

口腔黏膜癌变进程中固有免疫细胞与免疫检查点分子表达趋势验证及交互作用预测

李凯玉 石丽娟 刘林鑫 王杰 聂敏海 刘旭倩

西南医科大学附属口腔医院牙周黏膜病科; 西南医科大学口腔颌面修复重建和再生
泸州市重点实验室, 泸州 646000

[摘要] 目的 研究口腔黏膜癌变进程中基于数据计算验证的固有免疫细胞和免疫检查点分子的表达趋势, 并通过预测其交互作用, 探索免疫治疗抑制口腔黏膜癌变进程的方法。方法 1) 利用癌症基因组图谱对口腔黏膜癌变进程中的免疫细胞和免疫检查点分子进行全面评分, 筛选出干扰肿瘤细胞免疫逃逸的固有免疫细胞和免疫检查点分子; 2) 收集血常规资料, 对口腔黏膜癌变进程中外周血免疫细胞进行统计学分析, 筛选外周血中可能影响口腔黏膜癌变进程的免疫细胞; 3) 对口腔黏膜癌变进程各阶段中基于数据计算验证的固有免疫细胞和免疫检查点分子进行免疫组织化学染色; 4) 采用特殊染色鉴定口腔黏膜癌变进程各阶段中基于数据计算验证的固有免疫细胞; 5) 对口腔黏膜癌变进程中基于数据计算验证的固有免疫细胞和免疫检查点分子进行生存分析, 验证固有免疫细胞和免疫检查点分子与口腔鳞状细胞癌预后间的关联。结果 在口腔黏膜癌变进程中, 单核细胞、中性粒细胞表达呈上升趋势; 嗜酸性粒细胞表达呈升降单峰趋势; 肥大细胞表达呈下降趋势; 免疫检查点分子细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4 (CTLA4) 和细胞程序性死亡-配体1 (PD-L1) 的表达呈上升趋势。单核细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞表达趋势与CTLA4和PD-L1免疫检查点分子的表达趋势正相关; 肥大细胞表达趋势与CTLA4和PD-L1免疫检查点分子的表达趋势负相关。单核细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞可能促进CTLA4和(或)PD-L1介导的肿瘤细胞免疫逃逸, 加速口腔黏膜癌变进程; 肥大细胞可能抑制CTLA4和(或)PD-L1介导的肿瘤细胞免疫逃逸, 延缓口腔黏膜癌变进程。结论 干扰固有免疫中特定免疫细胞可在一定程度上调控CTLA4和(或)PD-L1的表达, 抑制肿瘤细胞免疫逃逸, 延缓口腔黏膜癌变进程。

[关键词] 口腔黏膜癌变; 免疫治疗; 免疫逃逸; 固有免疫细胞; 免疫检查点分子

[中图分类号] R739.85 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2024.2023280



本文链接 开放科学标识码

Verification of the expression trend and interaction prediction of innate immune cells and immune-checkpoint molecules in the process of oral mucosal carcinogenesis

Li Kaiyu, Shi Lijuan, Liu Linxin, Wang Jie, Nie Minhai, Liu Xuqian

Dept. of Periodontal Mucosal Diseases, The Affiliated Stomatological Hospital, Southwest Medical University; Luzhou Key Laboratory of Oral & Maxillofacial Reconstruction and Regeneration, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

[收稿日期] 2023-08-29; **[修回日期]** 2024-01-22

[基金项目] 四川省科技计划项目 (2022NSFSC0716); 泸州市科学技术和人才工作局科技创新领军人才计划 (2023RCX171); 大学生创新创业训练计划 (S202310632340); 西南医科大学口腔医学院导师组能力提升计划 (2023DS12, 2023DS13)

[作者简介] 李凯玉, 硕士, E-mail: 17860751351@163.com

[通信作者] 聂敏海, 教授, 博士, E-mail: nieminhai@126.com;

刘旭倩, 副教授, 博士, E-mail: liuxuqiankokky@126.com

Supported by: Sichuan Provincial Science and Technology Plan Project (2022NSFSC0716); Luzhou Municipal Bureau of Science, Technology and Talent Work Science and Technology Innovation Leading Talent Plan (2023-RCX171); College Student Innovation and Entrepreneurship Training Program (S202310632340); Southwest Medical University School of Stomatology Mentor Group

Capability Enhancement Plan (2023DS12, 2023DS13)

Correspondence: Nie Minhai, E-mail: nieminhai@126.com; Liu Xuqian, E-mail: liuxuqiankokky@126.com

[Abstract] Objective This study aimed to explore the expression trends of innate immune cells and immune-checkpoint molecules validated by data calculation in the process of oral mucosal carcinogenesis, as well as to explore methods of suppressing oral mucosal carcinogenesis based on immunotherapy by predicting their interactions. **Methods** 1) The cancer genome atlas (TCGA) database comprehensively scores immune cells and immune-checkpoint molecules in the process of oral mucosal carcinogenesis and screens out intrinsic immune cells and immune-checkpoint molecules that interfere with tumor immune escape. 2) Clinical patient blood routine data were collected for the statistical analysis of peripheral blood immune cells during the progression of oral mucosal carcinogenesis. Immune cells in peripheral blood that may affect the progression of oral mucosal carcinogenesis were screened. 3) Immunohistochemical staining was performed on intrinsic immune cells and immune-checkpoint molecules validated based on data calculation in various stages of oral mucosal carcinogenesis. 4) Special staining was used to identify innate immune cells in various stages of oral mucosal carcinogenesis based on data-calculation verification. 5) Survival analysis was conducted on intrinsic immune cells and immune-checkpoint molecules validated based on data calculation during the process of oral mucosal carcinogenesis. The association of intrinsic immune cells and immune-checkpoint molecules with the prognosis of oral squamous cell carcinoma was verified. **Results** The expression of monocytes and neutrophils increased during the process of oral mucosal carcinogenesis. The expression of eosinophils showed a single peak trend of up and down. The expression of mast cells decreased. In the process of oral mucosal carcinogenesis, the expression of the immune-checkpoint molecules cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA4) and programmed cell death-ligand (PD-L1) increased. The expression trends of monocytes, neutrophils, and eosinophils were positively correlated with those of CTLA4 and PD-L1 immune-checkpoint molecules. The expression trend of mast cells was negatively correlated with the expression of CTLA4 and PD-L1. Monocytes, neutrophils, and eosinophils may promote tumor immune escape mediated by CTLA4 and/or PD-L1, thereby accelerating the progression of oral mucosal carcinogenesis. Mast cells may inhibit tumor immune escape mediated by CTLA4 and/or PD-L1, delaying the progression of oral mucosal carcinogenesis. **Conclusion** Therefore, interference with specific immune cells in innate immunity can regulate the expression of CTLA4 and/or PD-L1 to a certain extent, inhibit tumor immune escape, and delay the progression of oral mucosal carcinogenesis.

[Key words] malignant transformation of oral mucosa; immunotherapy; immune escape; inherent immune cells; immune checkpoint molecules

免疫治疗是目前治疗恶性肿瘤的一种新颖且有效的方法,它通过激活机体免疫机制,阻断肿瘤细胞免疫逃逸,提高了恶性肿瘤的治愈率。口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)是口腔颌面部最常见的恶性肿瘤,免疫疗法的作用不容忽视。OSCC由于肿瘤微环境的改变和肿瘤干细胞的存在,可促进肿瘤免疫抑制,使肿瘤细胞形成免疫逃逸,导致机体免疫系统功能改变甚至失能,进而促进口腔黏膜癌变的恶性进展。研究^[1-4]表明,细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA4)、细胞程序性死亡-配体(programmed cell death-ligand, PD-L)1也称为表面抗原分化簇274(cluster of differentiation 274, CD274)和PD-L2(又称PDCD1LG2)等免疫检查点分子在OSCC中

高表达,且与OSCC的恶性程度相关,这提示免疫检查点分子在口腔黏膜癌变进程中高表达具有促进肿瘤进展的作用。研究^[5-10]表明,CTLA4、PD-L1和PD-L2作为肿瘤免疫治疗最重要的免疫检查点分子,正常情况下其功能为调节T细胞活化和维持免疫稳态,当肿瘤微环境中免疫失衡时,这些免疫检查点分子会抑制T细胞的活化,减少效应T细胞的增殖,并诱导调节性T细胞,形成肿瘤细胞免疫逃逸,且PD-L1和PD-L2不仅表达于活化后的淋巴细胞表面,还表达于肿瘤细胞、巨噬细胞、树突状细胞、单核细胞和肥大细胞表面。研究^[11-15]表明,肿瘤微环境中肥大细胞、单核细胞、中性粒细胞以及嗜酸性粒细胞等固有免疫细胞也表现出数量及功能异常,这提示肿瘤微环境中固有免疫细胞和免疫检查点分子可能相互作用进而影响

口腔黏膜癌变的进程。结合前期研究^[16]基础, 需要进一步研究肥大细胞、单核细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞以及免疫检查点分子CTLA4、PD-L1和PD-L2在OSCC组织中的表达趋势。

1 材料和方法

本研究所有纳入的研究对象均知情并签署同意书, 该研究已获西南医科大学附属口腔医院医学伦理委员会批准, 伦理编号20211117001。

1.1 免疫细胞和免疫检查点分子的全面评分

从癌症基因组图谱 (the cancer genome atlas, TCGA) 数据库 (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) 获得了504个头颈部鳞状细胞癌 (head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC) 的RNAseq数据和临床信息, 采用immunedeconv R软件包, 应用xCell计算方法对肿瘤微环境中所有免疫细胞进行免疫细胞评分, 并绘制评分热图; 通过R软件包ggplot2和pheatmap提取免疫检查点分子的相关基因, 并根据TCGA数据库提取其表达值, 观察获取的免疫检查点分子相关基因的表达情况, 并绘制相关基因表达热图和表达分布图; 筛选出干扰肿瘤细胞免疫逃逸的固有免疫细胞和免疫检查点分子。

