

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.10.023

口腔扁平苔藓患者血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平与免疫功能的相关性分析

刘亚娟¹, 张文涛^{2△}

1. 陕西中医药大学第二附属医院口腔科, 陕西咸阳 712000; 2. 西安高新医院口腔科, 陕西西安 710075

摘要:目的 探讨口腔扁平苔藓(OLP)患者血清神经生长因子(NGF)、可溶性程序性死亡受体 1(sPD-1)、调节活化正常 T 细胞表达和分泌因子(RANTES)水平与免疫功能的相关性。**方法** 将 2018 年 3 月至 2020 年 3 月陕西中医药大学第二附属医院收治的 75 例 OLP 患者纳入研究,按照病情严重程度分作糜烂型组(40 例)及非糜烂型组(35 例)。另选取同期于该院进行体检的健康志愿者 35 例作为对照组。检测并比较 3 组血清 NGF、sPD-1 及 RANTES 水平,以及外周血 T 淋巴细胞亚群和体液免疫指标水平。采用 Pearson 相关分析 OLP 患者血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平与外周血 T 淋巴细胞亚群和体液免疫指标的相关性。**结果** 糜烂型组和非糜烂型组的血清 NGF、sPD-1、RANTES、免疫球蛋白(Ig)M 水平及 CD8⁺ 均明显高于对照组,且糜烂型组高于非糜烂型组(均 $P < 0.05$);糜烂型组和非糜烂型组的 CD3⁺、CD4⁺ 均低于对照组,且糜烂型组低于非糜烂型组(均 $P < 0.05$)。Pearson 相关分析显示,OLP 患者血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平与 CD3⁺、CD4⁺ 均呈负相关,与 CD8⁺、IgM 水平均呈正相关(均 $P < 0.05$)。**结论** OLP 患者血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平均明显升高,且与患者细胞免疫及体液免疫密切相关。

关键词:口腔扁平苔藓; 神经生长因子; 可溶性程序性死亡受体 1; 调节活化正常 T 细胞表达和分泌因子; 相关性

中图分类号:R446.6;R781.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)10-1386-04

Correlation between serum NGF, sPD-1, RANTES levels and immune function in patients with oral lichen planus

LIU Yajuan¹, ZHANG Wentao^{2△}

1. Department of Stomatology, the Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xi'anyang, Shaanxi 712000, China; 2. Department of Stomatology, Xi'an Gaoxin Hospital, Xi'an, Shaanxi 710075, China

Abstract: Objective To investigate the correlation between serum nerve growth factor (NGF), soluble programmed death receptor 1 (sPD-1), regulation-activated normal T cell expression and secreted factor (RANTES) levels and immune function in oral lichen planus (OLP) patients. **Methods** A total of 75 OLP patients admitted to the Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine from March 2018 to March 2020 were included in this study, and they were divided into erosion group (40 cases) and non-erosion group (35 cases) according to the severity of the disease type. In addition, another 35 healthy volunteers who underwent physical examination in this hospital were selected as the control group. The serum NGF, sPD-1 and RANTES levels in the three groups were detected and compared, as well as the peripheral blood T lymphocyte subsets and humoral immunity indexes. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between serum NGF, sPD-1, RANTES levels and peripheral blood lymphocyte subsets and humoral immunity indexes in OLP patients. **Results** The serum NGF, sPD-1, RANTES, immunoglobulin (Ig) M levels and CD8⁺ in erosion group and non-erosion group were significantly higher than those in control group, and those in erosion group were significantly higher than those in non-erosion group (all $P < 0.05$). The CD3⁺, CD4⁺ in erosion group and non-erosion group were lower than those in control group, and those in erosion group were lower than those in non-erosion group (all $P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that serum NGF, SPD-1 and RANTES levels in OLP patients were negatively correlated with CD3⁺ and CD4⁺, but positively correlated with CD8⁺ and IgM levels (all $P < 0.05$). **Conclusion** The serum NGF, sPD-1 and RANTES levels in OLP patients significantly increased, which closely related to cellular immunity and humoral immunity.

