

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.23.013

口腔扁平苔藓患者外周血单个核细胞 TL1A、sPD-1 mRNA 表达与 Th17/Treg 失衡的相关性分析*

杨淇 于洁 曹岩 刘笑萍 郑卫卫[△]

(中国人民解放军联勤保障部队第九七〇医院五官科 山东烟台 264001)

摘要 目的:探讨口腔扁平苔藓(OLP)患者外周血单个核细胞肿瘤坏死因子样配体 1A(TL1A)、可溶性程序性死亡受体 1(sPD-1) 信使核糖核酸(mRNA)表达与辅助性 T 细胞 17(Th17)/调节性 T 细胞(Treg)失衡的相关性分析。**方法:**根据 133 例 OLP 患者损害类型分为糜烂型组(74 例)和非糜烂型组(59 例)。检测外周血单个核细胞 TL1A mRNA、sPD-1 mRNA 表达和外周血维甲酸相关孤儿核受体 γ t (ROR γ t)mRNA、叉头框蛋白 P3 (FOXP3)mRNA 表达以及 Th17、Treg 细胞比例。Pearson/Spearman 相关性分析 TL1A mRNA、sPD-1 mRNA 表达与 Th17/Treg 相关因子的关系。**结果:**与非糜烂型组比较,糜烂型组外周血单个核细胞 TL1A mRNA、sPD-1 mRNA、ROR γ t mRNA 表达水平和外周血 Th17 比例、Th17/Treg 比值升高,外周血 Treg 比例、FOXP3 mRNA 表达降低 ($P<0.05$)。相关性分析显示,OLP 患者外周血单个核细胞 TL1A mRNA、sPD-1 mRNA 表达与外周血 Th17 比例、ROR γ t mRNA 表达、Th17/Treg 比值呈正相关,与外周血 Treg 比例、FOXP3 mRNA 表达呈负相关 ($P<0.05$)。**结论:**OLP 患者外周血单个核细胞 TL1A、sPD-1 异常高表达,与 Th17/Treg 失衡密切相关,TL1A、sPD-1 可能通过引起 Th17/Treg 失衡参与 OLP 的发生发展。

关键词:口腔扁平苔藓;肿瘤坏死因子样配体 1A;可溶性程序性死亡受体 1;辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞失衡

中图分类号:R758.65 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2024)23-4458-03

Correlation between the Expression of TL1A, sPD-1 mRNA in Peripheral Blood Mononuclear Cells and the Imbalance of Th17/Treg in Patients with Oral Lichen Planus*

YANG Qi, YU Jie, CAO Yan, LIU Xiao-ping, ZHENG Wei-wei[△]

(Department of Ophthalmology and Otorhinolaryngology, The 970 Hospital of Joint Logistics Support Force of Chinese People's Liberation Army, Yantai, Shandong, 264001, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the correlation between the expression of tumor necrosis factor-like ligand 1A (TL1A) and soluble programmed death receptor 1 (sPD-1) messenger ribonucleic acid (mRNA) in peripheral blood mononuclear cells and the imbalance of helper T cell 17 (Th17)/regulatory T cell (Treg) in patients with oral lichen planus (OLP). **Methods:** 133 patients with OLP (OLP group) were divided into erosive group (74 cases) and non-erosive group (59 cases) according to the type of damage. The expression of TL1A mRNA and sPD-1 mRNA in peripheral blood mononuclear cells, the expression of retinoic acid-related orphan nuclear receptor γ t (ROR γ t) mRNA and forkhead box protein P3 (FOXP3) mRNA in peripheral blood, and the proportion of Th17 and Treg cells were detected. The relationship between the expression of TL1A mRNA, sPD-1 mRNA and Th17/Treg related factors were analyzed by Pearson/Spearman correlation analysis. **Results:** Compared with non-erosive group, the expression levels of TL1A mRNA, sPD-1 mRNA and ROR γ t mRNA in peripheral blood mononuclear cells, the proportion of Th17 and the ratio of Th17/Treg in peripheral blood were increased, the proportion of Treg and the expression of FOXP3 mRNA in peripheral blood were decreased in erosive group ($P<0.05$). Correlation analysis showed that, the expression of TL1A mRNA and sPD-1 mRNA in peripheral blood mononuclear cells of OLP patients were positively correlated with the proportion of Th17, the expression of ROR γ t mRNA and the ratio of Th17/Treg in peripheral blood, and negatively correlated with the proportion of Treg and the expression of FOXP3 mRNA in peripheral blood ($P<0.05$). **Conclusion:** The abnormal high expression of TL1A and sPD-1 in peripheral blood mononuclear cells of OLP patients, which are closely related to Th17/Treg imbalance, TL1A and sPD-1 may participate in the occurrence and development of OLP by causing Th17/Treg imbalance.