1.2 外周血免疫细胞数据分析

1.2.1 一般资料

收集2021年5月1日—2022年5月30日至西南医科大学附属口腔医院门诊要求拔除第三磨牙及切龈助萌的54例患者的血常规资料作为正常对照组, 要求拔除第三磨牙或切龈助萌的口腔黏膜无明显异常, 口腔局部及全身无明显炎症性疾病, 口腔黏膜为正常口腔黏膜 (normal oral mucosa, NOM)。同期收集在住院部经病理确诊为OSCC的187例患者的血常规资料作为试验组, 其中高分化 (highly differentiated, HD) 79例、中分化 (moderately differentiated, MD) 54例、低分化 (poorly differentiated, PD) 54例。收集利用的血常规资料均为患者初次就诊时测得, 尚未经过任何治疗, 排除具有系统性疾病和全身其他感染性疾病患者, 患者的具体情况见表1。

1.2.2 观察指标

观察血常规报告中的白细胞 (white blood cell, WBC) 计数及其各分类参数指标的均值和相对比, 即单核细胞数目、单核细胞比、嗜酸性粒细胞数目、嗜酸性粒细胞比、嗜碱性粒细胞数目、嗜碱

性粒细胞比、淋巴细胞数目、淋巴细胞比、中性粒细胞数目、中性粒细胞比。

表1 外周血分析患者的基本情况

Tab 1 Basic data of peripheral blood analysis patients

分组	性别	例数	年龄/岁	平均年龄/岁
NOM组	男	25	21~71	50.28±3.10
	女	29	10~72	40.76±3.60
OSCC HD组	男	48	36~98	61.88±1.70
	女	31	36~92	67.48±2.40
OSCC MD组	男	35	30~77	61.17±2.00
	女	19	30~83	61.37±3.20
OSCC PD组	男	25	42~79	60.88±2.20
	女	29	34~87	66.28±2.70

1.2.3 统计学方法

利用SPSS 25.0软件对数据进行统计学分析, 对各组数据进行正态性检验及方差齐性检验, 正态方差齐者采用方差分析, 方差不齐者采用Kruskal-Wallis秩和检验, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

1.3 肿瘤相关固有免疫细胞和免疫检查点分子的检测

根据免疫细胞评分、前期研究^[16]基础和外周血免疫细胞资料分析得出, 本研究观察固有免疫细胞为肥大细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞和中性粒细胞, 免疫检查点分子为CTLA4、PD-L1和PD-L2。

收集2021年5月1日—2022年5月30日至西南医科大学附属口腔医院门诊要求拔除第三磨牙或埋伏牙的2例患者的NOM组织样本作为正常对照组, 住院部经病理确诊为口腔白斑伴上皮异常增生 (oral leukoplakia with epithelial dysplasia, OLK ED) 的3例患者的组织样本以及11例OSCC HD、MD、PD患者的组织样本作为试验组, 以上样本均根据《口腔组织病理学》^[17]进行病理诊断, 上述患者的具体情况见表2。

1.3.1 免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) 检测

对所有组织样本进行常规脱蜡置水, 抗原热修复后按照IHC染色试剂盒步骤对肥大细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞、中性粒细胞、CTLA4、PD-L1和PD-L2进行染色, 检测标记物为肥大细胞类糜蛋白酶 (mast cell chymotrypsin, CYH)、嗜酸性粒细胞颗粒关键碱性蛋白 (eosinophil granulosa key alkaline protein, PRG) 2、单核细胞趋化蛋白 (monocyte chemoattractant protein, MCP) 1、中性粒细胞胞浆嗜天青颗粒 (neutrophil cytoplasmic azurophilic granules, P29)、CTLA4、PD-L1、PD-

L2。树胶封片后显微镜下观察并采图, 图片使用 image J-window64 进行阳性结果吸光光密度值测定的半定量分析, GraphPad.Prism 9.0 制作柱状图。

表 2 固有免疫分析患者的基本情况

分组	性别	例数	年龄/岁	平均年龄/岁
NOM 组	男	1	23	23.00±0.00
	女	1	30	30.00±0.00
OLK ED 组	男	3	60~76	68.33±4.60
	女	0	0	0.00±0.00
OSCC HD 组	男	0	0	0.00±0.00
	女	4	58~69	63.00±2.30
OSCC MD 组	男	2	60~74	67.00±7.00
	女	2	49~69	59.00±10.00
OSCC PD 组	男	2	50~67	58.50±8.50
	女	1	69	69.00±0.00

1.3.2 免疫细胞的特殊染色鉴定

甲苯胺蓝染色鉴定肥大细胞: 常规脱蜡置水, 脱水, Toluidine Blue O 染液染色, 分化, 透明, 中性树胶封固。

Carbol 2R 染色鉴定嗜酸性粒细胞: 常规脱蜡置水, Carbol 2R 染液及 Lea 苏木素染色液染色, 透明, 中性树胶封固。

1.4 生存分析

从 TCGA 数据库获取 504 例患者的 RNAseq 临床数据及无病生存数据, 采用 Logrank 检验 Kaplan Meier (KM) 生存分析, 比较固有免疫细胞和免疫检查点分子高表达组和低表达组之间的生存差异, 绘制肥大细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞、中性粒细胞、CTLA4、PD-L1 和 PD-L2 的 KM 生存分析曲线, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。以上均使用 v4.0.3 版 R 软件实现。

2 结果

2.1 TCGA 数据库分析结果

免疫细胞评分热图 (图 1) 显示: 在 HNSCC 患者组织中, B 淋巴细胞、记忆 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞、CD4+T 淋巴细胞、CD8+T 淋巴细胞、记忆 T 淋巴细胞、Tregs 细胞、树突状细胞、巨噬细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞和中性粒细胞等免疫细胞的评分同 NOM 组相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。免疫检查点分子相关基因表达热图 (图 2) 和表达分布图 (图 3) 显示: 在 HNSCC 患者组织中, SIGLEC15、CD274、HAVCR2、PDCD-1、CTLA4、LAG3、PDCDILG2 和

TIGIT 的评分同 NOM 组的相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 外周血免疫细胞资料分析结果

各组的外周血免疫细胞资料分析结果见表 3~8。各 OSCC 组嗜酸性粒细胞相关参数和淋巴细胞相关参数均低于 NOM 组, 而各 OSCC 组中性粒细胞相关参数高于 NOM 组, OSCC PD 组 WBC 指标高于 NOM 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其余差异无统计学意义。

2.3 固有免疫细胞和免疫检查点分子的检测结果

2.3.1 固有免疫细胞的 IHC 检测结果

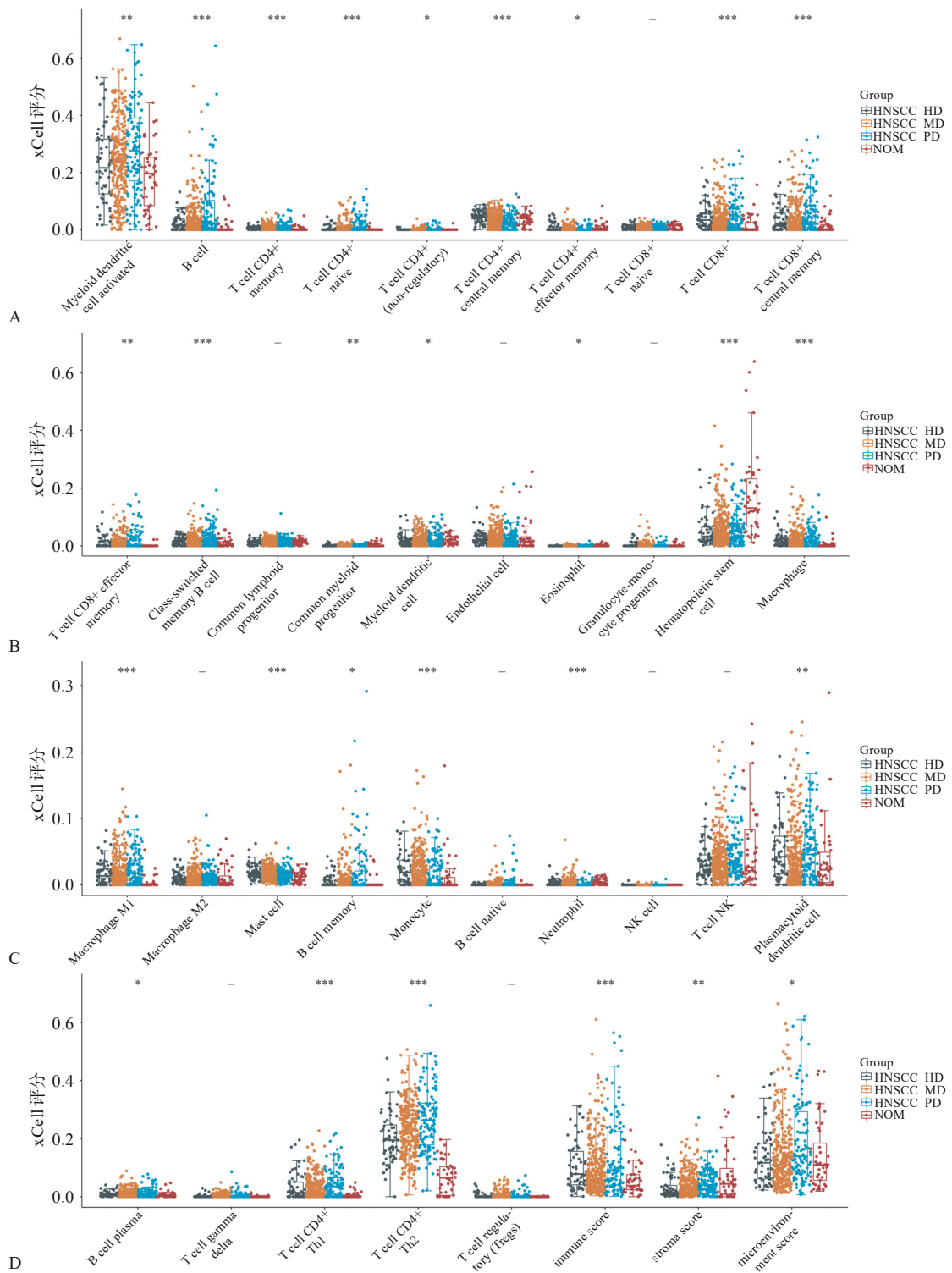
CYH、MCP1、P29、PRG2 在各组中 IHC 染色情况见图 4, IHC 吸光光密度值分析情况见图 5。NOM、OLK ED 组与 OSCC 组相比较, CYH 的表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而在 OSCC 各组中 CYH 的表达差异无统计学意义; OLK ED、OSCC 组与 NOM 相比较, MCP1 表达的差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 OSCC HD、OSCC MD 组与 OSCC PD 组相比较, MCP1 表达的差异有统计学意义 ($P < 0.05$); NOM、OSCC 组与 OLK ED 组相比较, PRG2 表达的差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而在 OSCC 各组中, 仅 OSCC HD 与 OSCC MD 相比较, PRG2 表达的差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其余差异无统计学意义; NOM、OLK ED 组与 OSCC 组相比较, P29 表达的差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 OSCC 各组中 P29 表达的差异无统计学意义。综上, 在口腔黏膜癌变进程中, 单核细胞、中性粒细胞表达呈上升趋势, 嗜酸性粒细胞表达呈升降单峰趋势, 肥大细胞表达呈下降趋势。

