

# 自噬对炎症性牙槽骨吸收作用的研究进展

连璐雅(综述), 朱海华(审校)

基金项目: 国家卫健委公益性科研专项项目资助(编号:201502002)

作者单位: 310000 杭州, 浙江大学医学院附属口腔医院, 浙江省口腔生物医学研究重点实验室, 浙江大学口腔医学院

作者简介: 连璐雅(1992-), 女, 医学硕士, 住院医师, 研究方向: 牙周炎的诊治。E-mail: 575754673@qq.com

通讯作者: 朱海华(1978-), 女, 医学博士, 副主任医师, 研究方向: 口腔常见病的预防诊治。E-mail: zhuhh403@zju.edu.cn

**[摘要]** 牙周炎是牙周致病菌引发的、以牙周支持组织(尤其是骨组织)进行吸收为临床表现的慢性炎症性疾病。近年来研究发现自噬及其相关蛋白通过参与调控细胞因子和炎性小体来影响炎症进程。同时自噬及其相关蛋白作用于骨组织细胞, 尤其是参与破骨细胞的形成、分化和功能发挥。该文从自噬与牙周炎症、骨组织细胞的相互作用关系以及相关研究进展作一综述, 旨在阐述自噬在牙周炎导致的骨吸收进程中的作用, 为牙周炎的临床治疗提供新的靶点。

**[关键词]** 自噬; 牙槽骨吸收; 破骨细胞; 牙周炎

**[中图分类号]** R 781 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2020)08-0833-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2020.08.25

**Research progress of autophagy on inflammatory-induced alveolar bone loss** LIAN Lu-ya, ZHU Hai-hua. *The Affiliated Stomatology Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Key Laboratory of Oral Biomedical Research of Zhejiang Province, Zhejiang University School of Stomatology, Hangzhou 310000, China*

**[Abstract]** Periodontitis is a chronic inflammatory disease induced by periodontal pathogens and manifested by the progressive loss of periodontal supporting tissues, especially bone tissue. Recently, researches have revealed that autophagy and its associated proteins take effects on inflammatory process by mutual regulation with cytokines and inflammasomes. Meanwhile, autophagy and its related proteins act on bone tissue cells, especially participate in the genesis, differentiation and function of osteoclasts. This review focuses on how autophagy interacts with periodontitis and bone cells and its related research progress, aiming to elaborate the role of autophagy in periodontitis-induced bone loss to provide a new target for clinical treatment of periodontitis.

**[Key words]** Autophagy; Alveolar bone loss; Osteoclast; Periodontitis

牙周炎是由牙周致病菌引发、多因素联合作用导致的牙周支持组织的炎症性疾病, 主要表现为牙周支持组织(包括牙龈、牙周膜和牙槽骨)的进行性丧失, 其中牙槽骨吸收是导致牙齿松动的主要原因, 也是影响牙周炎预后的重要因素。目前牙周炎的治疗致力于控制菌斑、消除炎症, 从而达到牙周支持组织再生的目的, 其中牙槽骨的再生成为治疗的重点和难点。近年来, 有研究<sup>[1]</sup>表明自噬对炎症具有双向调节功能: 一方面, 自噬可通过降解炎性小体、下调炎症因子来消除炎症反应; 另一方面, 自噬可通过产生大量炎症因子和炎性小体来促进炎症过程。同时有研究<sup>[2]</sup>提出, 自噬可能影响破骨细胞、成骨细胞及骨细胞的形成和功能发挥, 从而影响骨形成和

骨吸收。因此, 自噬可能在牙周炎进程以及相关的牙槽骨吸收中发挥着重要作用。

## 1 自噬机制

自噬是所有真核细胞中维持自稳的高度保守的机制, 它在应激状态下通过溶酶体途径清除细胞内受损或衰老的细胞器等物质, 从而影响细胞生存、代谢及功能发挥<sup>[3]</sup>, 它还能够诱发多种细胞死亡即自噬性细胞死亡<sup>[4]</sup>。其还能对心功能不全<sup>[5]</sup>、克罗恩病<sup>[6]</sup>、阿尔兹海默病<sup>[7]</sup>、牙周炎<sup>[1]</sup>等疾病的发生发展有重要影响。自噬在细胞中长期处于低水平稳定状态, 在应激状态下被大量激活, 其活化过程涉及Atg5、Atg4、Atg3、Atg7、Beclin-1、Atg16L1等自噬相关蛋白。自噬进程包含下列5个过程: 初始化、单层膜

