

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002500

“Sirt1-自噬”在低氧诱导小鼠成牙骨质细胞凋亡中的作用

谭 玺, 罗 虹, 武红彦, 黄 兰

(重庆医科大学附属口腔医院、口腔疾病与生物医学重庆市重点实验室、
重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室, 重庆 401147)

【摘要】目的:初步研究“Sirt1-自噬”在低氧诱导小鼠成牙骨质细胞 OCCM-30 凋亡中的作用。**方法:**体外培养小鼠成牙骨质细胞,随机分为对照组、低氧组、低氧+Sirt1 激活剂白藜芦醇组、低氧+自噬抑制剂 3-MA 组、低氧+白藜芦醇+Sirt1 抑制剂 ex527 组、低氧+白藜芦醇+3-MA 组,MDG 染色观察自噬溶酶体变化;LC3 II 免疫荧光检测自噬体变化;透射电镜观察自噬体;Western blot 检测 Sirt1、LC3 II、p62 等蛋白表达;流式细胞仪检测细胞凋亡情况;不同组间结果数据采用单因素方差分析,组间采用 LSD-*t* 分析。**结果:**低氧组较对照组自噬溶酶体含量($P=0.000$)及自噬体数量($P=0.000$)明显增加,LC3 II 蛋白表达明显增加($P=0.001$),p62 蛋白表达明显减少($P=0.000$),细胞凋亡率增加($P=0.000$);低氧+白藜芦醇组较低氧组自噬溶酶体($P=0.019$)及自噬体数量($P=0.000$)、LC3 II 蛋白表达($P=0.049$)、Sirt1 蛋白表达($P=0.000$)明显增加,p62 蛋白表达明显减少($P=0.000$),细胞凋亡率减少($P=0.021$);低氧+白藜芦醇+ex527 组较低氧+白藜芦醇组自噬溶酶体($P=0.000$)及自噬体数量($P=0.000$)、LC3 II 蛋白表达($P=0.000$)、Sirt1 蛋白表达($P=0.000$)明显减少,p62 蛋白表达明显增加($P=0.000$),细胞凋亡率增加($P=0.000$);低氧+白藜芦醇+3-MA 组较低氧+白藜芦醇组自噬溶酶体($P=0.000$)及自噬体数量($P=0.000$)、LC3 II 蛋白表达明显减少($P=0.000$),p62 蛋白表达明显增加($P=0.000$),细胞凋亡率增加($P=0.000$),Sirt1 蛋白表达减少($P=0.146$),差异无统计学意义。**结论:**自噬相关分子可能是低氧环境下 Sirt1 的下游作用分子,自噬在低氧诱导小鼠成牙骨质细胞(OCCM-30)凋亡中起保护作用。

【关键词】成牙骨质细胞;Sirt1;自噬;低氧;凋亡**【中图分类号】**R783.3**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2020-01-20Role of “Sirt1-autophagy” on hypoxia-induced apoptosis
in mice cementoblasts

Tan Xi, Luo Hong, Wu Hongyan, Huang Lan

(Stomatological Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing Key Laboratory of Oral Diseases and
Biomedical Sciences, Chongqing Municipal Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Higher Education)

【Abstract】Objective: To investigate the role of “Sirt1-autophagy” on the hypoxia-induced apoptosis in OCCM-30 cementoblasts of mouse. **Methods:** OCCM-30 cells were cultured *in vitro* and were randomly divided into the control group, the hypoxia group, the hypoxia + resveratrol group, the hypoxia + 3-MA group, the hypoxia + resveratrol + ex527 group and the hypoxia + resveratrol + 3-MA group. Changes of autophagy lysosomes in each group were observed by MDG staining and changes of autophagosome light chain II (LC3 II) were detected by immunofluorescence assay. The expression of Sirt1, LC3 II and p62 proteins was detected by Western blot. Cell apoptosis was detected by flow cytometry. Results of different groups were analyzed by one-way ANOVA and different groups were analyzed by LSD-*t*. **Results:** Compared with the control group, the content of autophagy lysosomes ($P=0.000$) and the number of autophagosomes ($P=0.000$) in the hypoxia group were significantly increased, the expression of LC3 II ($P=0.001$) protein was significantly increased, the expression of p62 protein was significantly decreased ($P=0.000$), and the apoptosis rate was increased ($P=0.000$). Compared with the hypoxia group, the number of autophagy lysosomes ($P=0.019$) and autophagosomes ($P=0.000$), and the expression of LC3 II protein ($P=0.000$) and Sirt1 protein ($P=0.049$, $P=0.000$) in the hypoxia + resveratrol group were significantly increased, the expression of p62 protein ($P=0.000$) was significantly decreased, and the apoptosis rate was decreased ($P=0.021$). Compared with the hypoxia + resveratrol group, the number of autophagy lysosomes ($P=0.000$) and autophagosomes ($P=0.000$), and the expression of LC3 II ($P=0.000$) and Sirt1 ($P=0.000$) in the hypoxia + resveratrol + ex527 group were significantly decreased, the expression of p62 protein ($P=0.000$)