2.3.2 免疫检查点分子的 IHC 检测结果

CTLA4、PD-L1、PD-L2 在各组中 IHC 染色情况见图 6, IHC 吸光光密度值分析情况见图 7。OLK ED、OSCC 组与 NOM 组相比较, CTLA4 和 PD-L1 表达的差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且 OSCC MD、OSCC PD 组与 OSCC HD 组相比较, CTLA4 和 PD-L1 表达的差异有统计学意义 ($P < 0.05$), OLK ED 组与 NOM 组相比较, PD-L2 表达的差异有统计学意义 ($P < 0.05$), OSCC 组与 NOM 组相比较, PD-L2 表达的差异无统计学意义。综上, 在口腔黏膜癌变进程中, 免疫检查点分子 CTLA4 和 PD-L1 的表达呈上升趋势。

2.3.3 特殊染色结果

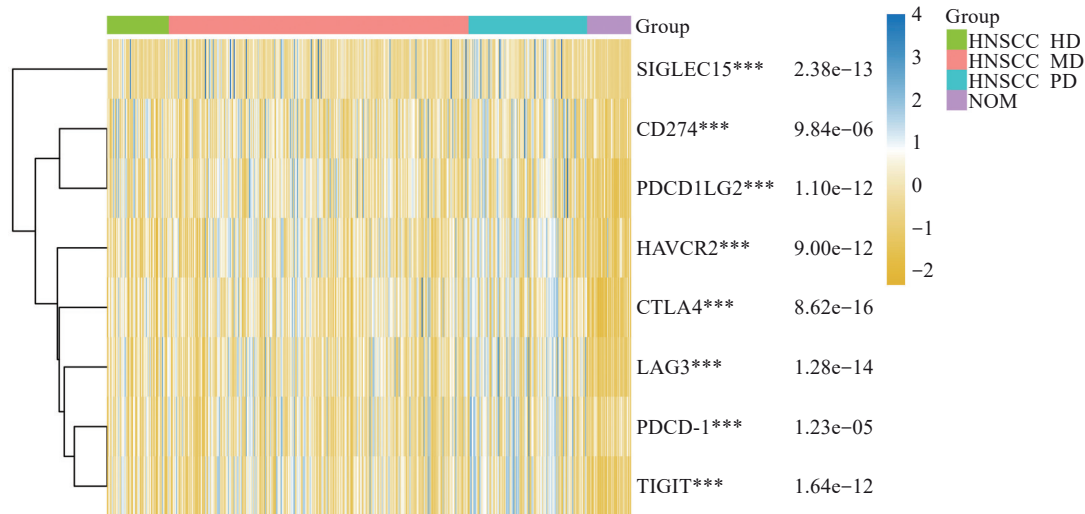
特殊染色结果见图 8, 结果表示在 NOM、OLK ED、OSCC HD、OSCC MD、OSCC PD 组中均存在肥大细胞和嗜酸性粒细胞。



A: 活化髓样树突状细胞、B淋巴细胞、CD4+记忆T淋巴细胞、CD4+幼稚T淋巴细胞、CD4+非调节性T细胞、CD4+中枢记忆T淋巴细胞、CD4+效应记忆T细胞、CD8+幼稚T淋巴细胞、CD8+T淋巴细胞、CD8+中枢记忆T淋巴细胞；B: CD8+效应T淋巴细胞、转换记忆B淋巴细胞、普通髓系祖细胞、淋巴样祖细胞、髓样树突状细胞、内皮细胞、嗜酸性粒细胞、粒-单核细胞祖细胞、造血干细胞、巨噬细胞；C: M1巨噬细胞、M2巨噬细胞、肥大细胞、记忆B淋巴细胞、单核细胞、幼稚B淋巴细胞、中性粒细胞、NK细胞、NK-T淋巴细胞、浆细胞样树突状细胞；D: B淋巴细胞基质、T淋巴细胞、CD4+辅助性T细胞1、CD4+辅助性T细胞2、调节性T细胞、免疫评分、基质评分、免疫微环境评分。横坐标代表免疫细胞浸润类型，纵坐标代表该免疫浸润评分在不同组的分布情况。* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ ，-差异无统计学意义。

图 1 HNSCC组织和正常组织中免疫细胞评分的分布情况

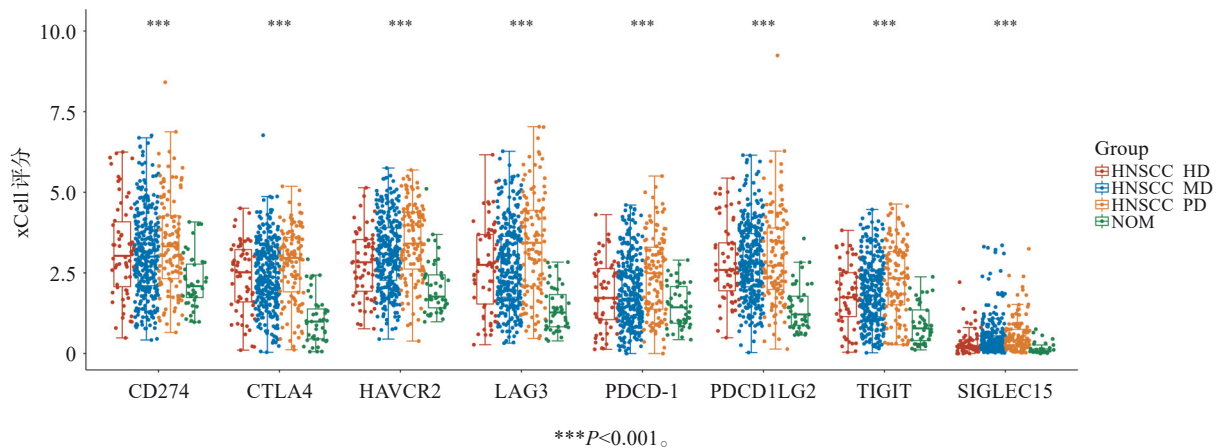
Fig 1 The distribution of immune cell scores in HNSCC tissues and normal tissues



不同颜色代表在不同样本中的表达趋势, *** $P < 0.001$ 。

图 2 免疫检查点分子相关基因的表达热图

Fig 2 Immunological checkpoint molecule related gene expression heatmap



*** $P < 0.001$ 。

图 3 HNSCC组织和正常组织中免疫检查点分子基因的表达分布情况

Fig 3 The expression distribution of immune checkpoint molecular genes in HNSCC tissue and normal tissue

表 3 各组间 WBC 的比较情况

Tab 3 Comparison of WBC between each groups

对比组次	WBC	
	数值/ ($\times 10^9/L$)	组间 P 值
NOM与OSCC HD	6.11与7.06	0.23
NOM与OSCC MD	6.11与6.68	0.23
NOM与OSCC PD	6.11与7.23	0.05
OSCC HD与OSCC MD	7.06与6.68	0.96
OSCC HD与OSCC PD	7.06与7.23	0.37
OSCC MD与OSCC PD	6.68与7.23	0.32

2.4 生存分析结果

固有免疫细胞和免疫检查点分子在OSCC组织中的生存分析结果见图9、10。在OSCC组织中, CTLA4高表达的总生存期比CTLA4低表达的高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而无病生存期与CTLA4表达水平无关, 差异无统计学意义, P29低表达总生存期和无病生存期比高表达高, 差异

