

细胞自噬参与调控牙周病发病机制的研究进展

杨梦馨^{1*}, 丁佩惠², 王一玉¹, 康 森², 董 研^{1#}

¹浙江大学医学院附属第二医院口腔修复科, 浙江 杭州

²浙江大学医学院附属口腔医院, 浙江大学口腔医学院, 浙江省口腔生物医学研究重点实验室, 浙江 杭州
Email: 21818705@zju.edu.cn, #2304190@zju.edu.cn

收稿日期: 2021年1月17日; 录用日期: 2021年2月2日; 发布日期: 2021年2月23日

摘 要

牙周病原菌入侵宿主时可被细胞表面的模式识别受体识别, 并进一步引起局部组织的炎症反应, 介导牙周组织破坏并造成牙槽骨的吸收。细胞自噬作为一种广泛存在于真核细胞中的代谢机制, 对维持细胞内环境稳定和抵御病原菌入侵和感染具有重要意义, 在牙周病的发病机制中也扮演着重要角色。笔者就细胞自噬在牙周病原菌入侵、调控炎症分子机制、影响牙周软硬组织稳态等方面对其参与调控牙周炎发病机制的研究进展作一综述, 为进一步探讨细胞自噬参与调控牙周炎发生发展的研究提供指导。

关键词

细胞自噬, 牙周炎, 牙周病原菌, 炎性小体, 骨吸收

Research Progress of Autophagy in the Mechanism of Periodontal Disease

Mengxin Yang^{1*}, Peihui Ding², Yiyu Wang¹, Sen Kang², Yan Dong^{1#}

¹Department of Prosthodontics, The Second Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou Zhejiang

²The Affiliated Hospital of Stomatology, School of Stomatology, Zhejiang University School of Medicine, and Key Laboratory of Oral Biomedical Research of Zhejiang Province, Hangzhou Zhejiang
Email: 21818705@zju.edu.cn, #2304190@zju.edu.cn

Received: Jan. 17th, 2021; accepted: Feb. 2nd, 2021; published: Feb. 23rd, 2021

Abstract

Periodontal pathogens could be recognized by various pattern recognition receptors when infect-

*第一作者。

#通讯作者。

ing host cells, inducing inflammatory response and mediating tissue damage as well as alveolar bone resorption. Meanwhile, autophagy is an intracellular homeostatic process responsible for clearance of damaged organelles and intracellular pathogens, which is also closely related to the mechanism of periodontal disease. This review summarizes the research progress of autophagy involved in regulating the pathogenesis of periodontitis in terms of periodontal pathogen invasion, regulation of inflammatory response, and influence on alveolar bone resorption, in order to provide further perspective for the future researches about the involvement of autophagy in the development of periodontitis.

Keywords

Autophagy, Periodontitis, Periodontal Pathogen, Inflammasome, Bone Resorption

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

牙周病是最常见的口腔慢性感染性炎症疾病,其发病机制与牙周环境的菌群失调及诱导的宿主免疫反应激活密切相关。牙周病原菌能够粘附并内化于多种宿主细胞,其毒力因子被受体识别后可诱发一系列炎症信号,引起牙周组织炎症并最终导致牙槽骨的吸收。细胞自噬作为一种保守的降解代谢途径,对宿主抵御病原菌入侵和感染具有重要意义。近年来研究表明,牙周病原菌的入侵和炎症信号通路的活化均可以激活细胞自噬。自噬对 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)信号和炎症反应具有负向调控作用,并参与调控成骨细胞和破骨细胞的分化,影响骨组织代谢平衡,与牙周炎的发生及进展密切相关。

2. 细胞自噬信号通路

细胞自噬是一种广泛存在于真核细胞中的代谢机制,也是宿主应对外界危险信号刺激(如饥饿、细菌感染)的重要分子机制[1],对维持细胞新陈代谢和内环境稳定具有重要意义[2],并与许多炎症性疾病、神经退行性疾病及自身免疫性疾病等关系密切,如克罗恩病、系统性红斑狼疮、帕金森病和关节炎等[3][4][5]。