结构形成、膜延长扩大融合、膜融合成为双层膜(自噬体)并可与溶酶体膜融合、自噬体内膜降解。活化初期自噬相关蛋白形成 unc-51 样激酶 1 (unc-51-like kinase 1, ULK1) 复合物 (ULK1/2-Atg13-FIP200)<sup>[8]</sup> 引发自噬,而后两种泛素样蛋白偶合物 Atg12-Atg5 和微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3) 形成<sup>[9]</sup>,前者与 Atg16L1 结合形成自噬前体;后者经 Atg4 剪切后连接磷脂酰乙醇胺,从 LC3 I 变为脂溶 LC3 II 与自噬体膜连接,分布于自噬体内外表面。自噬体内膜结构在自噬溶酶体形成过程中降解,LC3 II 则被保留并在调控自噬方面发挥作用,因此 LC3 II 常被视为细胞自噬活化的标志<sup>[10]</sup>。

## 2 自噬与炎症的双向调节

近年来,越来越多研究表明自噬对炎症具有双向调节功能。一方面,自噬可通过降解炎性小体、下调炎症因子来消除炎症反应;另一方面,自噬可通过产生大量炎症因子和炎性小体来促进炎症过程。以核苷酸结合寡聚化结构域 (nucleotide binding oligomerization domain, NOD) 样受体家族 3 (NOD-like receptors, NLRP-3) 炎性小体为例,Chang 等<sup>[11]</sup>用白藜芦醇诱导自噬过程活化后,NLRP-3 的活化被抑制,白细胞介素 1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 分泌降低;而自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤 (3-methyladenine, 3-MA) 可逆转该过程,提示自噬负向调节炎性小体及其下游因子。同时有研究<sup>[12]</sup>证明,单核细胞过度分泌 IL-1 $\beta$ ,协同线粒体稳定性下降,可使线粒体内容物释放到细胞基质中,从而导致自噬体降解。可见自噬可负向调控炎症反应,同时炎症反应亦可抑制自噬过程。牙周炎是细菌引发的炎症性反应,其与自噬的直接研究较少<sup>[1]</sup>,而自噬与牙周炎高度相关的炎症性肠疾病 (inflammatory bowel disease, IBD) 的研究已逐渐成熟<sup>[13]</sup>。有全基因组相关研究<sup>[14]</sup>分析得出,Atg16L1 和免疫相关鸟苷三磷酸基因变异是 IBD 的风险因素,其变异后的主要作用表现为减弱自噬的功能。Bullon 等<sup>[15]</sup>提取牙周炎外周血单核细胞检测自噬相关基因 Atg12 和 LC3 的表达,发现其表达较牙周健康组明显上调。另外,在牙龈成纤维细胞中,牙龈卟啉单胞菌产生的内毒素可通过活性氧诱发自噬,使 Atg12、LC3 表达显著增加。然而,使用自噬抑制剂处理牙龈成纤维细胞后,细胞凋亡增加导致细胞间活性氧的累积,进而激活 NLRP-3 炎症小体<sup>[16]</sup>。从而提示我们内毒素引起的牙龈成纤维细胞自噬水平增加可降低细胞凋亡从而保护机体稳态。以上研