有统计学意义 ($P < 0.05$)。OSCC患者的总生存期和无病生存期与PD-L1、PD-L2、CYH、MCP1和PRG2表达水平无关, 差异无统计学意义。综上, 在口腔黏膜癌变进程中, 中性粒细胞表达越低, 患者生存期越长。

表 4 各组间单核细胞数及其占比的比较情况

Tab 4 Comparison of monocyte, monocyte ratio between each groups

对比组次	单核细胞		单核细胞占比	
	数值/ ($\times 10^9/L$)	组间 P 值	数值/%	组间 P 值
NOM与OSCC HD	0.36与0.40	0.47	5.93与6.12	0.83
NOM与OSCC MD	0.36与0.40	0.32	5.93与6.20	0.96
NOM与OSCC PD	0.36与0.40	0.33	5.93与5.86	0.88
OSCC HD与OSCC MD	0.40与0.40	0.73	6.12与6.20	0.88
OSCC HD与OSCC PD	0.40与0.40	0.86	6.12与5.86	0.60
OSCC MD与OSCC PD	0.40与0.40	0.98	6.20与5.86	0.53

表 5 各组间嗜酸性粒细胞数及其占比的比较情况

Tab 5 Comparison of eosinophils, eosinophils ratio between each groups

对比组次	嗜酸性粒细胞		嗜酸性粒细胞占比	
	数值/ ($\times 10^9/L$)	组间 P值	数值/%	组间 P值
NOM与OSCC HD	0.15与0.11	0.00	2.41与1.67	0.00
NOM与OSCC MD	0.15与0.11	0.03	2.41与1.81	0.01
NOM与OSCC PD	0.15与0.10	0.00	2.41与1.63	0.00
OSCC HD与OSCC MD	0.11与0.11	0.43	1.67与1.81	0.49
OSCC HD与OSCC PD	0.11与0.10	0.88	1.67与1.63	0.66
OSCC MD与OSCC PD	0.11与0.10	0.37	1.81与1.63	0.32

表 6 各组间嗜碱性粒细胞数及其占比的比较情况

Tab 6 Comparison of basophil, basophil ratio between each groups

对比组次	嗜碱性粒细胞		嗜碱性粒细胞占比	
	数值/ ($\times 10^9/L$)	组间 P值	数值/%	组间 P值
NOM与OSCC HD	0.02与0.03	0.14	0.39与0.44	0.32
NOM与OSCC MD	0.02与0.02	0.40	0.39与0.39	0.69
NOM与OSCC PD	0.02与0.03	0.20	0.39与0.42	0.58
OSCC HD与OSCC MD	0.03与0.02	0.64	0.44与0.39	0.56
OSCC HD与OSCC PD	0.03与0.03	0.93	0.44与0.42	0.63
OSCC MD与OSCC PD	0.02与0.03	0.71	0.39与0.42	1.00

表 7 各组间中性粒细胞数及其占比的比较情况

Tab 7 Comparison of neutrophil, neutrophil ratio between each groups

对比组次	中性粒细胞		中性粒细胞占比	
	数值/ ($\times 10^9/L$)	组间 P值	数值/%	组间 P值
NOM与OSCC HD	3.71与5.00	0.05	67.65与68.12	0.80
NOM与OSCC MD	3.71与4.50	0.03	67.65与66.83	0.70
NOM与OSCC PD	3.71与5.09	0.00	67.65与67.65	1.00
OSCC HD与OSCC MD	5.00与4.50	0.50	68.12与66.83	0.47
OSCC HD与OSCC PD	5.00与5.09	0.79	68.12与67.65	0.80
OSCC MD与OSCC PD	4.50与5.09	0.41	66.83与67.65	0.69

表 8 各组间淋巴细胞数及其占比的比较情况

Tab 8 Comparison of lymphocyte, lymphocyte ratio between each groups

对比组次	淋巴细胞		淋巴细胞占比	
	数值/ ($\times 10^9/L$)	组间 P值	数值/%	组间 P值
NOM与OSCC HD	1.87与1.53	0.00	30.74与23.64	0.00
NOM与OSCC MD	1.87与1.54	0.00	30.74与24.75	0.00
NOM与OSCC PD	1.87与1.60	0.02	30.74与24.45	0.00
OSCC HD与OSCC MD	1.53与1.54	0.89	23.64与24.75	0.48
OSCC HD与OSCC PD	1.53与1.60	0.47	23.64与24.45	0.61
OSCC MD与OSCC PD	1.54与1.60	0.79	24.75与24.45	0.87

3 讨论

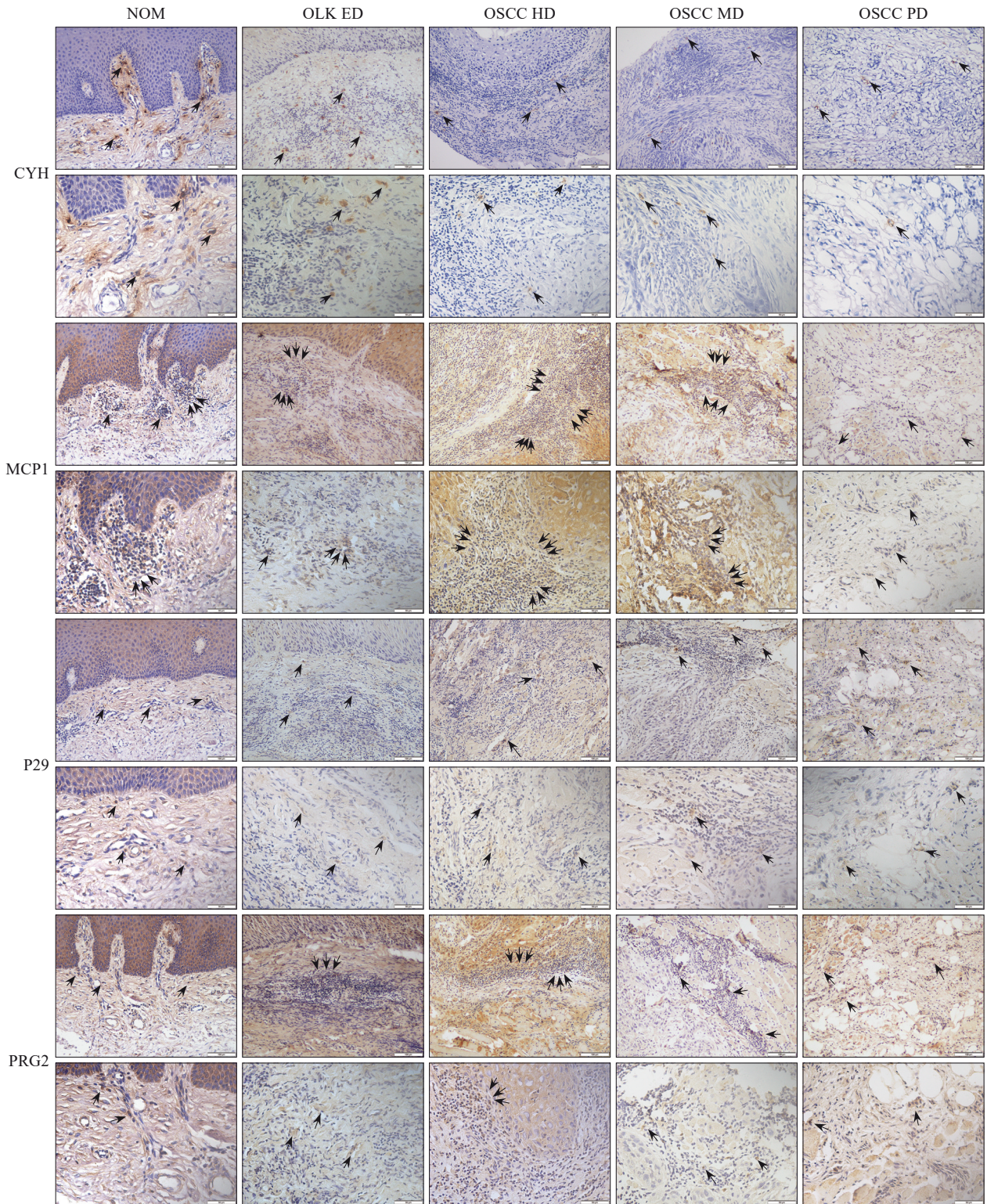
OSCC是由口腔黏膜鳞状上皮发展恶变而来的恶性肿瘤，其恶变过程从NOM到口腔潜在恶性疾患最终发展成为OSCC需要经历漫长的时间以及各种危险因素的刺激，且机体的免疫环境也在不断发生改变。研究^[18]表明，在OSCC的肿瘤免疫微环境中，肿瘤细胞招募调节性T细胞，下调肿瘤抗原表达，诱导T细胞耐受和凋亡，并产生免疫抑制细胞因子，刺激抑制性免疫检查点分子CTLA-4和PD-L1过表达，促进肿瘤细胞免疫逃逸，进而促进肿瘤发生发展。研究^[7]表明，在小鼠模型中，阻断CTLA4可以减少M2表型肿瘤相关巨噬细胞的产生以及促进抗原呈递和T细胞活化来抑制肿瘤生长。研究^[18-19]表明，PD-L1具有抑制细胞毒性淋巴细胞的功能活性及其攻击肿瘤细胞的能力，同时肿瘤细胞可以促进肿瘤微环境中PD-L1的高表达，进而影响T细胞的增殖和功能特征。综上，免疫检查点分子介导的肿瘤细胞免疫逃逸是口腔黏膜癌变进程发生发展的重要条件。