作者介绍: 谭 玺, Email: tanxiq@163.com,

研究方向: 口腔正畸与牙根吸收。

通信作者: 黄 兰, Email: lanhuang@hospital.cqmu.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(编号:81300914);
2016 年重庆高校创新团队建设计划资助项目(编号:
CXTDG201602006); 重庆市高校市级口腔生物医学工程重
点实验室资助项目。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200519.1532.004.html>

(2020-05-20)

was significantly increased, and the apoptosis rate was increased ($P=0.000$). Compared with the hypoxia + resveratrol group, the number of autophagy lysosomes ($P=0.000$) and autophagosomes ($P=0.000$), and the expression of LC3 II ($P=0.000$) protein expression in the hypoxia + resveratrol + 3-MA group were significantly decreased, the expression of p62 protein ($P=0.000$) was increased, the apoptosis rate was increased ($P=0.000$), and the expression of Sirt1 protein ($P=0.146$) was decreased, with no statistically significant difference. **Conclusion:** Autophagy-related molecules may be downstream acting molecules of Sirt1 in the hypoxic environment and autophagy plays a protective role in hypoxia-induced apoptosis of OCCM-30.

[Key words] cementoblast; Sirt1; autophagy; hypoxia; apoptosis

牙根吸收是正畸过程的常见并发症。在牙移动过程中,压力侧牙根周围的牙周膜血管在受力时对组织的血液灌注会降低,随之产生局部环境低氧^[1]。近年文献报道,正畸作用力下牙周环境氧分压下降导致成牙骨质细胞凋亡增加也可能是牙根吸收破坏的机制^[2-3]。低氧环境下,引起细胞凋亡可能有多种原因,如过度氧化应激、线粒体功能缺陷和自噬等^[4-6]。

自噬是细胞内自身物质在溶酶体作用下自我消化的过程,是一种存在于几乎所有真核细胞中的现象^[7]。在低氧、氧化应激等情况下,自噬便被激活。事实上,能诱导细胞自噬的应激因素也是细胞凋亡的可能原因。自噬与凋亡可以相互促进,也可以相互拮抗^[8-9];可以同时发生,也可以先后发生^[10-11]。有研究表明,低氧环境下自噬参与调控骨细胞、成骨细胞及破骨细胞的凋亡,在骨代谢平衡中起重要作用^[12-13]。Sirt1 诱导的自噬增强对氟诱导的成骨样细胞凋亡有保护作用^[14]。自噬是否可以抑制低氧环境下成牙骨质细胞凋亡目前尚不明确。本研究的目的在于模拟正畸加力时牙周局部低氧环境,初步研究“Sirt1-自噬”在低氧诱导小鼠成牙骨质细胞 OCCM-30 凋亡中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

永生化成牙骨质细胞 OCCM-30 (四川大学口腔医学院白丁教授惠赠);DMEM 培养基及新生小牛血清(Gibco,美国);Sirt1 激活剂白藜芦醇、Sirt1 抑制剂 ex527、自噬抑制剂 3-MA (北京索莱宝科技有限公司,中国);MDC 试剂盒(南京建成生物工程研究所,中国);RIPA 裂解液(碧云天生物技术有限公司,上海);Triton X-100(Sigma,美国); β -actin 抗体、Sirt1 抗体、LC3 II 抗体、p62 抗体(Cell Signaling Technology,美国)。