Key words: Oral lichen planus; Tumor necrosis factor-like ligand 1A; Soluble programmed death receptor 1; Imbalance of helper T cell 17/regulatory T cell imbalance

Chinese Library Classification(CLC): R758.65 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2024)23-4458-03

* 基金项目:军队后勤科研基金资助项目(BHJ18J012)

作者简介:杨淇(1985-),女,硕士,主治医师,研究方向:黏膜病、牙周、牙体牙髓,E-mail: lovesunlight2728@163.com

[△] 通讯作者:郑卫卫(1978-),男,本科,副主任医师,研究方向:口腔医学,E-mail: wgkzww552@163.com

(收稿日期:2024-06-17 接受日期:2024-07-10)

前言

口腔扁平苔藓(OLP)是多发于中年女性群体的一种 T 淋巴细胞介导的口腔黏膜慢性炎症性疾病,其反复发作难治给患者造成了巨大的身心健康损害^[1]。研究表明,CD4⁺T 异常活化引起的炎症反应参与 OLP 的发生发展,其中辅助性 T 细胞 17 (Th17)/调节性 T 细胞(Treg)失衡扮演重要角色^[2]。肿瘤坏死因子样配体 1A (TL1A)通过活化 T 细胞促进炎症发生发展,TL1A 在 OLP 患者外周血中高表达^[3]。程序性死亡受体-1 (PD-1)通过抑制 T 细胞活化阻碍炎症发展,可溶性程序性死亡受体 1(sPD-1)则能抑制 PD-1 发挥促炎作用^[4]。本研究拟探讨 OLP 患者外周血单个核细胞 TL1A 信使核糖核酸(mRNA)、sPD-1mRNA 表达与 Th17/Treg 失衡的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择 2020 年 1 月~2023 年 12 月在我院治疗的 OLP 患者 133 例。年龄范围 18~57 岁,平均(45.63±5.36)岁;女 103 例、男 30 例。根据患者损害类型将 OLP 患者分为糜烂型组(74 例)和非糜烂型组(59 例)。纳入标准:(1)符合 OLP 诊断标准^[5];(2)已签署知情同意书;(3)年龄>18 周岁。排除标准:(1)合并其他炎症性疾病或免疫系统疾病;(2)合并心肝肾等重要脏器功能损害;(3)合并其他口腔疾病;(4)恶性肿瘤患者;(5)血液系统疾病。本研究经我院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 外周血单个核细胞 TL1AmRNA、sPD-1 mRNA 和外周血 Th17、Treg 转录因子表达检测 采集 6 mL OLP 患者入组时空腹外周血(共三管,每管各 2 mL),一管外周血通过 Ficoll 密

度梯度离心法分离外周血单个核细胞,另取一管外周血离心提取血清。加入 QIAzol Lysis Reagent 提取单个核细胞和外周血的总 RNA。Thermo 超微量紫外分光光度计鉴定 RNA 浓度、纯度合格后,使用 StarScript II First-strand cDNA Synthesis Kit 将其转录为互补脱氧核糖核酸(cDNA)。使用 Brilliant II SYBR Green QPCR Master Mix 进行实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)。以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算外周血单个核细胞 TL1A mRNA、sPD-1 mRNA 和外周血 Th17 转录因子维甲酸相关孤核受体 γt (ROR γt)mRNA、Treg 转录因子叉头框蛋白 P3(FOXP3)mRNA 的相对表达量。

1.2.2 外周血 Th17、Treg 细胞比例检测 剩余一管外周血使用流式细胞仪检测外周血 Th17、Treg 细胞比例,并计算 Th17/Treg 比值。

1.3 统计学分析

采用 SPSS28.0 软件。正态分布计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验,非正态分布计量资料以 $M(P_{25},P_{75})$ 表示,行 U 检验;计数资料以 n(%)表示,行卡方检验;Pearson/Spearman 相关性分析 OLP 患者外周血单个核细胞 TL1A mRNA、sPD-1 mRNA 与外周血 Th17/Treg 比值相关因子表达的相关性;检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 糜烂型组和非糜烂型组外周血单个核细胞 TL1A mRNA、sPD-1 mRNA 和外周血 Th17/Treg 相关因子表达比较

与非糜烂型组比较,糜烂型组外周血单个核细胞 TL1A mRNA、sPD-1 mRNA 表达和外周血 Th17 比例、ROR γt mRNA 表达、Th17/Treg 比值升高,外周血 Treg 比例、FOXP3 mRNA 表达降低($P<0.05$)。见表 1。

表 1 糜烂型组和非糜烂型组外周血单个核细胞 TL1A mRNA、sPD-1 mRNA 和外周血 Th17/Treg 相关因子表达比较($\bar{x}\pm s, M(P_{25},P_{75})$)