本试验依据口腔黏膜癌变进程临床血常规资料分析了WBC参数表达趋势，结果显示，淋巴细胞、嗜酸性粒细胞和中性粒细胞差异有统计学意义。各阶段OSCC组与NOM组相比，淋巴细胞呈下降趋势，嗜酸性粒细胞呈下降趋势，中性粒细胞呈上升趋势，而OSCC各分化阶段相比较差异无统计学意义。但在前期研究^[16]基础上OSCC患者与OLP患者比较，单核细胞和嗜酸性粒细胞参数变化呈上升趋势，嗜碱性粒细胞参数呈下降趋势。研究^[20]表明，OSCC患者的外周血中性粒细胞增多，但淋巴细胞计数减少，并且提示机体可能存在免疫抑制，也与本研究的临床资料分析结果相似，中性粒细胞增多，淋巴细胞减少。而Grimm等^[21]的研究发现，外周血单核细胞数量和中性粒细胞数量增多与肿瘤分期相关，淋巴细胞数量减少导致免疫抑制，单核细胞、中性粒细胞与淋巴细胞作用相反，可以促进OSCC的进展，嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的参数变化与OSCC患者不相关。本研究血常规资料分析显示，OSCC患者与NOM患者比较，外周血中嗜酸性粒细胞数量降低，而李腾艳等^[16]在对口腔黏膜癌变进程WBC变化的监测中，发现嗜酸性粒细胞数量增多，两者数据资料的差异可能由小样本资料本身存在的偏倚导致，可在后续研究中进一步加大样本量来减

少偏倚。

IHC结果及吸光光密度值测定分析显示,在口腔黏膜癌变进程中肥大细胞表达呈下降趋势。研究^[22-25]表明,OSCC组织中肥大细胞密度低于NOM

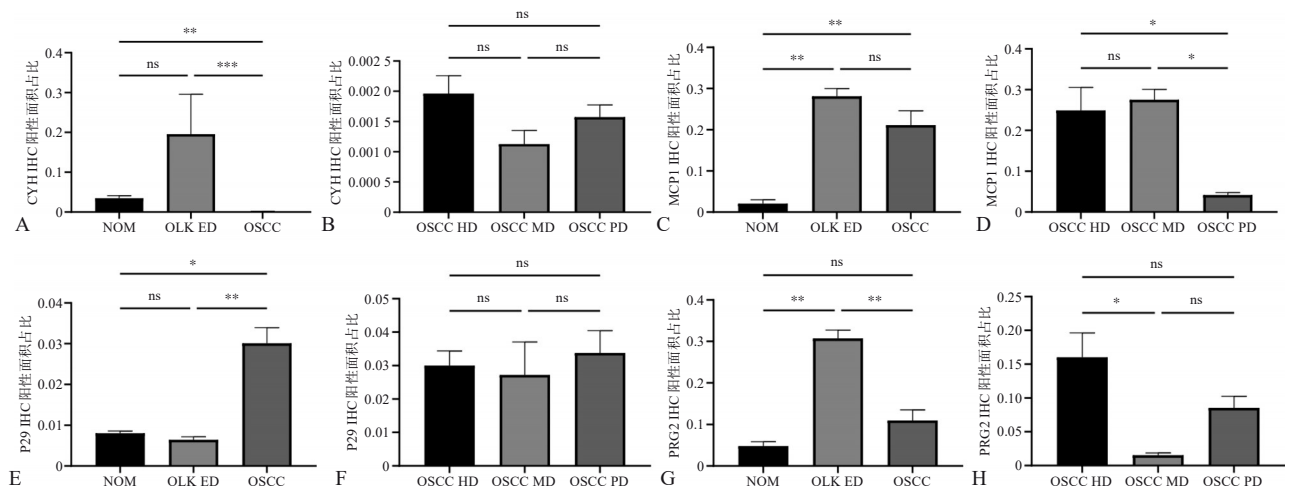
和OLK ED组织中的密度,在口腔黏膜癌变进程中呈逐渐下降的趋势;在口腔黏膜癌变进程中单核细胞表达总体呈上升趋势,而OSCC各阶段中呈下降趋势。



箭头示各免疫细胞的胞质显棕黄色,为阳性表达。第1、3、5、7行 ×200,第2、4、6、8行 ×400。

图4 CYH、MCP1、P29和PRG2的IHC染色结果

Fig 4 IHC results of CYH, MCP1, P29 and PRG2



A: CYH在口腔黏膜癌变进程中的表达趋势; B: CYH在OSCC各分化阶段中的表达趋势; C: MCP1在口腔黏膜癌变进程中的表达趋势; D: MCP1在OSCC各分化阶段中的表达趋势; E: P29在口腔黏膜癌变进程中的表达趋势; F: P29在OSCC各分化阶段中的表达趋势; G: PRG2在口腔黏膜癌变进程中的表达趋势; H: PRG2在OSCC各分化阶段中的表达趋势。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, ns差异无统计学意义。

图 5 CYH、MCP1、P29和PRG2的IHC吸光光密度值分析结果

Fig 5 IHC absorbance optical density analysis of CYH, MCP1, P29 and PRG2

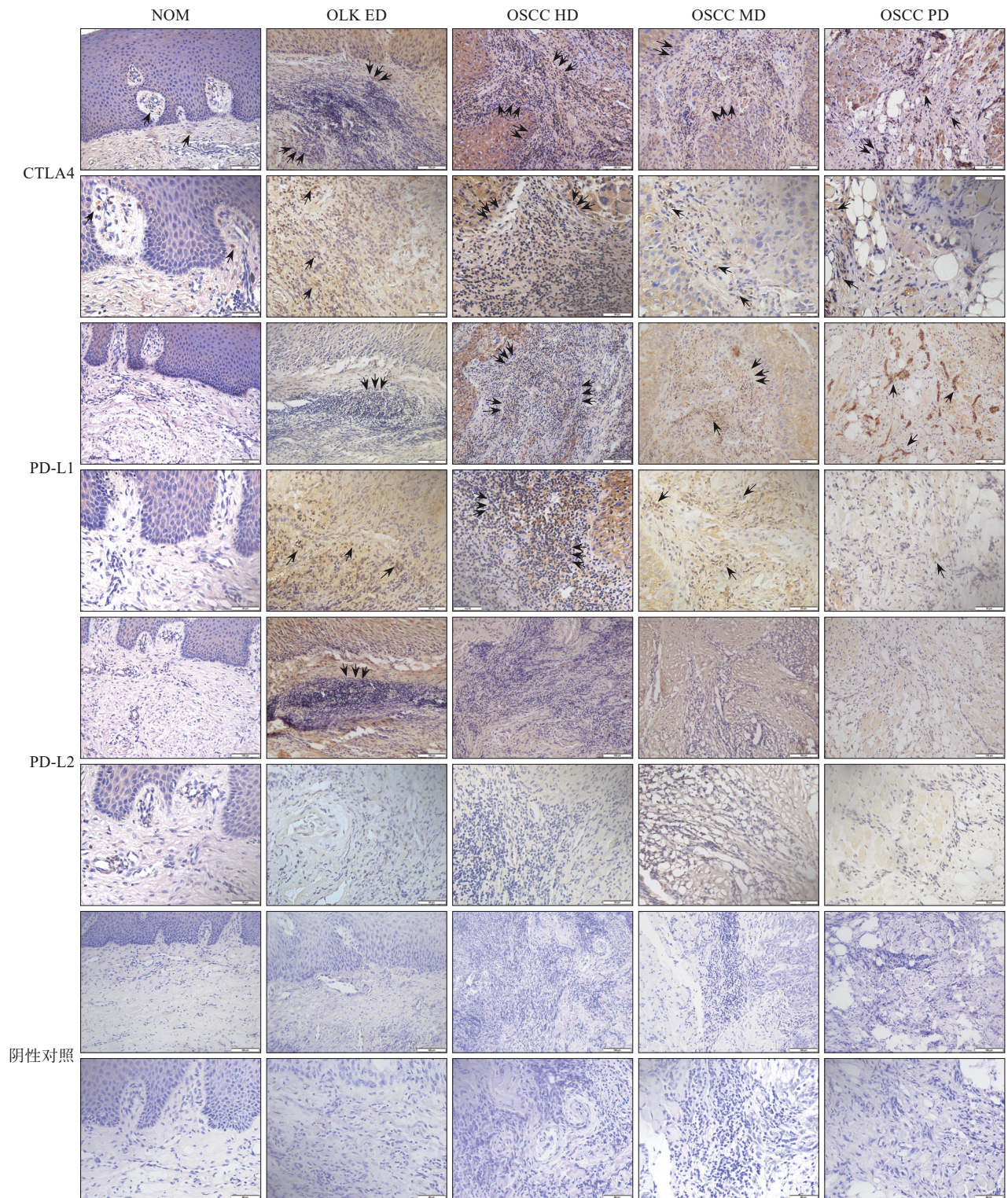
研究^[26-27]表明,单核细胞的数量与口腔黏膜癌变进程呈正相关;在口腔黏膜癌变进程中嗜酸性粒细胞表达呈升降单峰趋势,嗜酸性粒细胞表达在OLK ED组织中到达峰值,当发展成OSCC阶段时,其表达量下降。研究^[28-29]表明,嗜酸性粒细胞数量在口腔黏膜癌变进程中增加,但是早期OSCC中嗜酸性粒细胞数量高于中晚期OSCC;在口腔黏膜癌变进程中中性粒细胞表达呈上升趋势,研究^[20,30]表明,在OSCC微环境中的中性粒细胞浸润增加。在口腔黏膜癌变进程中免疫检查点分子CTLA4和PD-L1表达呈上升趋势,当癌变进程发展到中晚期时CTLA4和PD-L1表达降低,但是其表达量仍高于正常组织,大量研究^[31-34]表明,CTLA4与PD-L1在OSCC组织中表达量高于正常组织,且PD-L1在OSCC进程中呈降低趋势;Weber等^[34]的研究表明,PD-L2在OSCC组织中的表达增高,但是其与口腔黏膜癌变进程的相关性小,与本研究的結果一致,PD-L2在口腔黏膜癌变进程中的表达变化差异无统计学意义。虽然PD-L1和PD-L2同为PD-1的配体,两者在口腔黏膜癌变进程中具有协同作用,但是由于调控和结合受体部位的不同,PD-L1表现出更加明显的差异。特殊染色结果显示:在口腔黏膜癌变进程中存在肥大细胞和嗜酸性粒细胞。生存分析结果显示口腔黏膜癌变进程中中性粒细胞表达越低,患者生存期越长,这说明口腔黏膜癌变进程中中性粒细胞表达的增加会