1.2 主要方法

1.2.1 细胞培养与分组 成牙骨质细胞以 2×10^5 个/皿的密度接种于直径 10 cm 的无菌培养皿中,置入 CO_2 培养箱(37°C ,

$5\% \text{CO}_2$, 95% 空气)中,低氧条件组均置于德国三气低氧培养箱(37°C , $1\% \text{O}_2$, $5\% \text{CO}_2$, $94\% \text{N}_2$) 24 h 后更换培养液。取处于指数生长期的细胞接种于 6 孔板,并随机分为对照组、低氧组、低氧+白藜芦醇组($200 \mu\text{mol/L}$ 白藜芦醇处理 12 h)、低氧+3-MA 组($40 \mu\text{mol/L}$ 3-MA 处理 12 h)、低氧+白藜芦醇+ex527 组($15 \mu\text{mol/L}$ ex-527 预处理 12 h 后给予 $200 \mu\text{mol/L}$ 白藜芦醇处理 12 h)、低氧+白藜芦醇+3-MA 组($40 \mu\text{mol/L}$ 3-MA 预处理 12 h 后给予 $200 \mu\text{mol/L}$ 白藜芦醇处理 12 h)。

1.2.2 透射电镜观察自噬体 将各组细胞用 25 g/L 戊二醛固定后, 10 g/L 锇酸固定,脱水、浸透、包埋后切片,切片厚度 50 nm ,切片用醋酸铀溶液染 20 min ,铅染液处理 $5 \sim 6 \text{ min}$,用透射电子显微镜(JEM-1400plus, JEOL, Japan)对标本进行观察。

1.2.3 MDC 染色 配制染色工作液:以 $1 \times \text{Wash Buffer}$:MDC 染色体积比为 $9:1$ 稀释染色液至工作浓度,配制 MDC 染色工作液,轻轻混匀。将各组细胞弃培养液,加入 $300 \mu\text{L}$ $1 \times \text{Wash Buffer}$ 洗 2 次,每孔加入 $100 \mu\text{L}$ MDC 染色工作液,室温避光染色 $15 \sim 45 \text{ min}$ 后,弃染色液,以 $1 \times \text{Wash Buffer}$ $300 \mu\text{L}$ 洗 3 次,再以 $100 \mu\text{L}$ Collection Buffer 覆盖细胞爬片,紫外激发光源下荧光显微镜观察并拍照,Image-Pro Plus 分析图片。

1.2.4 细胞免疫荧光法检测 LC3 II 将处理好的接种于载玻片的各组细胞吸弃培养基,PBS 洗涤后, 4% 多聚甲醛固定。洗涤后加入 0.5% Triton X-100 孵育 10 min 。洗涤后用 5% BSA 封闭 1 h ,加入 LC3 抗体 4°C 孵育过夜。洗涤后加入荧光二抗,室温避光孵育 1 h ,洗涤,DAPI 核染 15 min ,洗涤后封片,荧光显微镜下观察并拍照,Image-Pro Plus 分析图片。

1.2.5 Western blot 检测 Sirt1、LC3 II 及 p62 抗体蛋白的表达 将各组细胞吸去培养液,预冷 PBS 洗涤,加 RIPA 裂解液,收集细胞裂解液后,离心取上清,加 $4 \times \text{Loading Buffer}$,制作蛋白样品,SDS-PAGE 电泳,转至 PVDF 膜, 5% 牛奶封闭,一抗孵育过夜,洗涤后孵育二抗,显影。得到的蛋白条带利用 Image-Pro Plus 分析条带灰度值。

1.2.6 Annexin V/PI 双染色法检测细胞凋亡 细胞处理后,胰酶消化,PBS 清洗 3 次,加入 $400 \mu\text{L}$ PBS 将细胞重悬于 EP 管,采用 FITC-Annexin V/PI 双染色法,加入 $5 \mu\text{L}$ FITC-Annexin V 于 EP 管中混匀,避光,室温孵育 15 min ;上机前 5 min 再加入 $5 \mu\text{L}$ PI 染色混匀,上机观察。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析。计量数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。不同组间采用单因素方差分析, 组间采用 LSD-*t* 法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 透射电镜观察低氧环境下 OCCM-30 细胞内自噬体数量变化

采用透射电镜可观察到自噬体为双层膜包裹, 含未消化胞质成分或细胞器结构。低氧组和低氧+白藜芦醇组可见 OCCM-30 细胞中自噬体产生, 其余组并未观察到明显自噬体结构(图 1)。

2.2 MDC 染色检测低氧环境下 OCCM-30 细胞内自噬溶酶体变化

低氧环境下成牙骨质细胞自噬增强, 低氧组较对照组自噬溶酶体含量明显增加($P=0.000$); 而自噬抑制剂 3-MA 可抑制自噬增强, 可见低氧+3-MA 组较低氧组的自噬溶酶体含量明显减少($P=0.000$); 进而向低氧组添加 Sirt1 激活剂白藜芦醇激活自噬, 可见低氧+白藜芦醇组较低氧组自噬溶酶体含量明显增加($P=0.019$); 此时添加 Sirt1 抑制剂 ex527 发现自噬减少, 即低氧+白藜芦醇+ex527 组较低氧+白藜芦醇