Table 1 Comparison of the expression of TL1A mRNA, sPD-1 mRNA and peripheral blood Th17/Treg ratio-related factors in peripheral blood single nucleated cells between erosive group and non-erosive group [$\bar{x}\pm s, M(P_{25},P_{75})$]

Indexes	Erosive group (n=74)	Non- erosive group (n=59)	t/U	P
TL1A mRNA expressed	1.88±0.26	1.57±0.24	7.068	<0.001
sPD-1 mRNA expressed	2.22±0.34	1.83±0.34	6.572	<0.001
Th17 ratio	2.52±0.67	1.76±0.61	6.733	<0.001
Treg ratio	2.17±0.45	2.65±0.43	-6.207	<0.001
ROR γt mRNA expressed	1.73±0.23	1.50±0.25	5.640	<0.001
FOXP3 mRNA expressed	1.02±0.17	1.17±0.18	-4.925	<0.001
Th17/Treg ratio	1.18(0.83,1.46)	0.59(0.49,0.89)	-7.070	<0.001

2.2 OLP 患者外周血单个核细胞 TL1A mRNA、sPD-1 mRNA 与外周血 Th17/Treg 相关因子表达的相关性

OLP 患者外周血单个核细胞 TL1A mRNA、sPD-1 mRNA 表达与外周血 Th17 比例 ($r/r_s=0.733, 0.795, P<0.05$)、ROR γt mRNA 表达 ($r/r_s=0.629, 0.706, P<0.05$)、Th17/Treg 比值 ($r/r_s=0.856, 0.873, P<0.05$)呈正相关,与外周血 Treg 比例 ($r/r_s=-0.717, -0.732, P<0.05$)、FOXP3 mRNA 表达 ($r/r_s=-0.708, -0.690, P<0.05$)呈负相关($P<0.05$)。

3 讨论

相关研究证实,OLP 发病过程中 CD4⁺T 细胞介导的炎症反应发挥重要作用,OLP 病变组织中固有层浅层和鳞状上皮深层伴有显著的 T 细胞浸润,其通过引发口腔黏膜的炎症反应、损伤和细胞凋亡等促进 OLP 发生发展;CD4⁺T 细胞根据功能可以分为 Th17 和 Treg 等,当 Th17/Treg 失衡则会引起 CD4⁺T 细胞功能异常,导致 OLP 发生发展^[6]。本研究结果显示,糜烂型

组外周血单个核细胞 TL1A mRNA 表达上调,且高于非糜烂型组,TL1A mRNA 表达与外周血 Th17 比例、ROR γ t mRNA 表达、Th17/Treg 比值呈正相关,与外周血 Treg 比例、FOXP3 mRNA 表达呈负相关,提示 OLP 患者外周血单个核细胞 TL1A mRNA 高表达可能通过引起 Th17/Treg 失衡参与 OLP 发生发展。推测 TL1A 能结合 DR3 激活 T 细胞信号传导通路,促进 T 细胞活化并诱导初始 CD4⁺T 细胞向 Th17 分化,抑制初始 CD4⁺T 细胞向 Treg 分化,导致 Th17/Treg 失衡^[7]。同时,TL1A 还能激活核因子- κ B 信号通路,增加 ROR γ t 转录和减少 FOXP3 转录,导致 Th17/Treg 失衡^[8]。

PD-1 是一种细胞表面受体蛋白,能通过结合程序性死亡配体(PD-L)1、PD-L2 抑制 T 细胞的活化和功能,以维持机体免疫平衡;sPD-1 由 PD-1 的外细胞域切割而成,可竞争性结合 PD-L1 和 PD-L2,抑制 PD-1/PD-L1/PD-L2 信号传导,导致 T 细胞异常活化^[9,10]。已有研究表明^[11],sPD-1 能阻断 PD-1/PD-L1 信号通路,加剧 Th17/Treg 失衡。同时研究报道^[12],血清 sPD-1 表达与 OLP 患者体液免疫功能紊乱有关,推测 sPD-1 参与 OLP 患者免疫失衡。本研究结果显示,OLP 患者外周血单个核细胞 sPD-1 mRNA 表达上调,且糜烂型患者 sPD-1 mRNA 表达更高,与外周血 Th17 比例、ROR γ t mRNA、Th17/Treg 比值呈正相关,与外周血 Treg 比例、FOXP3 mRNA 表达呈负相关,说明 OLP 患者外周血单个核细胞 sPD-1 mRNA 高表达可能通过 Th17/Treg 失衡参与 OLP 发生发展。究其原因,sPD-1 能竞争性结合 PD-L1 和 PD-L2,阻止 PD-1 与细胞表面上的 PD-L1 和 PD-L2 结合,干扰 PD-1/PD-L1/PD-L2 信号传导对 T 细胞活化和功能的抑制作用,使 T 细胞异常活化并促进初始 CD4⁺T 细胞向 Th17 分化和抑制 Treg 分化,导致 Th17/Treg 失衡^[13]。

综上所述,OLP 患者外周血单个核细胞 TL1A mRNA、sPD-1 mRNA 表达升高与 Th17/Treg 失衡有关,可能通过引起 Th17/Treg 失衡参与 OLP 发生发展。

参考文献(References)

[1] 丁旭,陆丽荣,周兰英,等.口腔扁平苔藓患者血清白介素-17、P 物质、趋化素水平与疾病活动和免疫功能的关系研究[J].现代生物

医学进展,2022,22(10):1865-1868.