细胞自噬可细分为巨自噬(macroautophagy)、分子伴侣介导的自噬(chaperon-mediated autophagy)和微自噬(microautophagy)三种类型。一般我们讨论的大多是巨自噬,简称为自噬。其通路涉及多种由自噬相关基因(autophagy associated gene, *Atg*)表达的蛋白分子,主要过程可分为以下 4 个阶段: 1) 自噬前体的形成,饥饿等刺激通过抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)诱导自噬的发生, mTOR 底物复合物从细胞质转运至内质网上的某个结构域后,引起包括 VPS34、VPS15、Beclin 1、ATG14 等在内的自噬相关蛋白募集形成 III 型 PI(3)K 复合体(class III phosphatidylinositol-3-OH kinase complex),并进一步介导下游自噬相关蛋白的结合[1][2],此时胞浆内出现大量独立的双层膜结构; 2) 自噬体延伸,这一过程中伴随着两个泛素样结构的形成,一个是在 ATG7 和 ATG10 的作用下, ATG5 和 ATG12 结合并与 ATG16L1 形成 ATG5-ATG12-ATG16L1 复合体[1][3][6],另一个是磷脂酰乙醇胺(phosphoryl ethanolamine, PE)与微管相关蛋白质轻链 3 (microtubule-associated protein light chain 3, LC3)结合形成 LC3-PE 复合体并定位于不断延伸的自噬体膜上[1]; 3) 自噬体吞噬细胞内衰老或损伤的蛋白质、细胞器、入侵的病原体及部分胞浆后逐渐成熟; 4) 自噬体外膜与溶酶体膜融合,形成自噬溶酶体,胞内物质被溶酶体酸性水解酶降解后进入代谢循环[2]。

3. 细胞自噬与牙周病原菌的入侵

牙周环境中微生物的菌群失调及其诱导的宿主免疫反应激活是目前公认的牙周炎主要发病机制[7]。包括牙龈卟啉单胞菌、福赛斯坦氏菌和齿垢密螺旋体在内的红色复合体是目前熟知的牙周致病菌。其中，牙龈卟啉单胞菌具备脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、菌毛、牙龈蛋白、血凝素等在内的多种毒力因子[8]，入侵宿主细胞能力极强，能够入侵人冠状动脉内皮细胞、牙龈上皮细胞和树突状细胞等[9]。

目前已知，牙龈卟啉单胞菌的菌毛通过结合整合素蛋白 $\alpha 5 \beta 1$ 黏附于宿主细胞，并通过脂筏实现胞吞，其侵入小鼠巨噬细胞、人牙龈细胞系、人口腔上皮细胞和人冠状动脉内皮细胞均依赖于脂筏[9]。Wang 等[10]研究表明牙龈卟啉单胞菌利用脂筏入侵小鼠巨噬细胞并促进自身存活：消耗胞内胆固醇以破坏脂筏后，小鼠巨噬细胞对牙龈卟啉单胞菌的吞噬作用减弱，同时，胞内牙龈卟啉单胞菌与溶酶体的共定位增加，其存活率明显下降。此外，尽管脂筏的破坏并未影响与牙龈卟啉单胞菌相互作用的宿主受体的表达，但却显著抑制了 NF- κ B 信号通路的激活以及 IL-6、TNF- α 的分泌，其具体作用机制尚未得到进一步证实。针对其他细菌入侵的研究显示，脂筏在帮助沙门氏菌[11]等病原菌入侵宿主细胞的同时诱发细胞自噬。Amer 等[12]发现嗜肺军团菌和大肠杆菌通过脂筏入侵巨噬细胞后立即进入一个富含糖基磷脂酰肌醇和 ATG7 的膜泡中，随后在该膜泡中检测到内质网蛋白 BiP、ATG8 和单丹磺酰尸胺以及溶酶体相关膜蛋白 (lysosome-associated membrane protein, LAMP)-1 的参与，表明了自噬途径的激活。而牙龈卟啉单胞菌内化于宿主细胞后亦可进入自噬途径。Lee 等[13]采用三维透射电子显微镜观察了牙龈卟啉单胞菌入侵人牙龈上皮细胞的过程，发现其入侵细胞后定居在双层膜结构的自噬泡中并不断增殖，而当自噬活动受到抑制时，牙龈卟啉单胞菌的存活率出现了相应的下降，提示牙龈卟啉单胞菌内化于宿主细胞后可借助自噬途径逃避宿主的免疫反应，从而实现大量的复制、繁殖。

4. 细胞自噬调控炎症反应信号通路

人类多种细胞表面的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)如 TLRs 和 Nod 样受体(Nod-like receptors, NLRs)，能够识别牙周致病菌的毒力因子以引起宿主细胞炎症反应的发生并释放炎症因子，介导牙周炎症和组织破坏。其中，作为 NLRs 家族成员的炎性小体能够通过活化 caspase-1 信号通路介导白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-18 等炎症细胞因子的成熟和分泌，在牙周组织炎症的发生和发展中扮演了重要的角色，而近年来研究表明细胞自噬对于上述信号通路具有一定调控作用。