组的自噬溶酶体含量明显减少($P=0.000$); 而同时该作用能被自噬抑制剂 3-MA 抑制, 低氧+白藜芦醇+3-MA 组较低氧+白藜芦醇组的自噬溶酶体含量明显减少($P=0.000$)。如图 2 和表 1 所示。

表 1 MDC 染色检测不同处理因素对 OCCM-30

细胞自噬溶酶体数量的影响 ($n=5; \bar{x} \pm s$)

组别	平均光密度值
对照组	0.018 $\pm$ 0.001 ^a
低氧组	0.032 $\pm$ 0.003
低氧+3-MA 组	0.019 $\pm$ 0.003 ^a
低氧+白藜芦醇组	0.036 $\pm$ 0.003 ^a
低氧+白藜芦醇+ex527 组	0.020 $\pm$ 0.002 ^b
低氧+白藜芦醇+3-MA 组	0.025 $\pm$ 0.005 ^b
<i>F</i> 值	32.936
<i>P</i> 值	0.000

注: a, 与低氧组比较, $P<0.05$; b: 与低氧+白藜芦醇组比较, $P<0.05$

2.3 LC3 II 免疫荧光标记检测低氧环境下 OCCM-30 细胞内自噬体变化

LC3 II 荧光亮点反映自噬体变化, 荧光亮点/细胞数增加代表自噬增强, 减少则代表自噬抑制。低氧组较对照组荧光亮点/细胞数明显增加($P=0.000$); 低氧+3-MA 组较低氧组荧光亮点/细胞数明显减少($P=0.000$); 低氧+白藜芦醇组较低氧

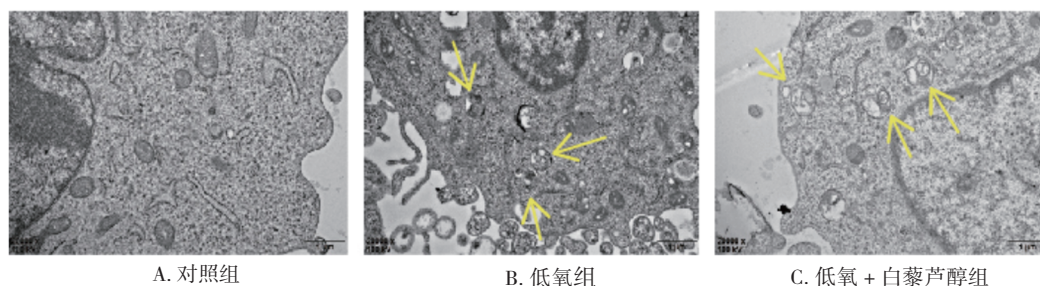


图 1 透射电镜下观察 OCCM-30 细胞内自噬体 (黄色箭头所示为自噬小体)