- [2] 杨连杰,郑凯月,刘英.T 淋巴细胞在口腔扁平苔藓发生发展中的作用研究进展[J].山东医药,2022,62(30):90-93.
- [3] 韩佳桐,翟爱荣,漆明.TL1A 和 IDO 在口腔扁平苔藓患者外周血中的表达研究[J].口腔医学,2015,35(4):278-281.
- [4] Huyen PTM, Dung DTN, Wei PJ, et al. Circulating level of sPD-1 and PD-1 genetic variants are associated with hepatitis B infection and related liver disease progression[J]. Int J Infect Dis, 2022, 115: 229-236.
- [5] 中华口腔医学会口腔黏膜病专业委员会,中华口腔医学会中西医结合专业委员会,周红梅.口腔扁平苔藓诊疗指南(试行)[J].中华口腔医学杂志,2012,47(7):399-401.
- [6] 徐炜,舒俊华,于意,等.Th17/Treg 细胞免疫平衡的相关调控机制研究进展[J].中国现代医学杂志,2023,33(24):48-54.
- [7] Jacob N, Kumagai K, Abraham JP, et al. Direct signaling of TL1A-DR3 on fibroblasts induces intestinal fibrosis in vivo [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 18189.
- [8] Ayroldi E, Grohmann U. Exemplifying complexity of immune suppression by a "canonical" speech: A glimpse into TNFRSF-activated signaling pathways in Treg cells [J]. Eur J Immunol, 2020, 50(7): 944-948.
- [9] 杨苏彬,许凤燕.PD-1/PD-L1 及其与免疫相关疾病的研究进展[J].国际遗传学杂志,2020,43(4):224-228.
- [10] 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.
- [11] Costa NL, Gonçalves JAM, de Lima SLG, et al. Evaluation of PD-L1, PD-L2, PD-1 and cytotoxic immune response in oral lichen planus[J]. Oral Dis, 2020, 26(6): 1246-1254.
- [12] 刘亚娟,张文涛.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 [J]. 检验医学与临床,2022,19(10):1386-1389.
- [13] 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.

(上接第 4457 页)

- [4] Wang B, Cai Y, Li X, et al. ETV4 mediated lncRNA C2CD4D-AS1 overexpression contributes to the malignant phenotype of lung adenocarcinoma cells via miR-3681-3p/NEK2 axis [J]. Cell Cycle, 2021, 20(24): 2607-2618.
- [5] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局,中华医学会儿科学分会.中国结直肠癌诊疗规范(2017年版)[J].中华外科杂志,2018,56(4):241-258.
- [6] Qu R, Ma Y, Zhang Z, et al. Increasing burden of colorectal cancer in China[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2022, 7(8): 700.
- [7] Bresalier RS. Colorectal Cancer Screening in a Changing World[J]. Gastroenterol Clin North Am, 2022, 51(3): 577-591.
- [8] 张虹,张春,肖志勇,等.上皮膜蛋白 1 调控人鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2022,29(4):247-251.

- [9] 邓婷,吴建麓,谭琛,等.上皮膜蛋白 1 在浆液性卵巢癌中的表达及临床意义[J].中国优生与遗传杂志,2023,31(5):1009-1012.
- [10] 徐丹,邱雪杉.ETV4 在胃肠道间质瘤中的表达及其临床意义[J].中国医科大学学报,2020,49(4):321-325,330.
- [11] Zhang Q, Liu S, Wang H, et al. ETV4 Mediated Tumor-Associated Neutrophil Infiltration Facilitates Lymphangiogenesis and Lymphatic Metastasis of Bladder Cancer [J]. Adv Sci (Weinh), 2023, 10(11): e2205613.
- [12] Cañellas-Socias A, Cortina C, Hernando-Momblona X, et al. Metastatic recurrence in colorectal cancer arises from residual EMP1+ cells[J]. Nature, 2022, 611(7936): 603-613.
- [13] Su H, Shu S, Tang W, et al. ETV4 facilitates angiogenesis in hepatocellular carcinoma by upregulating MMP14 expression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2023, 684: 149137.