首先，细胞自噬能够直接降解包括炎性小体在内的难以水解的大分子蛋白复合物。Shi 等[14]在电镜下观察到凋亡相关斑点样蛋白(Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain, ASC)位于自噬体内，荧光共聚焦结果表明 ASC 与溶酶体蛋白 LAMP1 共定位，表明炎性小体通过自噬途径最终进入溶酶体得到降解。该过程主要通过 p62/SQSTM 1 这一调节蛋白实现。p62 在动物细胞内广泛表达，具有多个结合位点，通过 C 端 Ub 相关结构域(C-terminal Ub-associated domain, UBA)与多泛素化蛋白结合，并通过 LC3 结合域(LC3-interacting region, LIR)与自噬体膜上的 LC3 结合将目标蛋白或细胞器运送至自噬体中，待其与溶酶体融合后使内容物得到降解[15]。p62 能够与众多炎性小体的共同组分 ASC 结合，其泛素化介导的自噬途径能够负向调控炎性小体诱导的炎症反应。Liu 等[16]发现在 AIM2 炎性小体活化后，TRIM11 (tripartite motif-containing protein 11)与黑色素瘤缺乏因子 2 (absent in melanoma 2, AIM2)发生结合并使其多泛素化，进一步强化了 AIM2-p62 的结合，最终 AIM2 炎性小体进入溶酶体中降解。需要指出的是，在无炎症刺激的基础状态下仍检测到了 ASC 与 p62 的结合，表明细胞自噬同时也扮演着防止炎性小体异常激活的监测角色[17]。另一方面，细胞内损伤线粒体堆积产生的线粒体 DNA (mitochondria DNA, mtDNA) [18]和活性氧(reactive oxygen species, ROS)是激活核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白(NLR-related protein) 3 炎性小体的重要内源性分子，而自噬作为细胞清除损伤线粒体的重要

途径,间接抑制了 NLRP3 炎性小体的活化。许多敲除自噬相关基因或抑制自噬作用的研究发现: *LC3 II* 和 *Beclin 1* 的缺失造成巨噬细胞中损伤线粒体的堆积,显著强化了在 LPS 和 ATP (adenosine triphosphate) 刺激下的 caspase-1 活化以及 IL-1 β 、IL-18 的分泌[19]; *Atg7* 低表达引起的自噬缺陷同样导致了线粒体介导的 NLRP3 炎性小体活化并引起 IL-1 β 分泌增加[20]; *Beclin 1* 的敲低或自噬抑制剂能够阻断穿心莲内酯通过激活线粒体自噬对 NLRP3 炎性小体的抑制作用[21]。

其次,细胞自噬在一定程度上可调控炎症细胞因子的分泌。Harris 等[22]发现,自噬诱导剂雷帕霉素能够显著抑制 NLRP3 炎性小体的活化并促进 pro-IL-1 β 降解,并在荧光共聚焦显微镜下观察到胞质内的成熟 IL-1 β 与 LC3 共定位,而 caspase-1 则并未进入自噬体中,提示自噬体或可将 pro-IL-1 β 与 caspase-1 有效分离并对前者进行降解,使得细胞内 pro-IL-1 β 含量降低,从而抑制成熟的 IL-1 β 分泌。Zhang 等[23]在 HEK293T 细胞内的早期自噬泡中即观察到 IL-1 β ,并进一步证实成熟的 IL-1 β 可穿过自噬泡的膜,当自噬体形成时,IL-1 β 位于内膜和外膜之间,进一步证实了自噬对 IL-1 β 降解和抑制其分泌的作用。然而,有研究发现当自噬和 NLRP3 炎性小体同时被激活时,小鼠巨噬细胞分泌的 IL-1 β 和 IL-18 显著增加[24]。在持续表达成熟 IL-1 β 的上皮细胞系中,AIM2 炎性小体活化诱导的 IL-1 β 分泌需要自噬的参与[25]。针对上述细胞自噬作用于 IL-1 β 分泌的不同结果,Harris 等[17]认为自噬体或仅作为胞内暂时性储存 IL-1 β 、IL-18 等细胞因子的场所,其后续走向分泌或降解取决于细胞接受的其他信号,还需更加深入的研究。