Key words: oral lichen planus; nerve growth factor; soluble programmed death receptor 1; regulating and activating normal T cell expression and secreting factors; correlation

口腔扁平苔藓(OLP)是临床上较为常见的口腔黏膜慢性炎症性疾病之一,多见于中年女性人群,发病率为 0.5%~4.0%,如不予以积极有效的治疗可能有恶性病变的风险^[1]。OLP 的发病与患者机体的炎症反应和免疫状态均具有一定的关联^[2]。其中神经生长因子(NGF)的异常升高可能对炎症介质释放起到刺激作用,可进一步增强炎症反应,其在多种疾病的发生、发展中起重要作用^[3]。可溶性程序性死亡受体 1(sPD-1)是近年来所发现的一种和 T 淋巴细胞功能异常变化密切相关的调控因子,可通过和其配体特异性结合发挥抑制 T、B 细胞功能的作用,从而抑制 T 细胞的增殖,介导多种疾病的发生、发展^[4]。调节活化正常 T 细胞表达和分泌因子(RANTES)属于 CC 亚族趋化因子之一,对多种细胞,如 T 细胞、自然杀伤细胞及嗜酸性/碱性粒细胞均有调控作用,继而可能参与了多种疾病的发生、发展^[5]。鉴于此,本文通过研究 OLP 患者血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平与外周血 T 淋巴细胞亚群和体液免疫指标的相关性,以期 OLP 的诊治提供参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将陕西中医药大学第二附属医院 2018 年 3 月至 2020 年 3 月收治的 75 例 OLP 患者纳入研究。纳入标准:(1)符合第 4 版《口腔黏膜病学》^[6]中所制定的 OLP 相关诊断及分型标准;(2)首次发病;(3)入组前尚未接受任何相关治疗;(4)经病理学检查确诊。排除标准:(1)入组前 30 d 内接受过抗菌药物治疗;(2)入组前 90 d 内接受过糖皮质激素和(或)免疫制剂等药物治疗;(3)合并全身系统性疾病或恶性肿瘤;(4)伴有牙龈炎或牙周炎等口腔疾病;(5)妊娠期或哺乳期女性。根据疾病类型将 75 例 OLP 患者分为糜烂型组(40 例)及非糜烂型组(35 例)。糜烂型组男 13 例,女 27 例;年龄 21~69 岁,平均(50.32±10.33)岁;病程 1 个月至 3 年,平均(1.33±0.26)年。非糜烂型组男 11 例,女 24 例;年龄 22~73 岁,平均(50.56±10.41)岁;病程 1 个月至 4 年,平均(1.37±0.24)年。另选取同期于本院进行体检的健康志愿者 35 例作为对照组。其中男 10 例,

女 25 例;年龄 22~69 岁,平均(50.44±10.38)岁。各组性别、年龄等比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。各组受试者均签署知情同意书,本院伦理委员会已批准本研究。

1.2 方法

1.2.1 血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平检测 分别采集患者入院后次日清晨、健康志愿者体检当天空腹静脉血 5 mL,以 3 000 r/min 离心 10 min(离心半径为 10 cm),获取血清。采用酶联免疫吸附试验法进行 NGF、sPD-1、RANTES 水平检测,操作严格遵循试剂盒说明书。相关试剂盒均购自上海创祥生物科技有限公司。

1.2.2 外周血 T 淋巴细胞亚群水平检测 采集患者入院后次日清晨、健康志愿者体检当天静脉血 2 mL,以乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝处理备用。采用 Bricyete E6 流式细胞仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)检测 CD3⁺、CD4⁺ 及 CD8⁺。

1.2.3 体液免疫指标检测 分别采集患者入院后次日清晨、健康志愿者体检当天空腹静脉血 2 mL,在室温条件下 3 000 r/min 离心 10 min,获取血清后立即送检。采用免疫散射比浊法检测体液免疫指标,包括免疫球蛋白(Ig)G、IgA 及 IgM,操作严格遵循试剂盒说明书完成。相关试剂盒均购自武汉博士德生物科技有限公司。

