

口腔微生物与免疫细胞及上皮屏障互作在口腔黏膜稳态维持及疾病发生中的作用研究进展

林冬佳^{1,2}, 杨利洒^{1,2}, 王智^{1,2△}

1. 中山大学光华口腔医学院 附属口腔医院 (广州 510055); 2. 广东省口腔医学重点实验室 (广州 510055)

【摘要】 健康状态下, 口腔微生物、黏膜免疫细胞及上皮屏障三者相互作用, 维持口腔微生态稳定。疾病状态下, 口腔微生态紊乱, 各种致病菌及其毒力因子、代谢产物等激惹免疫系统, 直接或间接破坏上皮屏障, 促进口腔黏膜病的发生发展, 产生免疫炎症反应或不可逆转的“炎-癌”转化。本文从口腔稳态维持与口腔黏膜病发生两个层面, 针对口腔微生物与免疫细胞及上皮屏障的相互作用作一综述, 为进一步揭示口腔黏膜稳态与口腔黏膜病发生发展作用机制, 从而通过重塑黏膜稳态开发口腔黏膜病诊疗新策略提供新思路与科学理论依据。

【关键词】 口腔稳态 口腔黏膜病 口腔微生物 黏膜免疫 上皮屏障

Research Updates: The Role of Interaction between Oral Microbiota, Immune Cells, and Epithelial Barrier in Oral Mucosal Homeostasis and Pathogenesis LIN Dong-jia^{1,2}, YANG Li-sa^{1,2}, WANG Zhi^{1,2△}. 1. Hospital of Stomatology, Guanghua School of Stomatology, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510055, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Stomatology, Guangzhou 510055, China

△ Corresponding author, E-mail: wangzh75@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 In a healthy state, the interaction between the oral microorganisms, mucosal immune cells and epithelial barrier can maintain the oral microecological stability. However, the oral microecology is disrupted under a diseased state and various pathogenic bacteria and their virulence factors and metabolites irritate the immune system, which causes direct or indirect damage to the epithelial barrier, promotes the pathogenesis and progression of oral mucosal diseases, and triggers immune inflammatory response or the irreversible transformation from inflammation into cancer. We herein reviewed the interaction between oral microorganisms, immune cells and epithelial barrier from two perspectives, the maintenance of the oral homeostasis and the pathogenesis of oral mucosal diseases. We intended to gain further understanding of the oral mucosal homeostasis and the mechanism of action of the pathogenesis and progression of oral mucosal diseases, and to provide thereby ideas and scientific and theoretical basis for developing new strategies for the diagnosis and treatment of oral mucosal diseases through re-establishing mucosal homeostasis.

【Key words】 Oral homeostasis Oral mucosal disease Oral microbiota Mucosal immunity Epithelial barrier

口腔微生物群与黏膜免疫系统、上皮屏障及其他因素相互作用, 呈现复杂、多样与动态的协调性, 即口腔黏膜稳态。在稳态条件下, 口腔黏膜免疫应答筛选识别微生物的共生定植, 反之, 口腔微生物促进口腔免疫细胞的形成与成熟。上皮屏障细胞表达多种模式识别受体参与微生物应答; 口腔微生物群落亦动态影响宿主上皮细胞的结构与功能。另一方面, 口腔微生态紊乱, 通常指一系列环境因素扰乱宿主微生物稳态, 超出其耐受范围及自我修复能力, 最终导致生态系统微生物群功能改变的过程。现研究表明, 微生物群落的丰度和功能与疾病密切相关, 对其深入研究将有助于疾病的病因、诊断或治疗。口腔微生态紊乱导致致病菌丰度异常, 逃避固有或适应性免疫系统的杀伤, 得以在组织中存活、繁殖, 通过多种

生存策略破坏上皮屏障的完整性, 损伤不同细胞间连接, 进一步诱发口腔黏膜病的发生发展。

1 口腔微生态与免疫细胞及上皮屏障互作维持口腔黏膜稳态

1.1 口腔微生态是黏膜稳态维持的关键因素

在结构与组成上, 口腔微生态复杂多样又特征鲜明, 是人类第二大微生物群落, 包含细菌、真菌、病毒及其他低丰度微生物组等。那么, 胚胎及新生儿早期口腔菌群如何被免疫系统所“接纳”, 形成成熟口腔耐受菌群的呢? 口腔微生物群形成过程主要发生在新生儿出生前两年, 尤其受母亲口腔微生物、胎盘微生态及早期生活环境的影响^[1]。口腔黏膜衍生出一系列物理、化学、生物等环境条件特定筛选共生微生物, 口腔微生物遵循一种独特结合模式, 即细菌产生各种糖蛋白及多糖, 通过吸引或附