5. 细胞自噬与牙周炎

5.1. 牙周软组织炎症

牙周炎的发生过程最先表现为牙周软组织的炎症。Blasi 等[26]在牙周炎患者身上分离得到的牙龈上皮细胞中,观察到自噬关键蛋白 LC3 与溶酶体成熟所需蛋白之一的黑素曲菌素(melanoregulin, MREG)共定位,表明炎症牙龈上皮中自噬活动的发生,而在牙周健康人群中并不存在这一现象。Stafford 等[27]首次证明牙龈卟啉单胞菌内化于口腔上皮细胞后能够通过牙龈蛋白酶降解 mTOR,从而激活细胞自噬。而在自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-Methyladenine, 3-MA)的作用下,由丁酸盐诱导的牙龈上皮细胞死亡率显著下降,则提示了自噬介导细胞凋亡的病理作用[28]。此外,牙龈卟啉单胞菌 LPS 可诱导白细胞以及人牙龈成纤维细胞产生大量的 ROS [29] [30] [31]。ROS 可活化 AMPK 抑制 mTORC1 (mTOR complex 1)并活化 ULK (Unc-51-like kinase)以激活细胞自噬的发生[23] [32] [33],并直接作用于自噬相关蛋白如 Beclin 1、ATG5-ATG12 复合体的形成[34],调控自噬膜的延伸和自噬泡的形成。Bullon 等[31]用牙龈卟啉单胞菌 LPS 感染人牙龈成纤维细胞时,发现 *Atg12* 的基因和蛋白表达以及胞内 LC3 II/LC3 I 比例均上调,但当自噬活动受到抑制后发现 LPS 刺激下的细胞凋亡率明显升高,表明了自噬对于细胞抵御感染具有一定保护作用。此外,An 等[35]用 TNF- α 刺激牙周膜干细胞发现,在炎症初期时 LC3、Beclin-1、Atg7 和 Atg12 等自噬关键蛋白表达显著上调($P < 0.05$)并抑制凋亡相关蛋白 caspase-8 的表达($P < 0.05$),由此推测自噬在炎症微环境形成初期的激活可以保护牙周膜干细胞免受凋亡。Wei 等[36]将牙周膜干细胞置于体外构建的炎症环境后,检测到自噬的激活以及碱性成纤维细胞生长因子和血管生成素的表达增加,且自噬激活的牙周膜干细胞共培养能够显著促进血管内皮细胞的血管形成能力。此外,牙龈卟啉单胞菌在入侵人冠状动脉内皮细胞后可聚集于自噬小体,并阻止溶酶体和自噬小体的融合或重新定向自噬的运输方向抑制自噬溶酶体的形成,从而有利于其在宿主细胞内的存活与增殖,逃避宿主攻击[34] [37]。

由此可见,自噬作为宿主天然免疫的一部分,在牙周组织炎症的发生中具有双向作用,一方面,自噬在炎症微环境形成早期即可激活以保护细胞免受凋亡,而另一方面,自噬的激活在一定程度上促进了病原菌在宿主细胞内的存活,并导致牙周结缔组织的病理改变使炎症进一步发展。

5.2. 牙槽骨吸收

炎症性牙槽骨吸收是牙周炎最重要的病理表现之一,与成骨细胞和破骨细胞的分化及活动密切相关。成骨细胞膜表面的 RANKL 分子可与位于破骨细胞前体细胞膜上的核因子活化受体(receptor activator of nuclear factor- κ B, RANK)结合,激活 NF- κ B、MAPK 等信号通路并诱导下游细胞因子分泌,促进破骨细胞分化、成熟[38]。另一方面,成骨细胞还可分泌骨保护素(Osteoprotegerin, OPG)竞争性结合 RANKL,抑制破骨细胞的分化和成熟。近年来,越来越多的研究表明自噬信号通路参与成骨细胞和破骨细胞的增殖、分化过程,并调控骨组织的形成和骨吸收的发生。

Nollet 等[39]在电镜下观察到成骨细胞内的双层膜自噬囊泡中含有类似于晶体的针状结构并将其释放至细胞外基质,并进一步在高分辨率透射电子显微镜下证实该结晶正是羟基磷灰石晶体,证明自噬泡可作为成骨细胞分泌羟基磷灰石的载体作用。当 *Atg5* 缺陷或自噬被抑制时,观察到成骨细胞氧化应激反应增加并分泌 RANKL 刺激破骨细胞的产生。Xu 等[40]发现大鼠模型局部位点的自噬增强有效促进了骨髓间充质干细胞的成骨作用,使种植体骨界面的新骨形成显著增加,表明了自噬刺激成骨的作用。然而有研究表明,自噬对成骨细胞的作用受到其激活程度的影响,例如,低剂量的地塞米松作用下,自噬的适当激活对成骨细胞具有保护作用[41],但高浓度的地塞米松可过度激活成骨细胞导致细胞活性下降和凋亡率增加[42]。上述研究表明,自噬通路是成骨细胞矿化过程中重要的一环,可调控成骨细胞释放羟基磷灰石晶体,促进骨组织的形成矿化,同时通过抑制 RANKL 分泌负向调控破骨细胞分化,但是作为维持细胞稳态的代谢途径,自噬的过度激活反而会对成骨细胞造成不利影响。