1.3 统计学处理 应用 SPSS22.0 软件进行数据处理,经正态性检验及方差齐性检验,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验;计数资料以构成比描述,行 χ^2 检验。采用 Pearson 相关性分析 OLP 患者血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平与外周血 T 淋巴细胞亚群、体液免疫指标的关系。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平比较 糜烂型组和非糜烂型组的血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平均明显高于对照组,且糜烂型组高于非糜烂型组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 3 组血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	NGF(ng/mL)	sPD-1(ng/L)	RANTES(pg/mL)
糜烂型组	40	140.38±15.98 ^{ab}	31.42±4.92 ^{ab}	47 321.15±1 142.03 ^{ab}
非糜烂型组	35	107.76±12.55 ^a	24.07±3.75 ^a	10 445.87±764.96 ^a
对照组	35	89.06±11.60	16.41±2.06	2 345.45±231.97
<i>F</i>		13.205	8.387	9.592
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与非糜烂型组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.2 3 组 T 淋巴细胞亚群比较 糜烂型组和非糜烂型组 CD3⁺、CD4⁺ 均低于对照组,且糜烂型组低于非糜烂型组 ($P < 0.05$);糜烂型组和非糜烂型组的 CD8⁺ 均高于对照组,且糜烂型组高于非糜烂型组 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 3 组体液免疫指标水平比较 糜烂型组和非糜烂型组的 IgM 水平均高于对照组,且糜烂型组高于非糜烂型组 ($P < 0.05$);3 组 IgG、IgA 水平比较,差异无统

计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

2.4 血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平与外周血 T 淋巴细胞亚群和体液免疫指标的相关性分析 经 Pearson 相关分析可得,OLP 患者血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平与 CD3⁺、CD4⁺ 均呈负相关,与 CD8⁺、IgM 水平均呈正相关 ($P < 0.05$);血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平与 IgG、IgA 水平均无相关性 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 2 3 组 T 淋巴细胞亚群比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺
糜烂型组	40	61.49 ± 5.92 ^{ab}	32.05 ± 6.93 ^{ab}	30.41 ± 7.32 ^{ab}
非糜烂型组	35	65.22 ± 6.83 ^a	35.12 ± 7.11 ^a	25.25 ± 6.93 ^a
对照组	35	71.06 ± 8.45	38.56 ± 8.25	21.34 ± 6.46
F		6.108	5.734	5.345
P		0.001	0.006	0.010

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与非糜烂型组比较,^b $P < 0.05$ 。

表 3 3 组体液免疫指标水平比较 ($\bar{x} \pm s, \text{mg/L}$)

组别	n	IgG	IgA	IgM
糜烂型组	40	11 953.42 ± 214.66	2 279.43 ± 332.74	1 642.32 ± 413.84 ^{ab}
非糜烂型组	35	12 045.76 ± 206.34	2 285.37 ± 334.10	1 533.07 ± 388.47 ^a
对照组	35	12 453.19 ± 203.98	2 341.86 ± 336.37	1 074.51 ± 321.06
F		1.973	1.745	6.984
P		0.250	0.206	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与非糜烂型组比较,^b $P < 0.05$ 。

表 4 相关性分析

指标	NGF		sPD-1		RANTES	
	r	P	r	P	r	P
CD3 ⁺	-0.633	<0.001	-0.619	<0.001	-0.574	<0.001
CD4 ⁺	-0.602	<0.001	-0.521	0.002	-0.505	0.004
CD8 ⁺	0.569	<0.001	0.466	0.009	0.497	0.006
IgM	0.591	<0.001	0.577	<0.001	0.532	0.001
IgG	0.126	0.635	0.137	0.611	0.141	0.517
IgA	-0.146	0.510	-0.144	0.512	-0.138	0.525

3 讨 论

OLP 是发生在口腔黏膜的一组慢性炎症性自身免疫性疾病,会对患者的口腔黏膜组织(包括颊黏膜、舌背部及牙龈组织等)造成不同程度的影响^[7]。OLP 患者可伴有皮肤、指甲及其他部位的损伤,慢性、非自限性、有恶性变潜力是该病的特点。目前关于该病的具体病因及发病机制尚存在一定的争议,可能与免疫、感染及遗传等多种因素相关。目前普遍认为,T 淋巴细胞所介导的免疫功能改变在该病的发生、发展过程中起至关重要的作用^[8-10]。NGF 可通过和其高亲和力受体 TrkA 相结合继而发挥生物学功能,NGF