△ 通信作者, E-mail: wangzh75@mail.sysu.edu.cn

着作用, 需氧或厌氧菌共聚集形成生物膜, 生物膜产生多种胞外聚合物黏附定植于口腔, 最终形成稳定微生态系统。

母体口腔微生物与胎盘微生物之间存在相似性^[2]; 分娩方式也可能影响3~6月龄婴儿口腔微生物的形成^[3]。例如, 经阴道分娩的婴儿普雷沃氏菌属、拟杆菌属丰度较高, 而剖腹产婴儿葡萄球菌属和韦永氏菌属等较丰富^[4], 然而, 是否影响儿童口腔健康有待进一步研究。出生后, 链球菌属(变形链球菌、表皮葡萄球菌和唾液链球菌)和梭杆菌属快速定植于新生儿口腔环境中。显然, 链球菌属的富集(特别是唾液链球菌)与婴儿口腔中首次低聚糖刺激有关, 即母乳或配方食品(发酵食品)中低聚糖饮食产生的代谢产物为链球菌的繁殖奠定了物质基础^[5]。婴儿期至牙齿萌出前, 口腔内大肠杆菌、葡萄球菌、假单胞菌, 产生乳酸的细菌如乳杆菌和链球菌的分布非常普遍^[6]。往后几年, 镰刀菌、坦纳菌属等开始主导口腔微生态系统, 特别是韦荣菌属、梭杆菌属、奈瑟菌属、普雷沃菌属、罗氏菌属、密螺旋体属和链球菌属, 构成成熟口腔微生物群。成年后, 健康口腔菌群可归纳为厚壁菌门、放线菌门、拟杆菌门、变形菌门、螺旋体和梭杆菌门等六门^[7]。至此, 人类口腔微生物菌群的多样性及稳定性尘埃落定, 为机体稳态的维持与动态调控奠定生物学基础。

1.2 口腔微生物与免疫细胞相互作用维持稳态平衡

口腔免疫耐受指口腔免疫系统不会针对共生微生物抗原或食物抗原引发细胞或体液免疫反应^[8]。目前关于如何通过建立口腔耐受使口腔共生菌群不具有免疫原性的机制尚不完全清楚。口腔微生物在长期形成与发展过程中, 原生微生物抗原与黏膜上皮细胞接触识别, 将抗原呈递给下层的免疫细胞^[9-10]。这个过程可能包括: ①细胞旁扩散, ②微折叠细胞和小球细胞内吞作用, ③跨上皮树突状细胞(dendritic cells, DC)采集抗原; 在上皮特定区域(称为Peyer斑), 口腔内抗原被CD11c⁺CD103⁺DC或CD11b⁺CX3CR1⁺DC吸收。CX3CR1⁺DC保留在固有层中, 但载有抗原的CD103⁺DC以CCR7依赖性机制迁移至淋巴结, 促进幼稚T细胞分化为调节性T(Treg)细胞。Treg细胞在淋巴结中产生后, 通过上调CCR9和整联蛋白 $\alpha 4\beta 7$, 使其回到固有层进行局部扩张以诱导口腔耐受^[9, 11]。Treg细胞的主要作用: ①促进B细胞类别转换以产生非炎性IgA反应; ②诱导效应T细胞的无反应性; ③抑制下游促炎细胞。

微生物及免疫学最新进展认为, 黏膜屏障的完整性对稳态机制至关重要。由于环境条件的变化, 干扰口腔微生物群的稳定, 导致炎症的产生, 诱发口腔黏膜疾病。口腔黏膜稳态由微生物群与 $\gamma\delta$ T细胞相互作用维持^[12]。

$\gamma\delta$ T细胞主要存在于牙龈, 特别是与菌斑生物膜的上皮连接中, V $\gamma 6^+$ 细胞是牙龈产生白细胞介素(interleukin, IL)-17的主要细胞。牙龈 $\gamma\delta$ T细胞的平衡受口腔微生物群的调节, 在无菌小鼠模型中V $\gamma 6^+$ 和V $\gamma 4^+$ 细胞比例发生逆转, 且活化状态降低; 反之, $\gamma\delta$ T细胞的敲除导致牙龈炎症升高, 口腔微生物多样性改变。此外, 口腔黏膜中还存在黏膜相关恒定T(mucosal-associated invariant T, MAIT)细胞, 这是一类CD3⁺CD4/CD8双阴性, 具有先天免疫特征的非常规T淋巴细胞。其响应口腔共生微生物及病原体, MAIT细胞的一个子集表现出高水平的IL-17生产能力^[13]。来自宿主微生物群的环境信号影响DC的形成及响应, 以便它们能通过细胞因子、趋化因子和T细胞反应, 对病原体的入侵做出及时反应。宿主微生物群落通过控制I型干扰素(IFN-I)的生产和DC细胞IFN-I受体信号的稳定状态, 维持这些细胞杀伤病原体的功能^[14]。