促进OSCC的恶性进展,导致患者生存期降低。

研究^[35]表明,炎症是肿瘤微环境的重要特征,肿瘤微环境是一个高度复杂的异质生态系统,由肿瘤浸润的肿瘤细胞、免疫细胞和其他细胞组成,随着肿瘤的发生与进展,肿瘤微环境也随之发生变化,其中免疫细胞的数量和免疫表型也发生相应的改变。研究^[36]表明,肥大细胞的细胞毒性作用在肿瘤细胞浸润的初期占据主导地位,杀死肿瘤细胞,但是当肿瘤细胞不断增多,突破上皮基底形成肿瘤实质后,肿瘤微环境发生改变,反向抑制肥大细胞的浸润,降低OSCC组织中的肥大细胞数量,减弱细胞毒性作用,促进肿瘤的发展。研究^[26,37-38]表明,正常情况下MCP1通过调节单核-巨噬细胞和T淋巴反应来发挥抗炎作用,随着口腔黏膜癌变进程的发展,MCP1的表达水平不断上升并到达一定水平时,MCP1的抗炎作用可减弱并反向促进OSCC的恶性生物学行为。研究^[29,39]表明,肿瘤相关嗜酸性粒细胞在口腔黏膜癌变进程中如双刃剑,早期大量增加以对抗肿瘤细胞和抑制肿瘤侵袭扩散,而晚期通过各种细胞因子抑制机体免疫系统,加速肿瘤血管生成和恶性进展。研究^[40-42]表明,在口腔黏膜癌变进程早期,大量增殖浸润的中性粒细胞通过非特异性杀伤肿瘤细胞抑制肿瘤的发生和发展,在口腔黏膜癌变进程晚期,中性粒细胞在肿瘤微环境的作用下可发生表型和功能的改变,反而促进肿瘤细胞的增殖、迁移、

侵袭和血管生成。研究^[8,31,43]表明, CTLA4 和 PD-L1 在 OSCC 组织中高表达, 可以促进 OSCC 的发展和转移。即单核细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒

细胞表达趋势与 CTLA4 和 PD-L1 免疫检查点分子的表达趋势正相关, 肥大细胞表达趋势与 CTLA4 和 PD-L1 免疫检查点分子的表达趋势负相关。



箭头示各免疫细胞胞质显棕黄色, 为阳性表达。第1、3、5、7行 ×200, 第2、4、6、8行 ×400。

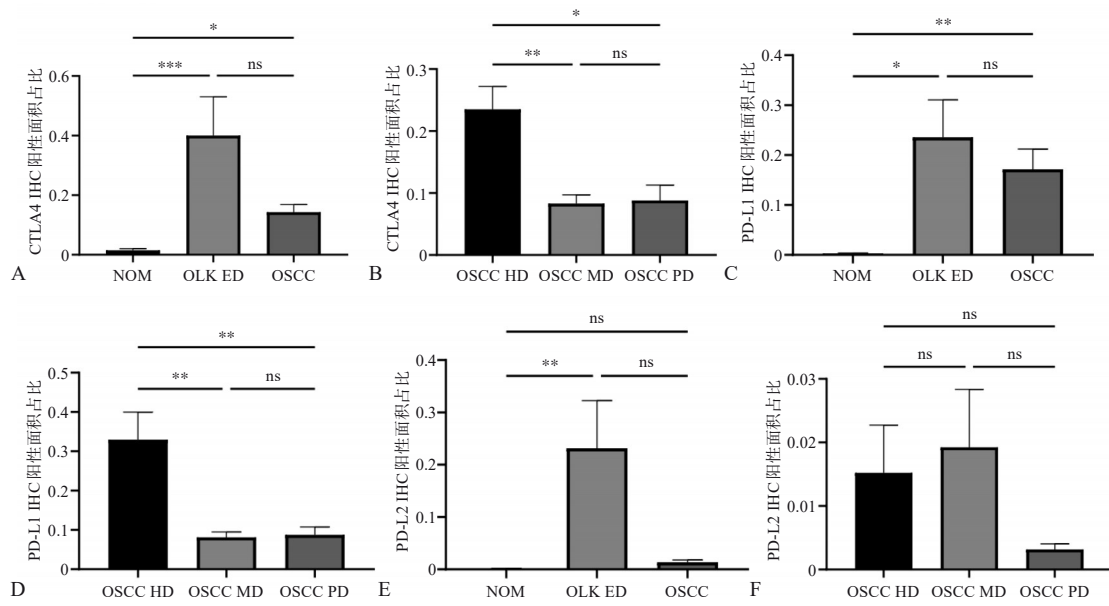
图 6 CTLA4、PD-L1、PD-L2 的 IHC 染色结果

Fig 6 IHC staining results of CTLA4, PD-L1, PD-L2

研究^[8-10,44]表明, PD-L1 不仅表达于活化后的淋巴细胞表面, 还表达于肿瘤细胞、巨噬细胞、树

突状细胞、单核细胞和肥大细胞等固有免疫细胞表面。研究^[45]表明, 肿瘤细胞可以诱导巨噬细胞

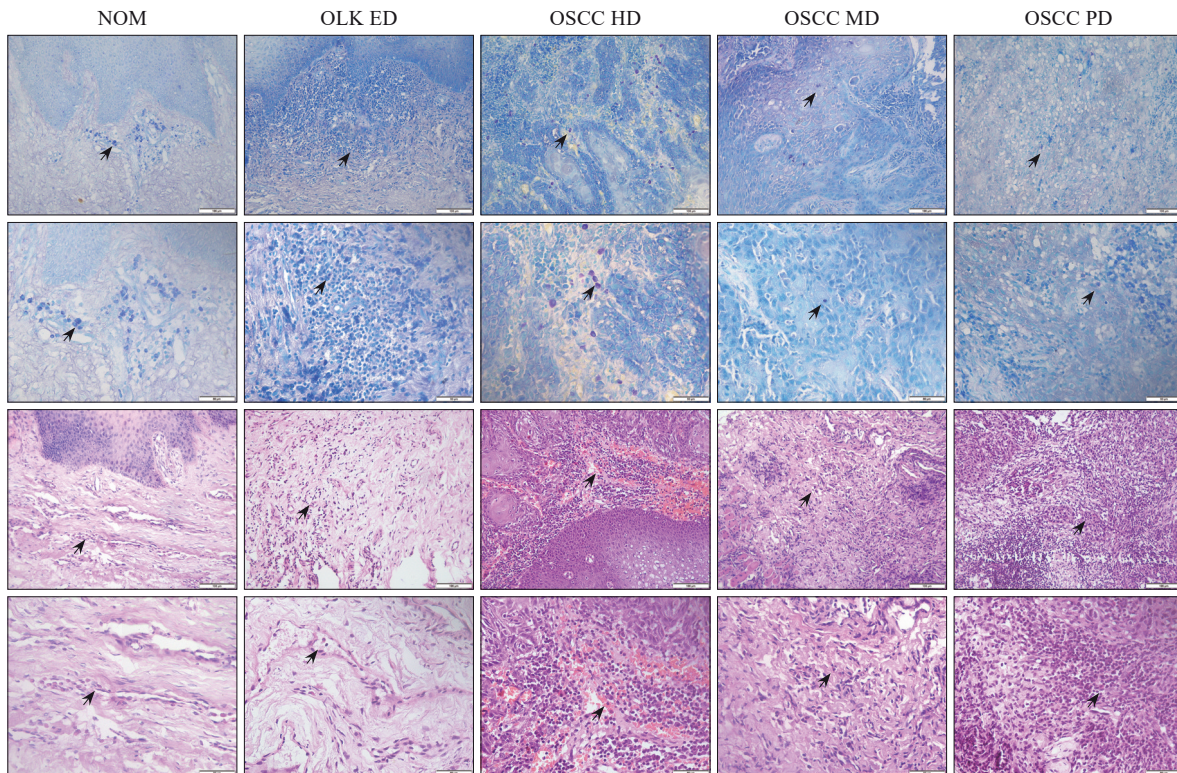
分化为M2巨噬细胞表型，增加OSCC组织中PD-L1的表达，导致T细胞凋亡，促进OSCC的进展。



A: CTLA4在口腔黏膜癌变进程中的表达趋势; B: CTLA4在OSCC各分化阶段中的表达趋势; C: PD-L1在口腔黏膜癌变进程中的表达趋势; D: PD-L1在OSCC各分化阶段中的表达趋势; E: PD-L2在口腔黏膜癌变进程中的表达趋势; F: PD-L2在OSCC各分化阶段中的表达趋势。*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ns差异无统计学意义。