的异常增加可能导致炎症反应的增强,继而促进炎症介质的释放,促进炎症的发生、发展。正常生理调节下,适量的程序性死亡受体 1/程序性死亡受体 1 配体 (PD-1/PD-L1) 信号通路可对 T 细胞增殖及细胞因子的产生起抑制作用,进一步实现对 B 细胞和 T 细胞的调节,限制自身反应性 T 细胞效应及靶器官损害。而当上述信号通路所提供的负调节信号过强,可能会抑制 T 细胞的增殖、活化,继而引起细胞免疫功能缺陷。RANTES 属于趋化性细胞因子 CC 亚族成员之一,对单核细胞、嗜酸性粒细胞及自然杀伤细胞等多种细胞均有趋化或刺激作用^[11-13]。由此推测,NGF、sPD-1、RANTES 可能在 OLP 的发生、发展中起重要作用。

本研究结果发现,糜烂型组和非糜烂型组的血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平均高于对照组,而糜烂型组上述 3 项血清学指标水平均高于非糜烂型组,提示血清 NGF、sPD-1、RANTES 均可能参与 OLP 的发生、发展过程。分析原因,OLP 患者普遍存在多种炎症细胞因子的异常升高,加之口腔黏膜组织不同程度受损,继而可能诱导局部组织及外周血 NGF 的合成、分泌,而外周血 NGF 可通过血液循环的途径直接作用在局部组织,对神经纤维分布及神经元活性产生影响,并会诱导具备免疫调节功能的 P 物质合成及释

放,二者协同刺激炎症的进展,进一步参与 OLP 发生、发展^[14]。sPD-1 水平升高可能是机体对自身免疫的保护反应所致,其中 sPD-1 可通过和细胞膜上的 PD-L1 相结合,从而对 PD-1/PD-L1 通路所传递的负性调控起到阻断作用,进一步减轻了 PD-1 对 T 细胞功能造成的抑制,最终防止负性信号过强而导致的机体免疫损伤^[15]。RANTES 作为趋化性细胞因子 CC 亚族的重要成员之一,会对多种白细胞产生趋化或刺激作用,进一步促使 T 淋巴细胞向口腔黏膜固有层浸润,从而促进了 OLP 的发生、发展过程。刘健等^[16]的研究指出,RANTES 可能在 T 淋巴细胞聚集至 OLP 病变部位的过程中发挥着重要作用。相较于非糜烂型 OLP 患者,糜烂型 OLP 患者病情明显更加严重,因此上述血清指标水平异常表达更明显。此外,糜烂型组和非糜烂型组的 CD3⁺、CD4⁺ 均低于对照组,且糜烂型组低于非糜烂型组,而糜烂型组和非糜烂型组的 CD8⁺、IgM 水平均高于对照组,且糜烂型组高于非糜烂型组,提示细胞免疫及体液免疫均参与了 OLP 的发生、发展过程,且以细胞免疫为主。究其原因,OLP 的发病机制主要包括抗原特异性、非特异性两种,且无论哪种发病机制均伴随机体免疫功能的异常改变^[17]。另外,经 Pearson 相关分析可得,OLP 患者血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平与 CD3⁺、CD4⁺ 水平均呈负相关,而与 CD8⁺、IgM 水平均呈正相关,这说明血清 NGF、sPD-1、RANTES 在 OLP 发生、发展过程中的可能作用机制与细胞免疫、体液免疫的异常改变有关。分析原因,NGF 可通过和位于感觉神经末梢中的 TrkA 受体相结合,继而激活影响 SP 的合成及翻译的特异性信号通路,进一步导致 SP 的表达异常升高,对免疫应答产生间接影响^[18]。sPD-1 的高表达使其与细胞膜表面的 PD-1 结合概率增加,从而导致 PD-1 传递的负性信号增强,抑制了 T 细胞的功能,导致免疫功能出现异常^[19]。RANTES 作为趋化因子之一,可能通过促进 T 淋巴细胞增殖分化成为 CD4⁺ 辅助性 T 细胞 1 (Th1 细胞),继而参与免疫应答^[20]。