1.3 口腔微生物与上皮细胞相互作用维持稳态平衡

口腔上皮屏障是维持口腔环境稳态的重要信息中转站, 复层状鳞状上皮的逐渐成熟是其行使正常功能的必要条件。口腔菌群生物膜根据其性质和成分差异影响上皮细胞的形态、细胞间连接基因的表达、免疫耐受调控与应答。

目前, 口腔细菌微生物与上皮屏障之间的相互作用研究主要集中在牙龈上皮屏障。牙龈上皮中的角质形成细胞是抵抗细菌感染和侵袭的第一道屏障, 它们通过许多专门的跨膜分子复合物相互连接, 其中包括紧密连接、黏附连接及间隙连接的细胞-细胞连接; 这些分子复合物在牙龈组织中的正常表达对于维持上皮完整性至关重要^[15]。BELIBASAKIS等^[16]已证明连接蛋白在对细菌生物膜的免疫反应中的重要性。定量实时聚合酶链反应显示, 低丰度牙龈卟啉单胞菌早期感染导致编码紧密连接蛋白的密封蛋白(occludin)、闭合蛋白-1(claudin-1)和claudin-4的基因暂时上调, 这表明牙龈卟啉单胞菌参与诱导宿主的早期防御机制。GROEGER等^[17]研究发现, 持续感染牙龈卟啉单胞菌的人牙龈角化细胞紧密连接蛋白occludin、claudin-1和claudin-4表达消失, 且跨上皮电阻降低至零, 如果使用牙龈蛋白酶抑制剂, 这一作用会被延迟。一旦上皮完整性被生物膜有害物质或代谢产物持续干扰与破坏, 相关致病菌将进一步侵入更深的牙周组织, 从而引发炎症反应。除直接损伤外, 另一机制可能是上皮黏附复合物的主动内化。此外, 牙龈卟啉单胞菌能够产生多种蛋白水解酶, 损害内皮细胞黏附^[18]。牙龈素通过诱导宿主基质金属蛋白酶增强胶原蛋白分解作用, 影响N-钙黏

蛋白、VE-钙黏蛋白、 β -整联蛋白,降低细胞对细胞外基质蛋白的黏附,导致上皮细胞脱离。病原体破坏上皮屏障,入侵上皮细胞,细胞内病原体调控宿主细胞内动力蛋白、肌动蛋白纤维、微管、脂质等进一步影响细胞功能^[19]。因此,上皮屏障中的细胞间连接是抵抗微生物及其毒性的先天免疫反应的关键部分。

2 口腔微生态与免疫细胞及上皮屏障互作在口腔黏膜病发生发展中的作用

口腔黏膜病又称口腔软组织疾病,是指影响口腔黏膜及软组织的一系列疾病或病症。口腔黏膜病主要包括口腔黏膜感染性疾病,如口腔白色念珠菌病;口腔黏膜斑纹类疾病,如口腔白斑病、口腔扁平苔藓;口腔黏膜溃疡类疾病如复发性阿弗他溃疡;口腔黏膜自身免疫性疾病如寻常性天疱疮等;口腔黏膜上还会发生口腔恶性肿瘤,如口腔鳞癌等。新近研究表明,口腔微生态紊乱在口腔黏膜病发生及进展中起关键作用,各种口腔病变可能存在其特有的关键微生物^[20]。