另一方面,自噬信号通路也参与介导破骨细胞活动而促进骨吸收。有研究表明,用 LPS 刺激 RANKL 预处理的 BMDMs (bone marrow-derived macrophages),可诱导细胞向破骨细胞分化,而 *Atg7* 基因的敲除或自噬抑制剂 3-MA 能够显著抑制上述分化效应[43] [44],从而防止骨吸收的发生。此外,牙龈卟啉单胞菌激活 TLR 信号通路亦可促进破骨细胞分化:TLR2-MyD88 通路激活将诱导破骨细胞分化[45];同时,由 TLR4 介导的 IL-1 β 大量分泌也可诱导破骨细胞活性标志物组织蛋白酶 K (cathepsin K, CatK)的表达,促进破骨细胞形成[46]。Lin 等[47]在类风湿性关节炎的破骨细胞中发现自噬通路被激活,伴有 Beclin 1 和 ATG7 表达增加,反之,过表达 Beclin 1 引起的自噬激活可促进破骨细胞生成及分化,并强化后者的骨吸收作用。Deselm 等[48]研究进一步揭示,ATG5、ATG7、ATG4B、LC3 等自噬蛋白介导破骨细胞内溶酶体膜泡与质膜的融合,导致微环境的酸化和 CatK 的释放以消化骨的有机基质。然而,Cejka 等[49]研究发现,抑制 mTOR 诱导自噬激活有效减少了小鼠关节炎模型滑膜中破骨细胞的形成,减少了局部骨吸收的发生,临床关节炎症状得到改善,组织学评估滑膜炎减少,并通过体外实验表明,mTOR 的抑制下调了 CatK、MMP-9、RANK 等与破骨细胞信号转导和骨吸收活性相关蛋白的表达,致使破骨细胞前体分化受到抑制以及破骨细胞凋亡率的上调,表明自噬对破骨细胞分化、增殖的负向调控作用。

上述研究表明,自噬作为维持细胞稳态的重要途径,对于调控骨组织新陈代谢并维持其动态平衡具有重要意义,但自噬的过度激活可导致成骨细胞凋亡和破骨细胞分化,从而使得动态平衡被破坏,引起骨组织吸收。然而,目前对于自噬调节骨组织代谢平衡的研究尚处于初级阶段,关于细胞自噬如何调控各类骨细胞内的信号转导及其在促进成骨细胞、破骨细胞的分化及成熟方面的作用尚存在争议。

6. 小结

目前,越来越多的研究表明细胞自噬参与牙周炎的发病机制,并具有保护和病理的双向作用:一方面,自噬能够抵御牙周病原菌的入侵,并通过抑制炎症信号通路避免过度的炎症反应以保护宿主;另一方面,牙龈卟啉单胞菌可利用自噬途径阻止自噬溶酶体的形成以逃避宿主攻击,从而实现在宿主细胞内的存活与增殖[4] [5]。此外,自噬的激活还参与调控成骨细胞和破骨细胞的分化及其活动,对研究牙周炎

症导致的牙槽骨吸收具有重要意义。随着自噬在牙周炎发病中作用的研究不断深入,我们对牙周炎复杂发病机制的认识也将不断拓展,同时,这也为今后牙周病及其他相关系统性疾病的研究和临床治疗提供了新的思路和靶点。