究表明自噬与牙周炎之间可能存在通过炎性小体或细胞因子进行复杂的相互调控途径。

## 3 自噬影响骨组织细胞的形成、分化功能

破骨细胞、成骨细胞和骨细胞正常发挥功能的情况下,机体骨吸收和骨形成处于动态平衡中,使机体维持正常的骨量、骨弹性和骨硬度,骨代谢失衡可引发牙周炎、骨质疏松等各种骨代谢性疾病<sup>[17,18]</sup>。当牙槽骨中破骨细胞引起的骨吸收作用强于成骨细胞和骨细胞引导的成骨作用,则破骨细胞分泌的酸性物质和多种功能蛋白酶将分解吸收矿化的骨基质<sup>[19]</sup>,在临床上表现为牙槽骨吸收。研究表明磷酸腺苷蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 的雷帕霉素靶体 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路 (AMPK/mTOR 信号通路) 参与维持骨代谢的稳态,如 mTOR 抑制剂雷帕霉素 (rapamycin) 可抑制破骨细胞的骨吸收活性<sup>[2]</sup>,二甲双胍 (metformin) 可通过激活 AMPK,增强成骨细胞矿化作用并阻止破骨细胞分化成熟<sup>[20]</sup>。而自噬过程也可通过 AMPK/mTOR 信号通路进行调节,如雷帕霉素可以通过抑制 mTOR-ULK1 通路来上调自噬作用<sup>[21]</sup>,AMPK 可通过 mTOR-TSC2 负向调控自噬,亦可通过磷酸化 BECN1 来正向调控自噬<sup>[22]</sup>。因此,自噬可能通过 AMPK/mTOR 信号通路参与牙槽骨的改建。破骨细胞来源于骨髓干细胞的分化或者单核前体细胞的融合,是分化终末期的多核巨细胞,兼有巨噬细胞的多项生物学功能。破骨细胞兼具骨吸收活性、调节钙磷代谢和参与免疫应答等作用<sup>[15]</sup>。破骨细胞接触骨面时极化,胞膜朝骨面突起而形成皱褶缘,既而肌动蛋白环封闭破骨细胞与骨面的外围接触点,溶酶体与皱褶缘相互融合并同时分泌酸和蛋白酶,使得骨基质去矿化并降解<sup>[23]</sup>。DeSelm 等<sup>[2]</sup>建立溶酶体中特异性敲除 Atg5 和 Atg7 的小鼠模型,即 Atg5<sup>flox/flox</sup>-LyzM-Cre + 和 Atg7<sup>flox/flox</sup>-LyzM-Cre +,研究结果发现 Atg5 不影响破骨细胞分化,但会抑制皱褶缘形成。Atg5 基因编码 Atg5 蛋白,后者经泛素化作用形成蛋白复合物 Atg12 参与自噬体膜的延展和伸长,进而激活自噬作用<sup>[24]</sup>。同时,在肌动蛋白环围绕区域和皱褶缘内,LC3 的数量减少、骨陷窝变浅。此外,Atg5 或 Atg7 基因缺陷都可抑制 LC3 I 转化为 LC3 II,并使破骨细胞介导的骨吸收能力下降。该发现说明在形成破骨细胞皱褶缘、维持破骨细胞分泌活性和促进骨吸收活动中都需要自噬相关蛋白的参与,提示自噬促进破骨细胞的形成和骨吸收活动。已证明破骨细胞分化过程需要巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony-stimulating

factor, M-SCF) 和 NF- $\kappa$ B 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand, RANKL), 前者对破骨细胞的存活和增殖至关重要, 后者影响破骨细胞形成<sup>[22]</sup>, 并且破骨细胞分化过程中会表达抗酒石酸酸性磷酸酶 (tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)。M-SCF、RANKL 和 TRAP 常被作为破骨细胞成熟分化的标志<sup>[25]</sup>。有研究<sup>[26]</sup>利用 RANKL 诱导 RAW264.7 细胞分化为成熟的破骨细胞, 观察分化进程中细胞自噬水平的变化, 发现分化过程中自噬相关蛋白 LC3 表达增多, 自噬水平升高, 提示自噬参与 RANKL 介导的破骨细胞的分化。而自噬抑制剂 3-MA 可显著阻止破骨细胞的分化成熟, 这表明自噬在此过程中重要的功能性作用。由于抑制剂可能存在的非特异性, 特异性的敲除自噬相关基因如 BECN1、Atg5 等可以提供更明确的证据。骨组织细胞包括破骨细胞、成骨细胞和骨细胞等。成骨细胞可以产生并矿化细胞外基质, 其功能失调可导致骨质疏松, 这也是牙种植体发生骨结合不佳的主要原因。骨细胞由成骨细胞分化成熟、嵌入并包埋在骨基质中形成, 功能主要有调节骨改建及维持骨组织钙磷平衡等<sup>[27]</sup>。自噬与成骨细胞的研究不如破骨细胞成熟。骨细胞经常处于低氧、低营养的环境中, 有观点认为骨细胞通过激活自噬以抵抗活性氧升高的压力<sup>[28]</sup>。有实验<sup>[29]</sup>通过测定小鼠骨细胞和成骨细胞表面 LC3 的表达, 发现前者明显高于后者, 证明调节自噬流可使骨细胞快速应对环境变化。同时自噬水平与增龄性的骨量下降呈正相关<sup>[30]</sup>。此现象可能源于强酸性的自噬体内环境, 自噬流释放至骨组织后, 其内容物释放从而水解骨组织基质蛋白, 使骨组织去矿化, 长此以往而导致局部骨强度下降, 乃至全身骨量流失<sup>[31]</sup>。以上研究提示自噬对于成骨细胞和骨细胞的成骨作用呈双向调节。一方面, 自噬活化可以促进成骨细胞分化, 分泌骨基质, 并促进调节骨改建; 另一方面, 过度或长期的自噬活性可造成骨量流失及骨质强度弱化。