2.1 口腔微生态紊乱在口腔黏膜病进展中的关键作用

随着近年来微生物组测序的兴起,越来越多研究表明,微生态紊乱参与口腔黏膜疾病的发生发展。例如,白色念珠菌是口腔念珠菌病的主要病原体(75.37%),其次是热带念珠菌(6.06%)、克柔念珠菌(2.79%)及光滑念珠菌(2.02%)。健康宿主中,共生菌群对限制白色念珠菌在黏膜部位的定植至关重要。当免疫抑制改变了微生物平衡时,某些细菌物种过度生长,并与白色念珠菌形成互利关系,重塑口腔微生态,促进侵袭性感染^[21]。不同类型口腔扁平苔藓的微生物失调亦是多种多样的。一般来说,口腔扁平苔藓中卟啉单胞菌、钩端螺旋体和梭杆菌的丰度显著增加,而嗜血杆菌、棒状杆菌、纤维素杆菌、弯曲杆菌和链球菌的丰度降低。与健康对照相比,糜烂型口腔扁平苔藓患者念珠菌和曲霉菌丰度增高,网纹状口腔扁平苔藓患者链格孢菌和核盘菌科等未鉴定物丰度增高^[22-24]。复发性阿弗他溃疡的病因是特发性和多因素的。然而,在口腔卫生习惯差的个体中更为普遍,这表明口腔微生物疾病可能参与免疫功能障碍的调节,并最终导致上皮内疱和黏膜屏障损伤^[25-26]。值得一提的是,最近的研究表明微生物菌群失调可能提示复发性阿弗他溃疡的疾病进展。在活动性阿弗他溃疡病损中,定居在健康口腔黏膜上的细菌和真菌的组成发生了变化,即使在溃疡愈合后,这种变化也在一定程度上持续存在。例如,溃疡部位观察到普雷沃菌属和不动杆菌属物种丰度增加,表明这些变化不太可能参与复发性阿弗他溃疡的启

动^[27]。梭菌属和拉克诺那杆菌属、心杆菌属、钩端菌属和梭杆菌属与活动性溃疡有关;噬单胞菌与复发性阿弗他溃疡的愈合相关等^[28]。

不仅如此,口腔微生物群及其代谢物可能成为恶性转化的潜在标志物。口腔鳞癌中拟杆菌门、链球菌属和梭杆菌属的相对丰度明显高于口腔白斑病^[29-30],提示链球菌和梭杆菌水平变化可作为口腔癌前病变临床潜在新指标。另一项研究讨论了口腔微生物组从癌症早期进展到晚期的动态分布变化^[31]。在属水平上,梭杆菌的丰度增加,而链球菌、嗜血杆菌、卟啉单胞菌和放线菌的数量随着癌症的进展而减少。牙周梭杆菌、微小细小杆菌、常量链球菌、流感嗜血杆菌和丝状因子与口腔鳞状细胞癌相关,并且从第 I 期到第 IV 期丰度逐渐增加。口腔癌第 IV 期患者的口腔微生物群落复杂性明显高于健康对照组。牙龈卟啉单胞菌被确定为整个消化道中癌症相关死亡的独立且显著的危险因素。一项队列研究表明,牙龈卟啉单胞菌在肿瘤组织中的位置与口腔鳞状细胞癌患者的不良生存率相关^[32]。总之,这些发现揭示了口腔微生物群落的动态变化可能诱发口腔病变,特定的口腔微生物及其代谢产物可作为恶性肿瘤早期诊断和预后监测的潜在生物标志物。

2.2 微生态与免疫细胞作用紊乱促进口腔黏膜病进展

口腔念珠菌病中,Th17适应性免疫反应主要通过控制念珠菌的初始生长和抑制随后的组织侵袭参与黏膜宿主防御^[33-34]。首先,白色念珠菌表位通过次级介质激活Th17增殖和功能所必需的STAT3,确保初始模式识别并为Th17反应的激活提供细胞因子环境^[35]。IL-17促进外周组织粒细胞生成和中性粒细胞积累,用于病原体清除和宿主对念珠菌感染的防御^[36]。IL-17表达水平在口腔扁平苔藓病变部位和患者血清中显著升高,唾液IL-17浓度与疾病临床评分之间也呈显著的正相关关系,表明Th17可能与口腔扁平苔藓免疫发病机制有关^[37]。CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Tregs在感染过程中发挥着至关重要的免疫调节作用,对Treg细胞产生应答的CD4⁺ T细胞(Tresp)诱导IL-17细胞因子分泌可显著增强真菌清除和感染的恢复^[38]。CD8⁺ T细胞通常分布在口腔扁平苔藓上皮内区域或从基层到黏膜上皮上半部分区域,跟随上皮组织恶性程度变化而变化,而CD4⁺ T细胞则多存在于口腔扁平苔藓更深层的结缔组织中^[39]。微生物群感染的细胞毒性T淋巴细胞(CTL)引起的黏膜上皮细胞的损伤可能是溃疡发生的原因。一旦溃疡发生,细菌如链球菌通过破裂的黏膜接触溃疡性口腔病变。链球菌及其相关抗原穿透溃疡性口腔黏膜,进一步引发特定的免疫反应,