综上所述,OLP 血清 NGF、sPD-1、RANTES 水平均异常高表达,且与患者细胞免疫及体液免疫密切相关,可能成为 OLP 诊治的新靶点。

参考文献

- [1] 傅志华,武照,李乾鹏,等. 血管生成与口腔扁平苔藓关系的研究进展[J]. 口腔医学,2019,39(8):757-761.
- [2] 王安训. 口腔黏膜相关疾病免疫功能检测及意义[J]. 口腔疾病防治,2021,29(2):73-80.
- [3] 李文静,田松波,程冬梅,等. 神经生长因子对比格犬年轻恒牙牙髓组织再生的促进作用[J]. 吉林大学学报(医学版),2019,45(5):1075-1079.
- [4] WANG Y, PANG N, WANG X, et al. Percentages of PD-1(+) CD4(+) T cells and PD-L1(+) DCs are increased and sPD-1 level is elevated in patients with immune thrombocytopenia[J]. Hum Vaccin Immunother, 2018, 14(4):832-838.
- [5] LITTLE M C, GRIFFITHS C E, WATSON R E, et al. Oral mucosal keratinocytes express RANTES and ICAM-1, but not interleukin-8, in oral lichen planus and oral lichenoid reactions induced by amalgam fillings[J]. Clin Exp Dermatol, 2003, 28(1):64-69.
- [6] 陈谦明. 口腔黏膜病学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2012:103-105.
- [7] 路华林,路月亭,许彦枝,等. 口腔外用药物对口腔扁平苔藓治疗效果的 Meta 分析[J]. 海南医学,2020,31(17):2292-2300.
- [8] 刘晓慧,刘永红,张晓光,等. 康复新液与他克莫司联合沙利度胺治疗口腔扁平苔藓的疗效及安全性分析[J]. 现代生物医学进展,2020,20(15):2971-2974.
- [9] 隋长德,夏萍,齐春华. 筛选口腔扁平苔藓相关基因及生物学通路的研究[J]. 实用口腔医学杂志,2019,35(2):243-248.
- [10] 申俊,殷操,王炫,等. 口腔扁平苔藓患者外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞组蛋白乙酰化的意义[J]. 口腔疾病防治,2018,26(6):365-369.
- [11] 杨令云. T 淋巴细胞亚群检测在口腔扁平苔藓治疗中的应用价值[J]. 实用口腔医学杂志,2019,35(3):424-427.
- [12] 姜梦雨. 口腔扁平苔藓发病机制中 T 淋巴细胞作用及分布变化的研究进展[J]. 临床口腔医学杂志,2013,29(3):189-191.
- [13] 蒋永元,朱璇. 口腔扁平苔藓患者外周血中 Th1 和 Th17 升高在发病机制中的意义[J]. 现代仪器与医疗,2018,24(2):89-90.
- [14] 汪鹰,孙小琴,柳汀,等. 口腔扁平苔藓患者血清中神经生长因子和 P 物质的表达及意义[J]. 实用口腔医学杂志,2019,35(3):366-370.
- [15] 罗亮,舒美兰,李舒眉,等. 口腔扁平苔藓患者血清中可溶性程序性死亡受体 1 及其配体表达与免疫功能的相关性[J]. 中华口腔医学杂志,2015,50(10):585-589.
- [16] 刘健,刘晓敏,闫佩佩,等. 口腔扁平苔藓与 NF- κ B 通路相关因子 IL-8 和 RANTES 的关系研究[J]. 北京口腔医学,2020,28(2):78-81.
- [17] 徐晓雨,卢想来. 口腔扁平苔藓免疫学因素的研究现状[J]. 中华老年口腔医学杂志,2021,19(2):118-122.
- [18] HAYASHI K, KARATSAIDIS A, SCHREURS O, et al. NGF and its receptors TrkA and p75NTR in the epithelium of oral lichen[J]. J Oral Pathol Med, 2008, 37(4):241-248.
- [19] 昭日格图,张梅华,贺艳霞,等. 口腔扁平苔藓外周血 T 细胞 B7-H1/PD-1 信号的表达及其作用[J]. 中国临床研究,2017,30(11):1476-1480.
- [20] 张成仁,葛娅娜,靳慧,等. 口腔扁平苔藓患者血清 RANTES 及 IL-16 表达水平及其临床意义[J]. 哈尔滨医科大学学报,2011,45(2):142-145.