基金项目

国家自然科学基金(81870765);浙江省自然科学基金(LY18H140002)。

参考文献

- [1] Deretic, V., Saitoh, T. and Akira, S. (2013) Autophagy in Infection, Inflammation and Immunity. *Nature Reviews Immunology*, **13**, 722-737. <https://doi.org/10.1038/nri3532>
- [2] Levine, B., Mizushima, N. and Virgin, H.W. (2011) Autophagy in Immunity and Inflammation. *Nature*, **469**, 323-335. <https://doi.org/10.1038/nature09782>
- [3] Mizushima, N. and Komatsu, M. (2011) Autophagy: Renovation of Cells and Tissues. *Cell*, **147**, 728-741. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.10.026>
- [4] Jones, S.A., Mills, K.H.G. and Harris, J. (2013) Autophagy and Inflammatory Diseases. *Immunology and Cell Biology*, **91**, 250-258. <https://doi.org/10.1038/icb.2012.82>
- [5] Yuk, J.M. and Jo, E.K. (2013) Crosstalk between Autophagy and Inflammasomes. *Molecules and Cells*, **36**, 393-399. <https://doi.org/10.1007/s10059-013-0298-0>
- [6] Fujita, N., Itoh, T., Omori, H., *et al.* (2008) The Atg16L Complex Specifies the Site of LC3 Lipidation for Membrane Biogenesis in Autophagy. *Molecular Biology of the Cell*, **19**, 2092-2100. <https://doi.org/10.1091/mbc.e07-12-1257>
- [7] Hajishengallis, G. (2014) Immunomicrobial Pathogenesis of Periodontitis: Keystones, Pathobionts, and Host Response. *Trends in Immunology*, **35**, 3-11. <https://doi.org/10.1016/j.it.2013.09.001>
- [8] Holt, S.C., Kesavalu, L., Walker, S., *et al.* (1999) Virulence Factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontology* 2000, **20**, 168-238. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1999.tb00162.x>
- [9] Rodrigues, P.H., Belanger, M., Dunn, W., *et al.* (2008) *Porphyromonas gingivalis* and the Autophagic Pathway: An Innate Immune Interaction? *Frontiers in Bioscience-Landmark*, **13**, 178-187. <https://doi.org/10.2741/2668>
- [10] Wang, M. and Hajishengallis, G. (2008) Lipid Raft-Dependent Uptake, Signalling and Intracellular Fate of *Porphyromonas gingivalis* in Mouse Macrophages. *Cellular Microbiology*, **10**, 2029-2042. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2008.01185.x>
- [11] Garner, M.J., Hayward, R.D. and Koronakis, V. (2002) The Salmonella Pathogenicity Island 1 Secretion System Directs Cellular Cholesterol Redistribution during Mammalian Cell Entry and Intracellular Trafficking. *Cellular Microbiology*, **4**, 153-165. <https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2002.00181.x>
- [12] Amer, A.O., Byrne, B.G. and Swanson, M.S. (2005) Macrophages Rapidly Transfer Pathogens from Lipid Raft Vacuoles to Autophagosomes. *Autophagy*, **1**, 53-58. <https://doi.org/10.4161/auto.1.1.1589>
- [13] Lee, K., Roberts, J.S., Choi, C.H., *et al.* (2018) *Porphyromonas gingivalis* Traffics into Endoplasmic Reticulum-Rich-Autophagosomes for Successful Survival in Human Gingival Epithelial Cells. *Virulence*, **9**, 845-859. <https://doi.org/10.1080/21505594.2018.1454171>
- [14] Shi, C.S., Shenderov, K., Huang, N.N., *et al.* (2012) Activation of Autophagy by Inflammatory Signals Limits IL-1 β Production by Targeting Ubiquitinated Inflammasomes for Destruction. *Nature Immunology*, **13**, 255-263. <https://doi.org/10.1038/ni.2215>
- [15] Lin, X.L., Li, S., Zhao, Y., *et al.* (2013) Interaction Domains of p62: A Bridge between p62 and Selective Autophagy. *DNA and Cell Biology*, **32**, 220-227. <https://doi.org/10.1089/dna.2012.1915>
- [16] Liu, W.J., Ye, L., Huang, W.F., *et al.* (2016) p62 Links the Autophagy Pathway and the Ubiquitin-Proteasome System upon Ubiquitinated Protein Degradation. *Cellular & Molecular Biology Letters*, **21**, Article No. 29. <https://doi.org/10.1186/s11658-016-0031-z>
- [17] Harris, J., Lang, T., Thomas, J.P.W., *et al.* (2017) Autophagy and Inflammasomes. *Molecular Immunology*, **86**, 10-15. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2017.02.013>
- [18] Shimada, K., Crother, T.R., Karlin, J., *et al.* (2012) Oxidized Mitochondrial DNA Activates the NLRP3 Inflammasome during Apoptosis. *Immunity*, **36**, 401-414. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.01.009>
- [19] Nakahira, K., Haspel, J.A., Rathinam, V.A.K., *et al.* (2010) Autophagy Proteins Regulate Innate Immune Responses by Inhibiting the Release of Mitochondrial DNA Mediated by the NALP3 Inflammasome. *Nature Immunology*, **12**,