导致CTL渗透到口腔黏膜上皮及内层^[40]。

研究表明唾液中IL-6、IL-8、TNF- α 等细胞因子可作为口腔鳞状细胞癌早期诊断的潜在的非侵入性生物标志物,其水平高低可以用于区分口腔鳞状细胞癌、口腔白斑病和健康对照人群^[41]。对应的,有学者指出牙龈卟啉单胞菌感染人口腔角质细胞后,可诱导细胞分泌IL-6、IL-8等细胞因子及CXCL2、CCL2等趋化因子进而诱导髓源性抑制细胞趋化,促进免疫抑制微环境的形成^[32]。亦有研究者指出,牙龈卟啉单胞菌可通过诱导口腔鳞状细胞癌细胞B7-H1、B7-DC受体的高表达,进而促进IL-1 β 、IL-6、IL-8和TNF- α 的分泌而诱导慢性炎症的发生^[42]。总之,免疫微环境与口腔黏膜微生态在口腔黏膜疾病的发生发展中起着重要作用,但口腔微生物如何诱发免疫反应并调控疾病发生发展的具体机制仍有待进一步研究。

2.3 微生物紊乱破坏上皮屏障促进口腔黏膜病进展

病原微生物及其毒力因子等破坏黏膜上皮可能诱导口腔黏膜多种免疫炎性病损的发生。白色念珠菌素诱导上皮屏障钙离子的流入与乳酸脱氢酶的释放,造成上皮细胞损伤^[43-46]。念珠菌溶血素损伤黏膜上皮细胞,激活由表皮生长因子受体家族诱导的丝裂原激活的蛋白激酶信号,招募中性粒细胞且触发炎症细胞因子的产生^[47-48]。此外,白色念珠菌通过真菌被动诱导但宿主细胞驱动的过程侵入细胞,在这个过程中,溶解酶与侵入素降解E-钙黏蛋白等上皮间连接蛋白,使病原体穿透口腔上皮细胞层^[44]。口腔扁平苔藓上皮的异常特征,如上皮过度角化、基底层液化变形,提示屏障功能障碍,同时,其上皮基底层及固有层均可以检测到许多细菌信号^[24]。有学者分析了口腔扁平苔藓上皮细胞的转录组特征,发现差异表达的基因参与了上皮的分化和发育^[49]。微生物感染的CTL导致复发性阿弗他溃疡^[50]。一旦出现溃疡,链球菌及其相关抗原可以穿透黏膜破损区域,进一步触发特异性免疫反应,导致口腔黏膜上皮和固有层CTL等免疫细胞的浸润。STEHLIKOVA等^[28]提出,高负荷的血链球菌(血链球菌)样微生物可能启动局部免疫反应,刺激朗格汉斯细胞并激活对上皮热休克蛋白内同源肽的交叉反应性自身免疫反应,这个过程可以引发导致复发性阿弗他溃疡的免疫病理变化。这些新生成的CTL破坏邻近的上皮细胞,并在复发性阿弗他溃疡恶化的中晚期进一步导致口腔溃疡的形成。在愈合阶段,T细胞增殖反应降低至正常水平,使溃疡边缘的上皮细胞有机会增殖并结合黏膜,最终促进愈合。在复发性阿弗他溃疡急性加重患者中也观察到这种情况:外周血中CD3⁺、CD4⁺和CD8 IL-2R⁺细胞的百分比增加,这一百分比在急性加重后恢复到正常水平^[51]。

抗菌治疗对复发性阿弗他溃疡的积极影响表明口腔微生物群可能参与了复发性阿弗他溃疡的病因和发病机制^[51],尽管其复杂的病理生理学不能归因于单一病原体。

病原微生物及其毒力因子通过破坏黏膜上皮屏障诱导口腔癌前病变及口腔癌的发生发展。口腔黏膜由上皮和基质组成,提供最初的物理防御以抵抗感染。牙龈卟啉单胞菌已被证明通过其毒力因子FimA与黏附素分子结合诱导上皮间质转化,并能通过影响p53、PI3K和细胞周期蛋白途径加速细胞周期^[52-53];这类细菌降低了plakophilin的活性,plakophilin是上皮细胞连接中的关键分子,提示该类细菌可能促进肿瘤转移^[53]。目前认为牙龈卟啉单胞菌通过激活ERK1/2-ETS1、p38/HSP27和PAL/NF- κ B通路诱导基质金属蛋白酶-9(PRO-MMP-9)、MMP-1和MMP-10的过度表达而增加肿瘤侵袭性,从而使上皮间充质恶化并增加肿瘤的侵袭性^[42]。此外,具核梭杆菌的黏附素FadA,可以结合上皮细胞上的E-钙黏蛋白,使其失活以促进黏膜通透性^[54]。铜绿假单胞菌是一种从口腔鳞癌中分离出来的稀有物种,其能够导致上皮细胞DNA断裂并促进侵袭和转移变化,与致癌作用有关^[54]。此外,微生物的代谢物,即甲硫醇,与包括4型胶原在内的胶原分解有关,可能在口腔鳞癌细胞入侵基底膜中起作用。CHENG等^[55]观察到上皮屏障障碍和邻近间质(成纤维细胞等)生物学特性的改变有利于口腔白斑中白色念珠菌感染,这进一步促进了疾病的进展。