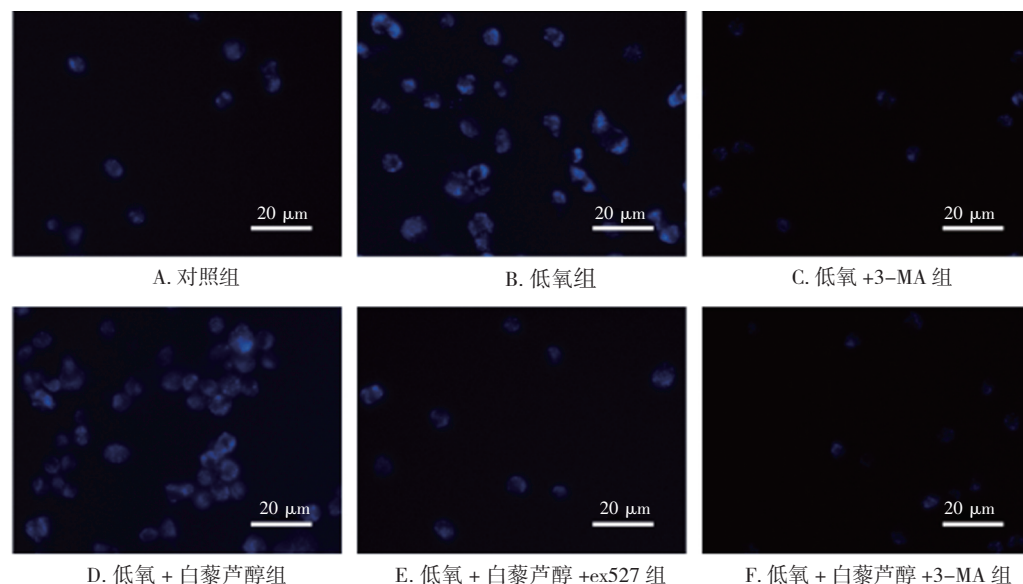


图 2 MDC 染色显示不同处理因素对 OCCM-30 细胞自噬溶酶体的影响

组荧光亮点/细胞数明显增加($P=0.000$);低氧+白藜芦醇+ex527 组较低氧+白藜芦醇组荧光亮点/细胞数明显减少($P=0.000$);低氧+白藜芦醇+3-MA 组较低氧+白藜芦醇组荧光亮点/细胞数明显减少($P=0.000$)。如图 3 和表 2 所示。

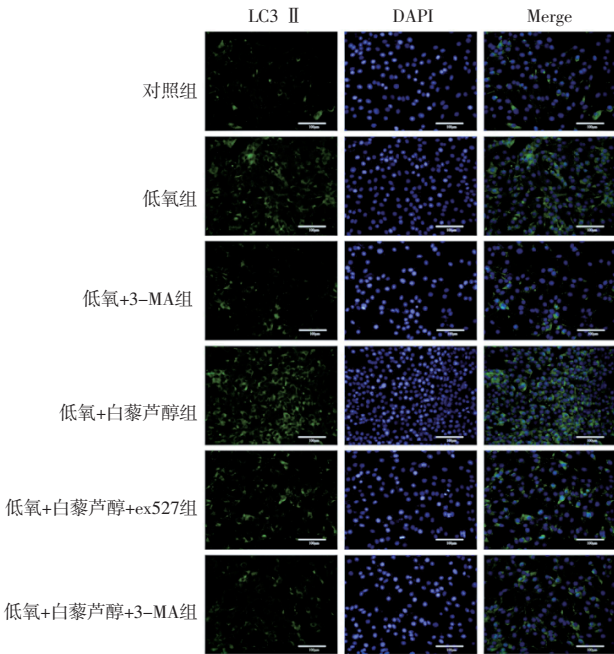


图 3 免疫荧光法观察不同处理因素对 OCCM-30 细胞 LC3 II 细胞内分布的影响

表 2 免疫荧光法观察不同处理因素对 OCCM-30 细胞 LC3 II 细胞内分布的影响 ($n=5; \bar{x} \pm s; \%$)

组别	LC3 II 斑点/细胞数
对照组	8.059 ± 0.704^a
低氧组	35.552 ± 2.650
低氧+3-MA 组	10.000 ± 1.673^a
低氧+白藜芦醇组	50.465 ± 1.853^a
低氧+白藜芦醇+ex527 组	30.696 ± 2.864^b
低氧+白藜芦醇+3-MA 组	20.450 ± 3.083^b
F 值	251.839
P 值	0.000

注:a,与低氧组比较, $P<0.05$;b:与低氧+白藜芦醇组比较, $P<0.05$

2.4 Western blot 检测低氧环境下 OCCM-30 细胞内 LC3 II、p62 及 Sirt1 蛋白的表达变化

低氧组较对照组 LC3 II 蛋白表达明显增加($P=0.001$), p62 蛋白表达明显减少($P=0.000$),自噬增强;低氧+3-MA 组较低氧组 LC3 II 蛋白表达明显减少($P=0.000$),p62 蛋白表达明显增加($P=0.000$);低氧+白藜芦醇组较低氧组 LC3 II、Sirt1 蛋白表达明显增加($P=0.049, P=0.000$),p62 蛋白表达明显减少($P=0.000$);低氧+白藜芦醇+ex527 组较低氧+白藜芦醇组 LC3 II、Sirt1 蛋白表达明显减少($P=0.000, P=0.000$),p62 蛋白表达明显增加($P=0.000$);低氧+白藜芦醇+3-MA 组较低氧+白藜芦醇组 LC3 II 蛋白表达明显减少($P=0.000$),p62 蛋白表达明显增加($P=0.000$),Sirt1 蛋白表达减少,差异无统计学意义($P=0.146$)。如图 4 和表 3 所示。