图 7 CTLA4、PD-L1、PD-L2的IHC吸光光密度值分析结果

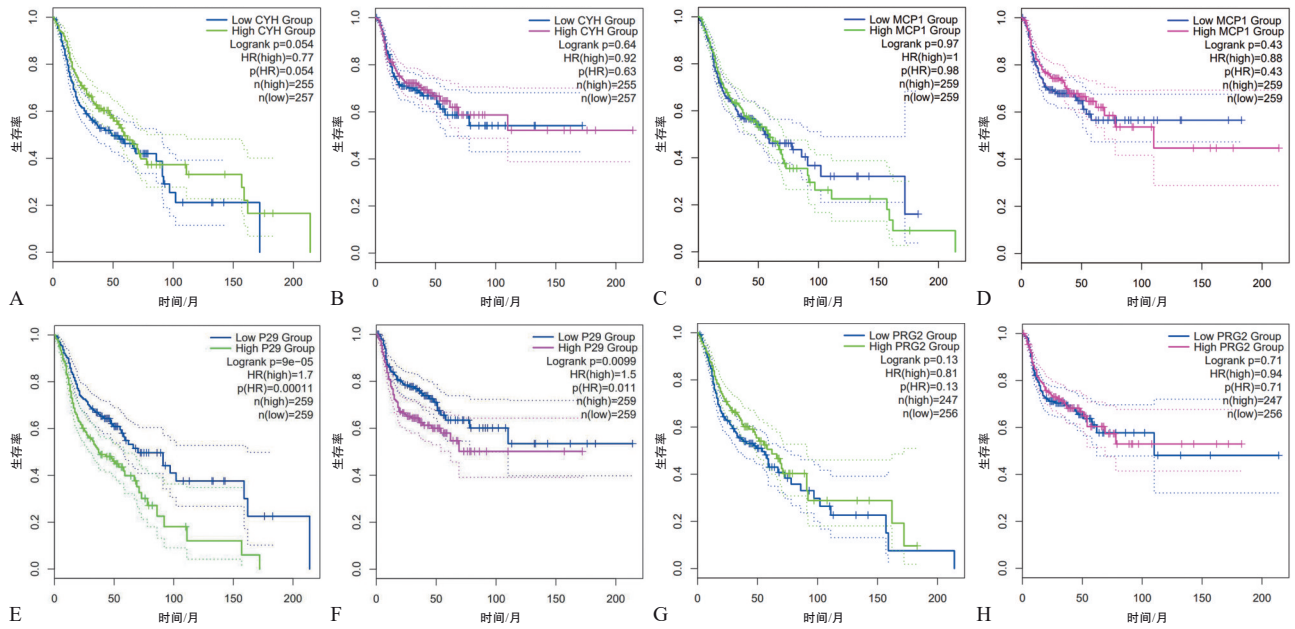
Fig 7 IHC absorbance optical density analysis of CTLA4, PD-L1, PD-L2



第1、2行：甲苯胺蓝染色法，箭头示肥大细胞细胞核呈蓝色，细胞颗粒呈紫红色；第3、4行：Carbol 2R染色法，箭头示嗜酸性粒细胞细胞核呈蓝色，细胞颗粒呈粉红色。第1、3行 ×200，第2、4行 ×400。

图 8 特殊染色结果

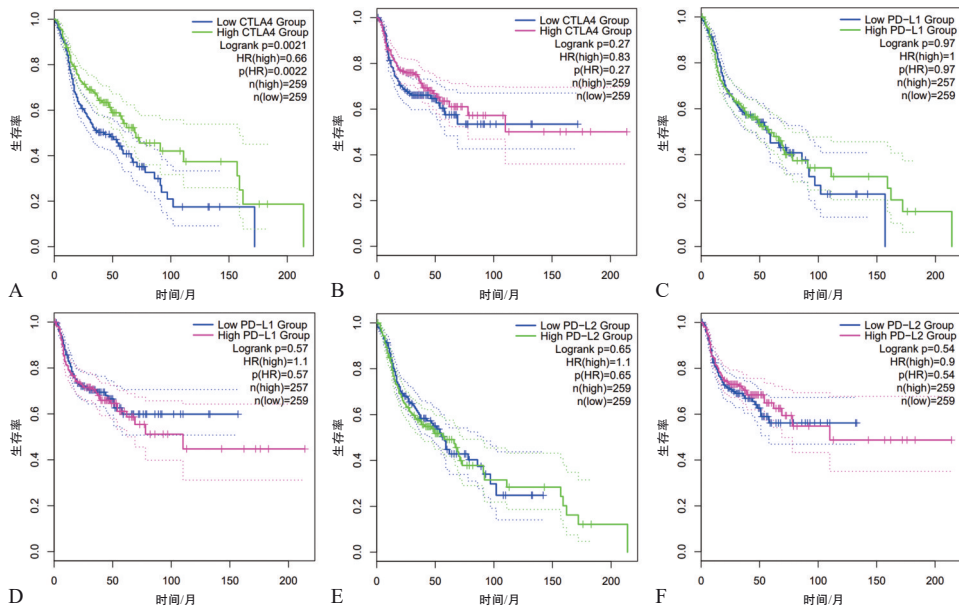
Fig 8 Special staining results



A: CYH总生存期; B: CYH无病生存期; C: MCP1总生存期; D: MCP1无病生存期; E: P29总生存期; F: P29无病生存期; G: PRG2总生存期; H: PRG2无病生存期。

图 9 CYH、MCP1、P29和PRG2的生存分析图

Fig 9 Survival analysis of CYH, MCP1, P29 and PRG2



A: CTLA4总生存期; B: CTLA4无病生存期; C: PD-L1总生存期; D: PD-L1无病生存期; E: PD-L2总生存期; F: PD-L2无病生存期。

图 10 CTLA4、PD-L1和PD-L2的生存分析图

Fig 10 Survival analysis of CTLA4, PD-L1 and PD-L2

研究^[7]表明, CTLA4既可表达于巨噬细胞表面, 又可调节肿瘤微环境中的巨噬细胞的发育, 影响肿瘤的生长。研究^[46]表明, 不同分化程度的OSCC可通过促进单核细胞分化为肿瘤相关巨噬细胞进一步促进自身的进展, 这表示在口腔黏膜癌变进程中固有免疫细胞与免疫检查点分子间可能存在交互作用, 影响口腔黏膜的癌变进程, 这与

本研究的结果一致。

综上所述, 单核细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞表达趋势与CTLA4和PD-L1免疫检查点分子的表达趋势正相关; 肥大细胞表达趋势与CTLA4和PD-L1免疫检查点分子的表达趋势负相关。单核细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞可能促进CTLA4和(或)PD-L1介导的肿瘤细胞免疫逃逸,

加速口腔黏膜癌变进程；肥大细胞可能抑制 CTLA4 和（或）PD-L1 介导的肿瘤细胞免疫逃逸，延缓口腔黏膜癌变进程。因此，干扰固有免疫中特定免疫细胞可在一定程度上调控 CTLA4 和 PD-L1 的表达，抑制肿瘤细胞免疫逃逸，延缓口腔黏膜癌变进程。

利益冲突声明：作者声明本文无利益冲突。

[参考文献]

- [1] 王海青, 向婉婷, 卢俊米. PD-L1 在口腔鳞状细胞癌中表达的临床意义[J]. 中国卫生标准管理, 2023, 14(6): 83-87.
Wang HQ, Xiang WT, Lu JM. Clinical significance of PD-L1 expression in oral squamous cell carcinoma[J]. *China Health Stand Manag*, 2023, 14(6): 83-87.
- [2] Koike K, Dehari H, Ogi K, et al. Prognostic value of FoxP3 and CTLA-4 expression in patients with oral squamous cell carcinoma[J]. *PLoS One*, 2020, 15(8): e-0237465.
- [3] Wu T, Tang C, Tao R, et al. PD-L1-mediated immunosuppression in oral squamous cell carcinoma: relationship with macrophage infiltration and epithelial to mesenchymal transition markers[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 693881.
- [4] Sudo S, Kajiya H, Okano S, et al. Cisplatin-induced programmed cell death ligand-2 expression is associated with metastasis ability in oral squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(4): 1113-1123.
- [5] Yuan Y, Jiao P, Wang Z, et al. Endoplasmic reticulum stress promotes the release of exosomal PD-L1 from head and neck cancer cells and facilitates M2 macrophage polarization[J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20(1): 12.
- [6] Weber M, Lutz R, Olmos M, et al. Beyond PD-L1-identification of further potential therapeutic targets in oral cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(7): 1812.
- [7] Yu GT, Bu LL, Zhao YY, et al. CTLA4 blockade reduces immature myeloid cells in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(6): e1151594.
- [8] Starzyńska A, Sejda A, Adamski Ł, et al. The B7 family molecules in oral squamous cell carcinoma: a systematic review. Part I : B7-H1 (PD-L1) and B7-DC (PD-L2)[J]. *Postepy Dermatol Alergol*, 2022, 39(2): 265-274.
- [9] Badoual C, Hans S, Merillon N, et al. PD-1-expressing tumor-infiltrating T cells are a favorable prognostic biomarker in HPV-associated head and neck cancer[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(1): 128-138.
- [10] Zgodzinski W, Grywalska E, Zinkiewicz K, et al. Peripheral blood T lymphocytes are downregulated by the PD-1/PD-L1 axis in advanced gastric cancer[J]. *Arch Med Sci*, 2019, 15(3): 774-783.
- [11] Quan J, Morrison NA, Johnson NW, et al. MCP-1 as a potential target to inhibit the bone invasion by oral squamous cell carcinoma[J]. *J Cell Biochem*, 2014, 115(10): 1787-1798.
- [12] Moradi Tabriz H, Obohat M, Vahedifard F, et al. Survey of mast cell density in transitional cell carcinoma[J]. *Iran J Pathol*, 2021, 16(2): 119-127.
- [13] Hadjigol S, Shah BA, O'Brien-Simpson NM. The 'Danse Macabre'-neutrophils the interactive partner affecting oral cancer outcomes[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 894021.
- [14] Siddiqui S, Jaiswal R, Hashmi GS. Quantitative analysis of tumor-associated tissue eosinophils and tumor-associated blood eosinophils in oral squamous cell carcinoma [J]. *J Oral Maxillofac Pathol*, 2020, 24(1): 131-137.
- [15] Sharma HD, Mahadesh J, Monalisa W, et al. Quantitative assessment of tumor-associated tissue eosinophilia and nuclear organizing region activity to validate the significance of the pattern of invasion in oral squamous cell carcinoma: a retrospective study[J]. *J Oral Maxillofac Pathol*, 2021, 25(2): 258-265.
- [16] 李腾艳, 聂敏海, 陈潇, 等. 白细胞表达趋势在监测癌前病损和 OSCC 早期诊断中的价值研究[J]. *实用口腔医学杂志*, 2020, 36(5): 753-757.
Li TY, Nie MH, Chen X, et al. The value of leukocyte expression trend in monitoring precancerous lesion and early diagnosis of OSCC[J]. *J Pract Stomatol*, 2020, 36(5): 753-757.
- [17] 高岩. 口腔组织病理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2020: 81-90, 181-182, 315-319.
Gao Y. *Oral histology and pathology*[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2020: 81-90, 181-182, 315-319.
- [18] Marin-Acevedo JA, Kimbrough EO, Lou Y. Next generation of immune checkpoint inhibitors and beyond[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 45.
- [19] Shi L, Yang Y, Li M, et al. LncRNA IFITM4P promotes immune escape by up-regulating PD-L1 via dual mechanism in oral carcinogenesis[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(4):