3 结语与展望

现阶段研究表明,口腔黏膜相关微生物在健康与疾病发生发展中具有重要意义。然而,口腔黏膜微生物学方兴未艾,仍有许多关键问题及技术瓶颈亟需进一步研究与克服。首先,口腔微生物群的重要性表明,我们可以制定针对口腔致病微生物群的相应临床策略。然而,证明口腔微生物与口腔黏膜疾病间的直接因果关系具有一定难度与挑战。迄今为止,大多数研究仅限于相关性结论,缺乏直接因果论证。其次,口腔黏膜疾病复杂的病理生理学能否归因于单一病原体仍有待争议,确定复杂微生物组的主要致病成分是另一个挑战。第三,基于不同口腔黏膜上皮微生态环境具有鲜明特征,微生物群与免疫细胞间的相互作用可能存在差异,称之为生态位特异性;未来的研究可能需要基于不同生态位点而展开,例如将进一步关注在口腔黏膜不同部位微生物群及其免疫细胞亚群间相互作用与致病机制。相信在未来,随着口腔黏膜微生物学的不断发展,将为口腔黏膜疾病的预防与治疗带来了令人振奋的前景。

* * *

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] GOMEZ A, NELSON K E. The oral microbiome of children: Development, disease, and implications beyond oral health. *Microb Ecol*, 2017, 73(2): 492–503.
- [2] AAGAARD K, MA J, ANTONY K M, *et al*. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*, 2014, 6(237): 237ra65[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008599>.
- [3] LI H, WANG J, WU L, *et al*. The impacts of delivery mode on infant's oral microflora. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 11938[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30397-7>.
- [4] CHU D M, MA J, PRINCE A L, *et al*. Maturation of the infant microbiome community structure and function across multiple body sites and in relation to mode of delivery. *Nat Med*, 2017, 23(3): 314–326.
- [5] CARLSSON J, GRAHNEN H, JONSSON G, *et al*. Early establishment of *Streptococcus salivarius* in the mouth of infants. *J Dent Res*, 1970, 49(2): 415–418.
- [6] WARD T L, HOSID S, IOSHIKHES I, *et al*. Human milk metagenome: a functional capacity analysis. *BMC Microbiol*, 2013, 13(1): 116[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-116>.
- [7] VERMA D, GARG P K, DUBEY A K. Insights into the human oral microbiome. *Arch Microbiol*, 2018, 200(4): 525–540.
- [8] WAMBRE E, JEONG D. Oral tolerance development and maintenance. *Immunol Allergy Clin North Am*, 2018, 38(1): 27–37.
- [9] WAWRZYNIAK M, O'MAHONY L, AKDIS M. Role of regulatory cells in oral tolerance. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2017, 9(2): 107–115.
- [10] CHINTHRAJAH R S, HERNANDEZ J D, BOYD S D, *et al*. Molecular and cellular mechanisms of food allergy and food tolerance. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 137(4): 984–997.
- [11] HADIS U, WAHL B, SCHULZ O, *et al*. Intestinal tolerance requires gut homing and expansion of FoxP3⁺ regulatory T cells in the lamina propria. *Immunity*, 2011, 34(2): 237–246.
- [12] HOVAV A H, WILHARM A, BAREL O, *et al*. Development and function of $\gamma\delta$ T cells in the oral mucosa. *J Dent Res*, 2020, 99(5): 498–505.
- [13] BOULOUIS C, SIA W R, GULAM M Y, *et al*. Human MAIT cell cytolytic effector proteins synergize to overcome carbapenem resistance in *Escherichia coli*. *PLoS Biol*, 2020, 18(6): e3000644[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000644>.
- [14] SCHAUPP L, MUTH S, ROGELL L, *et al*. Microbiota-induced type I interferons instruct a poised basal state of dendritic cells. *Cell*, 2020, 181(5): 1080–1096.
- [15] GROEGER S, MEYLE J. Oral mucosal epithelial cells. *Front Immunol*, 2019, 10: 208[2021-12-07]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00208>.
- [16] BELIBASAKIS G N, KAST J I, THURNHEER T, *et al*. The expression of gingival epithelial junctions in response to subgingival biofilms. *Virulence*, 2015, 6(7): 704–709.