- 222-230. <https://doi.org/10.1038/ni.1980>
- [20] van der Burgh, R., Nijhuis, L., Pervolaraki, K., *et al.* (2014) Defects in Mitochondrial Clearance Predispose Human Monocytes to Interleukin-1 Beta Hypersecretion. *Journal of Biological Chemistry*, **289**, 5000-5012. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.536920>
 - [21] Guo, W.J., Sun, Y., Liu, W., *et al.* (2014) Small Molecule-Driven Mitophagy-Mediated NLRP3 Inflammasome Inhibition Is Responsible for the Prevention of Colitis-Associated Cancer. *Autophagy*, **10**, 972-985. <https://doi.org/10.4161/auto.28374>
 - [22] Harris, J., Hartman, M., Roche, C., *et al.* (2011) Autophagy Controls IL-1beta Secretion by Targeting Pro-IL-1beta for Degradation. *Journal of Biological Chemistry*, **286**, 9587-9597. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.202911>
 - [23] Zhang, J.W., Tripathi, D.N., Jing, J., *et al.* (2015) ATM Functions at the Peroxisome to Induce Pexophagy in Response to ROS. *Nature Cell Biology*, **17**, 1259. <https://doi.org/10.1038/ncb3230>
 - [24] Dupont, N., Jiang, S.Y., Pilli, M., *et al.* (2011) Autophagy-Based Unconventional Secretory Pathway for Extracellular Delivery of IL-1 Beta. *Embo Journal*, **30**, 4701-4711. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.398>
 - [25] Wang, L.J., Huang, H.Y., Huang, M.P., *et al.* (2014) The Microtubule-Associated Protein EB1 Links AIM2 Inflammasomes with Autophagy-Dependent Secretion. *Journal of Biological Chemistry*, **289**, 29322-29333. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.559153>
 - [26] Blasi, I., Korostoff, J., Dhingra, A., *et al.* (2016) Variants of *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharide Alter Lipidation of Autophagic Protein, Microtubule-Associated Protein 1 Light Chain 3, LC3. *Molecular Oral Microbiology*, **31**, 486-500. <https://doi.org/10.1111/omi.12141>
 - [27] Stafford, P., Higham, J., Pinnock, A., *et al.* (2013) Gingipain-Dependent Degradation of Mammalian Target of Rapamycin Pathway Proteins by the Periodontal Pathogen *Porphyromonas gingivalis* during Invasion. *Molecular Oral Microbiology*, **28**, 366-378. <https://doi.org/10.1111/omi.12030>
 - [28] Tsuda, H., Ochiai, K., Suzuki, N., *et al.* (2010) Butyrate, a Bacterial Metabolite, Induces Apoptosis and Autophagic Cell Death in Gingival Epithelial Cells. *Journal of Periodontal Research*, **45**, 626-634. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2010.01277.x>
 - [29] Sheikhi, M., Gustafsson, A. and Jarstrand, C. (2000) Cytokine, Elastase and Oxygen Radical Release by *Fusobacterium nucleatum*-Activated Leukocytes: A Possible Pathogenic Factor in Periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, **27**, 758-762. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2000.027010758.x>
 - [30] Zhu, X.Q., Lu, W., Chen, Y., *et al.* (2016) Effects of *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharide Tolerized Monocytes on Inflammatory Responses in Neutrophils. *PLoS ONE*, **11**, e0161482. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165568>
 - [31] Bullon, P., Cordero, M.D., Quiles, J.L., *et al.* (2012) Autophagy in Periodontitis Patients and Gingival Fibroblasts: Unraveling the Link between Chronic Diseases and Inflammation. *BMC Medicine*, **10**, 122. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-10-122>
 - [32] Yu, L., McPhee, C.K., Zheng, L.X., *et al.* (2010) Termination of Autophagy and Reformation of Lysosomes Regulated by mTOR. *Nature*, **465**, 942-946. <https://doi.org/10.1038/nature09076>
 - [33] Zhang, J.W., Kim, J., Alexander, A., *et al.* (2013) A Tuberos Sclerosis Complex Signalling Node at the Peroxisome Regulates mTORC1 and Autophagy in Response to ROS. *Nature Cell Biology*, **15**, 1186-1196. <https://doi.org/10.1038/ncb2822>
 - [34] Liu, C., Mo, L., Niu, Y., *et al.* (2017) The Role of Reactive Oxygen Species and Autophagy in Periodontitis and Their Potential Linkage. *Frontiers in Physiology*, **8**, 439. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00439>
 - [35] An, Y., Liu, W.J., Xue, P., *et al.* (2016) Increased Autophagy Is Required to Protect Periodontal Ligament Stem Cells from Apoptosis in Inflammatory Microenvironment. *Journal of Clinical Periodontology*, **43**, 618-625. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12549>
 - [36] Wei, W., An, Y., An, Y., *et al.* (2018) Activation of Autophagy in Periodontal Ligament Mesenchymal Stem Cells Promotes Angiogenesis in Periodontitis. *Journal of Periodontology*, **89**, 718-727. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0341>
 - [37] Belanger, M., Rodrigues, P.H., Dunn Jr., W.A., *et al.* (2006) Autophagy: A Highway for *Porphyromonas gingivalis* in Endothelial Cells. *Autophagy*, **2**, 165-170. <https://doi.org/10.4161/auto.2828>
 - [38] 沈逸, 何东仪. 调控破骨细胞分化发育的信号转导通路的研究进展[J]. 现代免疫学, 2013(4): 341-345.
 - [39] Nollet, M., Santucci-Darmanin, S., Breuil, V., *et al.* (2014) Autophagy in Osteoblasts Is Involved in Mineralization and Bone Homeostasis. *Autophagy*, **10**, 1965-1977. <https://doi.org/10.4161/auto.36182>
 - [40] Xu, R.Y., Shi, G.H., Xu, L., *et al.* (2018) Simvastatin Improves oral Implant Osseointegration via Enhanced Autophagy and Osteogenesis of BMSCs and Inhibited Osteoclast Activity. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative*