#### 4 结语

综上所述, 牙周炎是多因素导致的炎症性疾病, 是造成牙槽骨吸收、牙松动缺失的主要原因。目前自噬与牙周炎、牙槽骨吸收的直接研究较少, 其在牙槽骨吸收进程中的作用机制仍不明了。目前研究显示, 自噬一方面促进破骨细胞的形成、分化, 从而促进骨吸收活动, 另一方面自噬促进成骨细胞分化、分泌骨基质和调节骨改建; 并且过度或长期的自噬活性可造成骨量流失及骨质强度的弱化。可见自噬与

骨组织细胞间的作用通过除炎性小体、细胞因子等外的第三方通路实现。相信随着对自噬的研究更加深入, 如何调节自噬活化水平, 使骨吸收与牙周炎症维持平衡状态可能成为治疗牙周炎、促进牙槽骨再生的新靶点。

#### 参考文献

- Jiang M, Li Z, Zhu G. The role of autophagy in the pathogenesis of periodontal disease[J]. *Oral Dis*, 2020, 26(2): 259–269.
- DeSelm CJ, Miller BC, Zou W, et al. Autophagy proteins regulate the secretory component of osteoclastic bone resorption[J]. *Dev Cell*, 2011, 21(5): 966–974.
- Lim YM, Lim H, Hur KY, et al. Systemic autophagy insufficiency compromises adaptation to metabolic stress and facilitates progression from obesity to diabetes[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4934.
- 桂裕昌, 许建文. 脊髓损伤治疗干预对细胞自噬及凋亡影响的相关研究进展[J]. *中国临床新医学*, 2017, 10(2): 183–186.
- Wang F, Jia J, Rodrigues B. Autophagy, metabolic disease, and pathogenesis of heart dysfunction[J]. *Can J Cardiol*, 2017, 33(7): 850–859.
- Iida T, Onodera K, Nakase H. Role of autophagy in the pathogenesis of inflammatory bowel disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(11): 1944–1953.
- Kizilarslanoglu MC, Ülger Z. Role of autophagy in the pathogenesis of Alzheimer disease[J]. *Turk J Med Sci*, 2015, 45(5): 998–1003.
- Fujioka Y, Alam JM, Noshiro D, et al. Phase separation organizes the site of autophagosome formation[J]. *Nature*, 2020, 578(7794): 301–305.
- Kraft C, Martens S. Mechanisms and regulation of autophagosome formation[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2012, 24(4): 496–501.
- Bansal M, Moharir SC, Swarup G. Autophagy receptor optineurin promotes autophagosome formation by potentiating LC3-II production and phagophore maturation[J]. *Commun Integr Biol*, 2018, 11(2): 1–4.
- Chang YP, Ka SM, Hsu WH, et al. Resveratrol inhibits NLRP3 inflammasome activation by preserving mitochondrial integrity and augmenting autophagy[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(7): 1567–1579.
- van der Burgh R, Nijhuis L, Pervolaraki K, et al. Defects in mitochondrial clearance predispose human monocytes to interleukin-1 $\beta$  hypersecretion[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(8): 5000–5012.
- Schmidt J, Weigert M, Leuschner C, et al. Active matrix metalloproteinase-8 and periodontal bacteria—interlink between periodontitis and inflammatory bowel disease? [J]. *J Periodontol*, 2018, 89(6): 699–707.
- Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls[J]. *Nature*, 2007, 447(7145): 661–678.
- Bullon P, Cordero MD, Quiles JL, et al. Autophagy in periodontitis patients and gingival fibroblasts: unraveling the link between chronic diseases and inflammation[J]. *BMC Med*, 2012, 10: 122.
- Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion: molecular

mechanisms and biological functions of autophagy[J]. *Dev Cell*, 2004, 6(4): 463-477.