- [17] GUO W, WANG P, LIU Z H, *et al*. Analysis of differential expression of tight junction proteins in cultured oral epithelial cells altered by *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide, and extracellular adenosine triphosphate. *Int J Oral Sci*. 2018, 10(1): e8[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1038/ijos.2017.51>.
- [18] TADA H, NISHIOKA T, TAKASE A, *et al*. *Porphyromonas gingivalis* induces the production of interleukin-31 by human mast cells, resulting in dysfunction of the gingival epithelial barrier. *Cell Microbiol*. 2019, 21(3): e12972[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1111/cmi.12972>.
- [19] ABDULKAREEM A A, SHELTON R M, LANDINI G, *et al*. Potential role of periodontal pathogens in compromising epithelial barrier function by inducing epithelial-mesenchymal transition. *J Periodontol Res*, 2018, 53(4): 565–574.
- [20] LIN D J, YANG L S, WEN L L, *et al*. Crosstalk between the oral microbiota, mucosal immunity, and the epithelial barrier regulates oral mucosal disease pathogenesis. *Mucosal Immunol*, 2021, 14(6): 1247–1258.
- [21] HU L J, HE C, ZHAO C, *et al*. Characterization of oral candidiasis and the *Candida* species profile in patients with oral mucosal diseases. *Microbial Pathogenesis*, 2019, 134(1): 103575[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103575>.
- [22] YU F Y, WANG Q Q, LI M, *et al*. Dysbiosis of saliva microbiome in patients with oral lichen planus. *BMC Microbiol*, 2020, 20(1): 75[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01733-7>.
- [23] BAEK K, CHOI Y. The microbiology of oral lichen planus: Is microbial infection the cause of oral lichen planus? *Mol Oral Microbiol*, 2018, 33(1): 22–28.
- [24] CHOI Y S, KIM Y, YOON H J, *et al*. The presence of bacteria within tissue provides insights into the pathogenesis of oral lichen planus. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 29186[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1038/srep29186>.
- [25] TECCO S, SCIARA S, PANTALEO G, *et al*. The association between minor recurrent aphthous stomatitis (RAS), children's poor oral condition, and underlying negative psychosocial habits and attitudes towards oral hygiene. *BMC Pediatr*, 2018, 18(1): 136[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1186/s12887-018-1094-y>.
- [26] RIVERA-HIDALGO F, SHULMAN J D, BEACH M M. The association of tobacco and other factors with recurrent aphthous stomatitis in an US adult population. *Oral Diseases*, 2004, 10(6): 335–345.
- [27] HIJAZI K, LOWE T, MEHARG C, *et al*. Mucosal microbiome in patients with recurrent aphthous stomatitis. *J Dent Res*, 2015, 94(3 Suppl): 87S–94S.
- [28] STEHLIKOVA Z, TLASKAL V, GALANOVA N, *et al*. Oral microbiota composition and antimicrobial antibody response in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Microorganisms*, 2019, 7(12): 636[2021-12-07]. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120636>.
- [29] HU X, ZHANG Q, HUA H, *et al*. Changes in the salivary microbiota of oral leukoplakia and oral cancer. *Oral Oncol*, 2016, 56: e6–e8.
- [30] HASHIMOTO K, SHIMIZU D, HIRABAYASHI S, *et al*. Changes in oral microbial profiles associated with oral squamous cell carcinoma vs