- 1564-1577.
- [20] Phulari RGS, Rathore RS, Shah AK, et al. Neutrophil: lymphocyte ratio and oral squamous cell carcinoma: a preliminary study[J]. *J Oral Maxillofac Pathol*, 2019, 23(1): 78-81.
- [21] Grimm M, Rieth J, Hoefert S, et al. Standardized pre-treatment inflammatory laboratory markers and calculated ratios in patients with oral squamous cell carcinoma [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2016, 273(10): 3371-3384.
- [22] Teófilo CR, Ferreira Junior AEC, Batista AC, et al. Mast cells and blood vessels profile in oral carcinogenesis: an immunohistochemistry study[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2020, 21(4): 1097-1102.
- [23] Ansari FM, Asif M, Kiani MN, et al. Evaluation of mast cell density using CD117 antibody and microvessel density using CD34 antibody in different grades of oral squamous cell carcinoma[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2020, 21(12): 3533-3538.
- [24] Narayan KV, Sonia G, Shrestha P, et al. A comparative study of mast cells count in different histological grades of oral squamous cell carcinoma by using toluidine blue stain[J]. *Cureus*, 2020, 12(9): e10626.
- [25] Ingaleswar PS, Pandit S, Desai D, et al. Immunohistochemical analysis of angiogenesis by CD34 and mast cells by toluidine blue in different grades of oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Maxillofac Pathol*, 2016, 20(3): 467-473.
- [26] Lien MY, Chang AC, Tsai HC, et al. Monocyte chemoattractant protein 1 promotes VEGF-A expression in OSCC by activating ILK and MEK1/2 signaling and downregulating miR-29c[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 592415.
- [27] Gao L, Wang FQ, Li HM, et al. CCL2/EGF positive feedback loop between cancer cells and macrophages promotes cell migration and invasion in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(52): 87037-87051.
- [28] Debta P, Debta FM, Chaudhary M, et al. Evaluation of myeloid cells (tumor-associated tissue eosinophils and mast cells) infiltration in different grades of oral squamous cell carcinoma[J]. *Indian J Med Paediatr Oncol*, 2016, 37(3): 158-167.
- [29] Sahni P, Patel A, Md S, et al. Tumor associated tissue eosinophilia in oral squamous cell carcinoma: a histochemical analysis[J]. *Malays J Med Sci*, 2015, 22(6): 21-25.
- [30] Goertzen C, Mahdi H, Laliberte C, et al. Oral inflammation promotes oral squamous cell carcinoma invasion[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(49): 29047-29063.
- [31] Oliveira-Costa JP, de Carvalho AF, da Silveira da GG, et al. Gene expression patterns through oral squamous cell carcinoma development: PD-L1 expression in primary tumor and circulating tumor cells[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(25): 20902-20920.
- [32] Hirai M, Kitahara H, Kobayashi Y, et al. Regulation of PD-L1 expression in a high-grade invasive human oral squamous cell carcinoma microenvironment[J]. *Int J Oncol*, 2017, 50(1): 41-48.
- [33] Kämmerer PW, Toyoshima T, Schöder F, et al. Association of T-cell regulatory gene polymorphisms with oral squamous cell carcinoma[J]. *Oral Oncol*, 2010, 46(7): 543-548.
- [34] Weber M, Wehrhan F, Baran C, et al. Prognostic significance of PD-L2 expression in patients with oral squamous cell carcinoma—A comparison to the PD-L1 expression profile[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(3): 1124-1134.
- [35] Jiang M, Li B. STAT3 and its targeting inhibitors in oral squamous cell carcinoma[J]. *Cells*, 2022, 11(19): 3131.
- [36] Shrestha A, Keshwar S, Raut T. Evaluation of mast cells in oral potentially malignant disorders and oral squamous cell carcinoma[J]. *Int J Dent*, 2021, 2021: 5609563.
- [37] Wu MH, Hong HC, Hong TM, et al. Targeting galectin-1 in carcinoma-associated fibroblasts inhibits oral squamous cell carcinoma metastasis by downregulating MCP-1/CCL2 expression[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(6): 1306-1316.
- [38] Verza FA, Valente VB, Oliveira LK, et al. Social isolation stress facilitates chemically induced oral carcinogenesis[J]. *PLoS One*, 2021, 16(1): e0245190.
- [39] Yellapurkar S, Natarajan S, Boaz K, et al. Tumour-associated tissue eosinophilia in oral squamous cell carcinoma—A boon or a bane[J]. *J Clin Diagn Res*, 2016, 10(4): ZC65-ZC68.
- [40] 陈晓琳, 杨于权, 侯照远, 等. 肿瘤相关中性粒细胞在肿瘤免疫治疗中的研究进展[J]. *中国免疫学杂志*, 2023, 39(7): 1519-1524.
- Chen XL, Yang YQ, Hou ZY, et al. Role of tumor-associated neutrophils in tumor immunotherapy[J]. *Chin J Immunol*, 2023, 39(7): 1519-1524.
- [41] Wu CF, Hung TT, Su YC, et al. Endoplasmic reticulum stress of oral squamous cell carcinoma induces immuno-

suppression of neutrophils[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 818192.

[42] Hu X, Xiang F, Feng Y, et al. Neutrophils promote tumor progression in oral squamous cell carcinoma by regulating EMT and JAK2/STAT3 signaling through chemerin[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 812044.

[43] Dong Y, Wang Z, Mao F, et al. PD-1 blockade prevents the progression of oral carcinogenesis[J]. *Carcinogenesis*, 2021, 42(6): 891-902.

[44] 陈志红, 吴亚东. 程序性死亡受体-1 及其配体在口腔鳞状细胞癌中的研究进展[J]. *华西口腔医学杂志*, 2020, 38(4): 449-453.
Chen ZH, Wu YD. Development of programmed death receptor-1 and programmed death receptor-1 ligand in oral squamous cell carcinoma[J]. *West China J Stomatol*, 2020, 38(4): 449-453.

[45] Suárez-Sánchez FJ, Lequerica-Fernández P, Suárez-Canto J, et al. Macrophages in oral carcinomas: relationship with cancer stem cell markers and PD-L1 expression[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(7): 1764.

[46] Kai K, Moriyama M, Haque ASMR, et al. Oral squamous cell carcinoma contributes to differentiation of monocyte-derived tumor-associated macrophages via PAI-1 and IL-8 production[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17): 9475.

(本文编辑 张玉楠)

《口腔种植：治疗计划与临床决策》出版发行

书籍名称：口腔种植：治疗计划与临床决策

主编：Mithridade Davarpanah, Serge Szmukler-Moncler, Philippe Rajzbaum, Keyvan Davarpanah, Nit-zan Bichacho, Eric van Dooren

主译：宿玉成

出版日期：2023年11月

出版社：人民卫生出版社

内容简介：本书由法国种植学专家Mithridade Davarpanah团队编写，出版此书的初衷在于分享其团队在口腔种植手术、修复和科研方面丰富的经验，帮助口腔种植领域的医生共同成长。本书首先总结了目前国际口腔种植领域的热点问题和共识性结论，并结合临床病例，创新性地提出了两个种植治疗的辅助工具，即种植治疗前的评估表和治疗方案表。这两个图表以简单明了的可视化方式，帮助医生准确评估治疗前的临床情况，并指导医生建立标准化、个性化的手术和修复方案，使每一位患者的治疗方案有章可循。此外，本书所展示的口腔种植病例数目多、种类全，涵盖了不同类型、不同难度的牙列缺损和牙列缺失病例，图文并茂、内容详尽，既是一本实用的参考书，也是一本丰富的病例集。