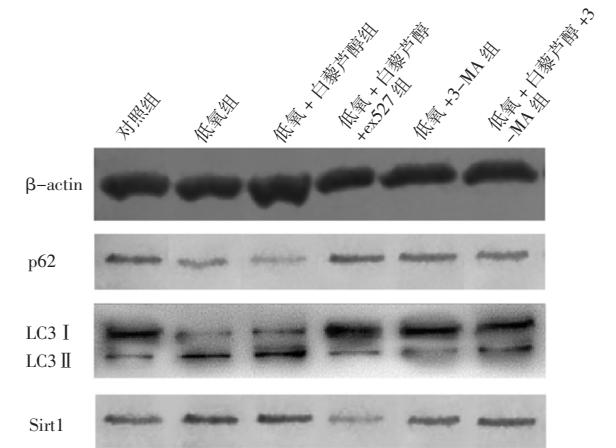


图 4 Western blot 检测不同处理因素对 OCCM-30 细胞中 p62、LC3 II、Sirt1 蛋白表达的影响

2.5 Annexin V/PI 双染色法检测低氧环境下 OCCM-30 细胞凋亡

流式细胞仪检测 OCCM-30 细胞凋亡,右下象限细胞为凋亡细胞。低氧组较对照组细胞凋亡率明显增加($P=0.000$);低氧+3-MA 组较低氧组凋亡率明显增加($P=0.000$);低氧+白藜芦醇组较低氧组凋亡率明显减少($P=0.021$);低氧+白藜芦醇+ex527 组较低氧+白藜芦醇组凋亡率明显增加($P=0.000$);低氧+白藜芦醇+3-MA 组较低氧+白藜芦醇组凋亡率明显增加($P=0.000$)。如图 5 和表 4 所示。

表 3 Western blot 检测不同处理因素对 OCCM-30 细胞中 p62、LC3 II、Sirt1 蛋白表达的影响 ($n=5; \bar{x} \pm s$)

组别	LC3 II/LC3 I	p62/ β -actin	Sirt1/ β -actin
对照组	0.574 ± 0.244^a	0.404 ± 0.009^a	0.268 ± 0.003
低氧组	1.592 ± 0.595	0.252 ± 0.011	0.318 ± 0.005
低氧+3-MA 组	0.416 ± 0.253^a	0.409 ± 0.009^a	0.307 ± 0.006
低氧+白藜芦醇组	2.156 ± 0.704^a	0.220 ± 0.008^a	0.360 ± 0.004^a
低氧+白藜芦醇+ex527 组	0.618 ± 0.230^b	0.370 ± 0.007^b	0.201 ± 0.011^b
低氧+白藜芦醇+3-MA 组	0.768 ± 0.297^b	0.358 ± 0.005^b	0.347 ± 0.030
F 值	12.955	455.227	95.529
P 值	0.000	0.000	0.000