17 Montaner Ramón A. Risk factors of bone mineral metabolic disorders [J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2020, 25(1): 101068.

18 Horvai AE, Boyce BF. Metabolic bone diseases[J]. *Semin Diagn Pathol*, 2011, 28(1): 13-25.

19 Gonciulea A, de Beur SJ. The dynamic skeleton[J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2015, 16(2): 79-91.

20 Jiating L, Buyun J, Yinchang Z. Role of metformin on osteoblast differentiation in type 2 diabetes[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 9203934.

21 Wu L, Feng Z, Cui S, et al. Rapamycin upregulates autophagy by inhibiting the mTOR-ULK1 pathway, resulting in reduced podocyte injury[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63799.

22 Yang Z, Gao X, Zhou M, et al. Effect of metformin on human periodontal ligament stem cells cultured with polydopamine-templated hydroxyapatite[J]. *Eur J Oral Sci*, 2019, 127(3): 210-221.

23 Gelman A, Elazar Z. Autophagic factors cut to the bone[J]. *Dev Cell*, 2011, 21(5): 808-810.

24 康一坤,董力,高天博,等. 自噬与结直肠癌相关性的研究进展[J]. *中国临床新医学*, 2018, 11(1): 86-90.

25 Suda T, Takahashi N, Udagawa N, et al. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necro-

sis factor receptor and ligand families[J]. *Endocr Rev*, 1999, 20(3): 345-357.

26 Ke D, Ji L, Wang Y, et al. JNK1 regulates RANKL-induced osteoclastogenesis via activation of a novel Bcl-2-Becn1-autophagy pathway[J]. *FASEB J*, 2019, 33(10): 11082-11095.

27 Kikuta J, Ishii M. Bone imaging: osteoclast and osteoblast dynamics [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1763: 1-9.

28 Luo D, Ren H, Li T, et al. Rapamycin reduces severity of senile osteoporosis by activating osteocyte autophagy[J]. *Osteoporos Int*, 2016, 27(3): 1093-1101.

29 Almeida M, O'Brien CA. Basic biology of skeletal aging: role of stress response pathways[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2013, 68(10): 1197-1208.

30 Onal M, Piemontese M, Xiong J, et al. Suppression of autophagy in osteocytes mimics skeletal aging [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(24): 17432-17440.

31 Yao W, Dai W, Jiang JX, et al. Glucocorticoids and osteocyte autophagy[J]. *Bone*, 2013, 54(2): 279-284.

[收稿日期 2020-03-18][本文编辑 韦颖 韦所芬]

本文引用格式  
 连璐雅,朱海华. 自噬对炎症性牙槽骨吸收作用的研究进展[J]. *中国临床新医学*, 2020, 13(8): 833-836.

新进展综述

# 关注乳腺癌伴随疾病全方位管理之非酒精性脂肪性肝病的管理

田申, 伍娟(综述), 孔令泉, 吴凯南(审校)

作者单位: 400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院内分泌乳腺外科  
 作者简介: 田申(1995-),男,医学硕士,住院医师,研究方向:乳腺癌的临床研究。E-mail:tianshen\_324@163.com  
 通讯作者: 孔令泉(1973-),男,医学博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:乳腺肿瘤内分泌代谢病学和乳腺肿瘤伴随疾病学研究。  
 E-mail:huihuikp@163.com

**[摘要]** 非酒精性脂肪性肝病在乳腺癌患者化疗及内分泌治疗期间有较高的发生率,它是患者肝功能损伤或肝酶异常的常见原因,并影响乳腺癌患者的治疗和预后,但其防治尚未引起足够的重视。该文将系统阐述乳腺癌患者辅助治疗期间非酒精性脂肪性肝病的管理与防治,以提高对其认识,并进一步改善乳腺癌患者的生存质量和预后。

**[关键词]** 乳腺癌; 乳腺癌伴随疾病; 非酒精性脂肪肝; 乳腺肿瘤肝病学; 代谢相关脂肪性肝病

**[中图分类号]** R 736; R 657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2020)08-0836-05  
 doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2020.08.26

**Strengthening the comprehensive management of concomitant diseases of breast cancer: non-alcoholic fatty liver disease** TIAN Shen, WU Juan, KONG Ling-quan, et al. Department of Endocrine and Breast Surgery, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

**[Abstract]** Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has a high incidence in breast cancer patients during