- Medicine*, **12**, 1209-1219. <https://doi.org/10.1002/term.2652>
- [41] Kenanidis, E., Potoupnis, M.E., Kakoulidis, P., *et al.* (2015) Management of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis: Clinical Data in Relation to Disease Demographics, Bone Mineral Density and Fracture Risk. *Expert Opinion on Drug Safety*, **14**, 1035-1053. <https://doi.org/10.1517/14740338.2015.1040387>
 - [42] Kang, C.R., Wei, L.M., Song, B., *et al.* (2017) Involvement of Autophagy in Tantalum Nanoparticle-Induced Osteoblast Proliferation. *International Journal of Nanomedicine*, **12**, 4323-4333. <https://doi.org/10.2147/IJN.S136281>
 - [43] Sul, O.J., Park, H.J., Son, H.J., *et al.* (2017) Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Autophagy Is Responsible for Enhanced Osteoclastogenesis. *Molecules and Cells*, **40**, 880-887.
 - [44] Park, H., Noh, A.L.S.M., Kang, J.H., *et al.* (2015) Peroxiredoxin II Negatively Regulates Lipopolysaccharide-Induced Osteoclast Formation and Bone Loss via JNK and STAT3. *Antioxidants & Redox Signaling*, **22**, 63-77. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5748>
 - [45] Zhang, P., Liu, J.Z., Xu, Q.A., *et al.* (2011) TLR2-Dependent Modulation of Osteoclastogenesis by *Porphyromonas gingivalis* through Differential Induction of NFATc1 and NF-kappa B. *Journal of Biological Chemistry*, **286**, 24159-24169. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.198085>
 - [46] Abdollahi-Roodsaz, S., Joosten, L.A.B., Koenders, M.I., *et al.* (2009) Local Interleukin-1-Driven Joint Pathology Is Dependent on Toll-Like Receptor 4 Activation. *American Journal of Pathology*, **175**, 2004-2013. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.090262>
 - [47] Lin, N.Y., Beyer, C., Giessel, A., *et al.* (2013) Autophagy Regulates TNFalpha-Mediated Joint Destruction in Experimental Arthritis. *Annals of the Rheumatic Disease*, **72**, 761-768. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-201671>
 - [48] DeSelm, C.J., Miller, B.C., Zou, W., *et al.* (2011) Autophagy Proteins Regulate the Secretory Component of Osteoclastic Bone Resorption. *Developmental Cell*, **21**, 966-974. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.08.016>
 - [49] Cejka, D., Hayer, S., Niederreiter, B., *et al.* (2010) Mammalian Target of Rapamycin Signaling Is Crucial for Joint Destruction in Experimental Arthritis and Is Activated in Osteoclasts from Patients with Rheumatoid Arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, **62**, 2294-2302. <https://doi.org/10.1002/art.27504>