注:a,与低氧组比较, $P<0.05$;b:与低氧+白藜芦醇组比较, $P<0.05$

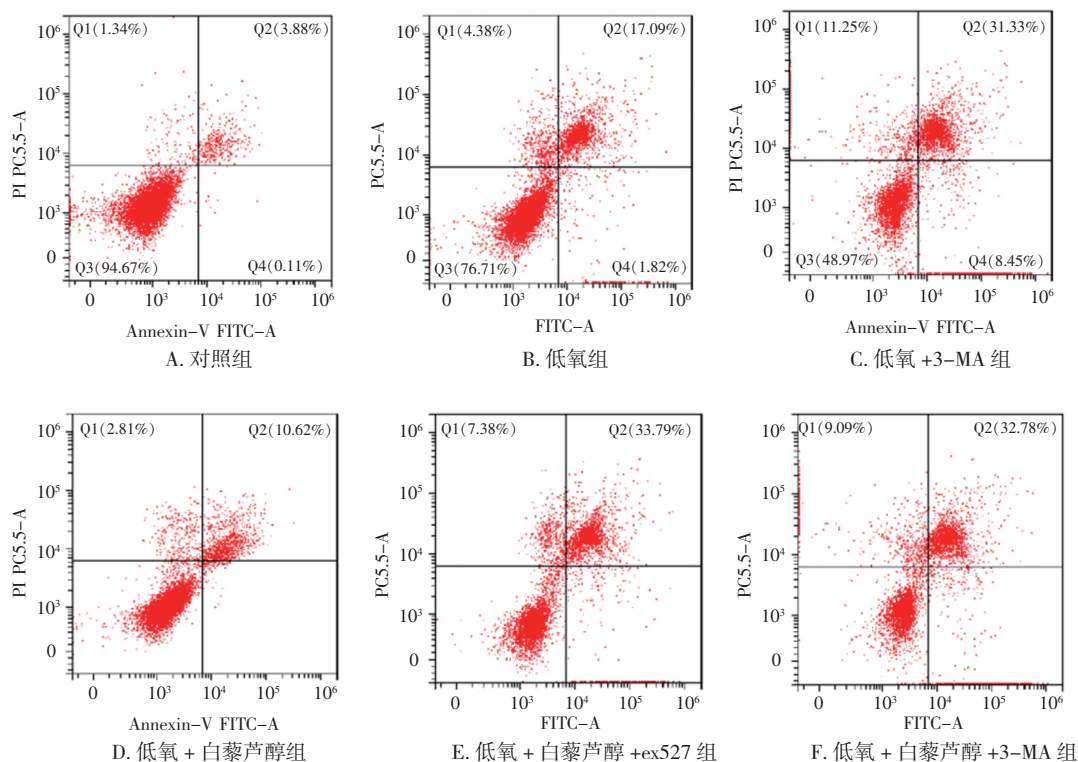


图5 Annexin V/PI 双染色法检测低氧环境下 OCCM-30 细胞凋亡

表4 Annexin V/PI 双染色法检测低氧环境下 OCCM-30 细胞凋亡
($n=5; \bar{x} \pm s; \%$)

组别	细胞凋亡率
对照组	0.138 ± 0.070^a
低氧组	2.152 ± 0.500
低氧+3-MA 组	8.570 ± 0.865^a
低氧+白藜芦醇组	1.182 ± 0.293^a
低氧+白藜芦醇+ex527 组	3.773 ± 0.630^b
低氧+白藜芦醇+3-MA 组	8.040 ± 0.908^b
F 值	169.940
P 值	0.000

注:a,与低氧组比较, $P<0.05$;b:与低氧+白藜芦醇组比较, $P<0.05$

3 讨论

在正畸治疗过程中,牙根吸收是一种常见且严重的并发症,寻找导致牙根吸收的可能原因及治疗方法很有必要。研究发现,正畸治疗时无论牙根发生吸收还是修复,成牙骨质细胞均被激活^[15]。这说明在正畸牙移动过程中,在牙骨质发生破坏和再生过程中,成牙骨质细胞都扮演着重要角色。因此,调控成牙骨质细胞的凋亡对研究正畸治疗过程中防止牙根吸收有重要意义。既往研究表明,短暂的低氧使成牙骨质细胞增殖活性下降,同时凋亡增加^[1,16]。

这与本研究结果一致。

自噬是一种广泛存在于真核细胞中的细胞生存机制,在不同病理和生理状态,如饥饿、免疫反应、衰老、发育和低氧刺激等条件下发生^[17]。自噬是一把“双刃剑”。许多研究发现,自噬在多种疾病中起保护作用^[13-14]。也有文献指出,过度自噬会导致细胞损伤^[18]。低氧环境诱导的成牙骨质细胞自噬对其凋亡有何影响,目前尚不完全明确。本研究发现,低氧环境下成牙骨质细胞自噬增强,且自噬抑制剂 3-MA 可以抑制该作用,表明低氧能激活成牙骨质细胞自噬,且自噬激活对成牙骨质细胞凋亡有抑制作用。

沉默信息调节因子(silent information regulator 2, Sir2)基因家族是一类 NAD⁺依赖型去乙酰化酶,作为其重要成员的 Sirt1 对 FoxO1 的去乙酰化调节,在细胞自噬调控中具有重要作用。Berthelot JM 等^[19]研究发现,长时间给药后白藜芦醇衍生物longevinex对增加自噬水平具有不同寻常的作用,并且这与 Sirt1 和 Sirt3 水平增加及 FoxO 核易位有关。本研究发现,白藜芦醇激活低氧环境下成牙骨质细胞自噬的同时 Sirt1 表达升高,推测 Sirt1 是这一过程中参与调控自噬的关键分子。研究发现,自噬诱导时 Sirt1 会受到应激信号的调节,这对决定 Sirt1-FoxO1 轴