- leukoplakia. *J Investig Clin Dent*, 2019, 10(4): e12445[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1111/jicd.12445>.
- [31] ZHAO H, CHU M, HUANG Z, *et al*. Variations in oral microbiota associated with oral cancer. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 11773[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11779-9>.
- [32] WEN L, MU W, LU H, *et al*. *Porphyromonas gingivalis* promotes oral squamous cell carcinoma progression in an immune microenvironment. *J Dent Res*, 2020, 99(6): 666–675.
- [33] WILHARM A, TABIB Y, NASSAR M, *et al*. Mutual interplay between IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells and microbiota orchestrates oral mucosal homeostasis. *P Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(7): 2652–2661.
- [34] MENGESHA B G, CONTI H R. The role of IL-17 in protection against mucosal *Candida* infections. *J Fungi*, 2017, 3(4): 52[2021-12-07]. <https://doi.org/10.3390/jof3040052>.
- [35] RODRIGUEZ M, MARQUEZ S, DE LA ROSA J V, *et al*. Fungal pattern receptors down-regulate the inflammatory response by a cross-inhibitory mechanism independent of interleukin-10 production. *Immunology*, 2017, 150(2): 184–198.
- [36] ZIZZO G, COHEN P L. IL-17 stimulates differentiation of human anti-inflammatory macrophages and phagocytosis of apoptotic neutrophils in response to IL-10 and glucocorticoids. *Immunology*, 2013, 190(10): 5237–5246.
- [37] WANG K, MIAO T Y, LU W X, *et al*. Analysis of oral microbial community and Th17-associated cytokines in saliva of patients with oral lichen planus. *Microbiol Immunol*, 2015, 59(3): 105–113.
- [38] BHASKARAN N, COHEN S, ZHANG Y F, *et al*. TLR-2 signaling promotes IL-17A production in CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory cells during oropharyngeal candidiasis. *Pathogens*, 2015, 4(1): 90–110.
- [39] ENOMOTO A, SATO E, YASUDA T, *et al*. Intraepithelial CD8⁺ lymphocytes as a predictive diagnostic biomarker for the remission of oral lichen planus. *Hum Pathol*, 2018, 74(1): 43–53.
- [40] MOUTSOPOULOS N M, KONKEL J E. Tissue specific immunity at the oral mucosal barrier. *Trends Immunol*, 2018, 39(4): 276–287.
- [41] DIKOVA V R, PRINCIPE S, BAGAN J V. Salivary inflammatory proteins in patients with oral potentially malignant disorders. *J Clin Exp Dent*, 2019, 11(7): e659–e664.
- [42] CHATTOPADHYAY I, VERMA M, PANDA M. Role of oral microbiome signatures in diagnosis and prognosis of oral cancer. *Technol Cancer Res Treat*, 2019, 18(1): 1533033819867354[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1177/1533033819867354>.
- [43] SWIDERGALL M, FILLER S G. Oropharyngeal candidiasis: fungal invasion and epithelial cell responses. *Plos Pathogens*, 2017, 13(1): e1006056[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006056>.
- [44] DESAI J V. *Candida albicans* hyphae: from growth initiation to invasion. *J Fungi*, 2018, 4(1): 10[2021-12-07]. <https://doi.org/10.3390/jof4010010>.
- [45] HOF S, MOGAVERO S, HUBE B. Interaction of *Candida albicans* with host cells: Virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. *J Microbiol*, 2016, 54(3): 149–169.
- [46] PELLON A, NASAB S D S, MOYES D L. New insights in *Candida albicans* innate immunity at the mucosa: Toxins, epithelium, metabolism, and beyond. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10(1): 81[2021-12-07]. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00081>.
- [47] NAGLIK J R, KONIG A, HUBE B, *et al*. *Candida albicans*-epithelial interactions and induction of mucosal innate immunity. *Curr Opin Microbiol*, 2017, 40: 104–112.
- [48] HO J, YANG X X, NIKOU S A, *et al*. Candidalysin activates innate epithelial immune responses via epidermal growth factor receptor. *Nat Commun*. 2019, 10(1): 2297[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09915-2>.
- [49] DANIELSSON K, COATES P J, EBRAHIMI M, *et al*. Genes involved in epithelial differentiation and development are differentially expressed in oral and genital lichen planus epithelium compared to normal epithelium. *Acta Derm Venereol*, 2014, 94(5): 526–530.
- [50] SUN A, CHIA J S, CHIANG C P. Increased proliferative response of peripheral blood mononuclear cells and T cells to *Streptococcus mutans* and glucosyltransferase D antigens in the exacerbation stage of recurrent aphthous ulcerations. *J Formos Med Assoc*, 2002, 101(8): 560–566.
- [51] RUAN H H, LI G Y, DUAN N, *et al*. Frequencies of abnormal humoral and cellular immune component levels in peripheral blood of patients with recurrent aphthous ulceration. *J Dent Sci*, 2018, 13(2): 124–130.
- [52] KUBONIWA M, HASEGAWA Y, MAO S, *et al*. *P.gingivalis* accelerates gingival epithelial cell progression through the cell cycle. *Microbes Infect*, 2008, 10(2): 122–128.
- [53] OGRENDIK M. Oral bacteria in pancreatic cancer: Mutagenesis of the p53 tumour suppressor gene. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(9): 11835–11836.
- [54] AL-HEBSHI N N, NASHER A T, MARYOUD M Y, *et al*. Inflammatory bacteriome featuring *Fusobacterium nucleatum* and *Pseudomonas aeruginosa* identified in association with oral squamous cell carcinoma. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1834[2021-12-07]. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02079-3>.
- [55] CHENG R, LI D, SHI X K, *et al*. Reduced CX3CL1 secretion contributes to the susceptibility of oral leukoplakia-associated fibroblasts to *Candida albicans*. *Front Cell Infect Microbiol*, 2016, 6(1): 150[2021-12-07]. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00150>.

(2021-10-09收稿, 2021-12-08修回)

编辑 汤洁