Cr: YSGG 激光联合肿瘤安胶囊对慢性牙周炎患者牙周指标、龈下菌群及龈沟液炎症因子的影响[J]. 中国激光医学杂志, 2022, 31(3): 131-137.
- [9] Rodrigues MX, Fiani N, Bicalho RC, et al. Preliminary functional analysis of the subgingival microbiota of cats with periodontitis and feline chronic gingivostomatitis[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 6896.
- [10] Boyer E, Martin B, Le Gall-David S, et al. Periodontal pathogens and clinical parameters in chronic periodontitis[J]. Molecular Oral Microbiology, 2020, 35(1): 19-28.
- [11] Fernandes NAR, Camilli AC, Maldonado LAG, et al. Chalcone T4, a novel chalconic compound, inhibits inflammatory bone resorption in vivo and suppresses osteoclastogenesis in vitro[J]. Journal of Periodontal Research, 2021, 56(3): 569-578.
- [12] 祁海龙,王斯璐. 慢性牙周炎伴咬合创伤患者龈沟液炎症因子表达及与骨代谢指标的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(5): 164-168.

(收稿日期:2023-04-02

修回日期:2023-04-30)