依赖方式下的细胞存活和细胞死亡至关重要^[20]。Sirt1 诱导的自噬增强对氟诱导的成骨样细胞凋亡有保护作用,这可能与 Sirt1-FoxO1-Rab7 轴有关^[14]。本研究发现,Sirt1 激活剂白藜芦醇能进一步激活低氧环境下成牙骨质细胞自噬,并且使 Sirt1 表达增加,该作用能被 Sirt1 抑制剂 ex-527 逆转,说明 Sirt1 在白藜芦醇激活成牙骨质细胞自噬过程中有重要作用。而在低氧环境下,由白藜芦醇激活的自噬作用能被自噬抑制剂 3-MA 所抑制,而此时 Sirt1 表达仍然增加,提示某些自噬相关分子可能是低氧环境下 Sirt1 的下游作用分子。

低氧环境下激活自噬能抑制成牙骨质细胞凋亡,而抑制自噬则导致成牙骨质细胞凋亡增加。这表明低氧环境下自噬对防止成牙骨质细胞凋亡有一定保护作用,并且白藜芦醇激活的 Sirt1 相关信号通路是低氧诱导成牙骨质细胞发生自噬的重要信号通路,但具体机制有待进一步研究阐明。期待未来对成牙骨质细胞自噬的研究能够从基础转化到临床,为正畸治疗过程中牙根吸收的修复提供新的治疗方案。

参 考 文 献

- [1] Wu YK, Han XL, Guo YW, et al. Response of immortalized murine cementoblast cells to hypoxia *in vitro*[J]. Arch Oral Biol, 2013, 58(11): 1718-1725.
- [2] Diercke K, Kohl A, Lux CJ, et al. Compression of human primary cementoblasts leads to apoptosis[J]. J Orofac Orthop, 2014, 75(6): 430-445.
- [3] Matsuzawa H, Toriya N, Nakao YY, et al. Cementocyte cell death occurs in rat cellular cementum during orthodontic tooth movement[J]. Angle Orthod, 2017, 87(3): 416-422.
- [4] Luo RJ, Liao ZW, Song Y, et al. Berberine ameliorates oxidative stress-induced apoptosis by modulating ER stress and autophagy in human nucleus pulposus cells[J]. Life Sci, 2019, 228: 85-97.
- [5] Chen SF, Lv X, Hu BW, et al. Critical contribution of RIPK1 mediated mitochondrial dysfunction and oxidative stress to compression-induced rat nucleus pulposus cells necroptosis and apoptosis[J]. Apoptosis, 2018, 23(5): 299-313.
- [6] Wang XH, Yin S, Li M, et al. Autophagy inhibition changes the disposition of non-viral gene carriers during blood-brain barrier penetration and enhances TRAIL-induced apoptosis in brain metastatic tumor[J]. J Control Release, 2020, 321: 497-508.
- [7] Tooze SA, Yoshimori T. The origin of the autophagosomal membrane[J]. Nat Cell Biol, 2010, 12(9): 831-835.
- [8] Yu SY, Ren Q, Yu L, et al. Role of autophagy in puromycin aminonucleoside-induced podocyte apoptosis[J]. J Recept Signal Transduct Res, 2020, 40(3): 273-280.
- [9] Seong SB, Ha DS, Min SY, et al. Autophagy precedes apoptosis in angiotensin II-induced podocyte injury[J]. Cell Physiol Biochem, 2019, 53(5): 747-759.
- [10] Wang ZC, Liu Y, Wang H, et al. Research on the relationship between artesunate and Raji cell autophagy and apoptosis of Burkitt's lymphoma and its mechanism[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(9): 2238-2243.
- [11] Xie K, Tian L, Guo XY, et al. BmATG5 and BmATG6 mediate apoptosis following autophagy induced by 20-hydroxyecdysone or starvation[J]. Autophagy, 2016, 12(2): 381-396.
- [12] Hocking LJ, Whitehouse C, Helfrich MH. Autophagy: a new player in skeletal maintenance?[J]. J Bone Miner Res, 2012, 27(7): 1439-1447.
- [13] Pierrefite-Carle V, Santucci-Darmanin S, Breuil V, et al. Autophagy in bone: self-eating to stay in balance[J]. Ageing Res Rev, 2015, 24: 206-217.
- [14] Gu XL, Han DD, Chen W, et al. SIRT1-mediated FoxOs pathways protect against apoptosis by promoting autophagy in osteoblast-like MC3T3-E1 cells exposed to sodium fluoride[J]. Oncotarget, 2016, 7(40): 65218-65230.
- [15] Niver EL, Leong N, Greene J, et al. Reduced functional loads alter the physical characteristics of the bone-periodontal ligament-cementum complex[J]. J Periodontol Res, 2011, 46(6): 730-741.
- [16] Diercke K, Zingler S, Kohl A, et al. Gene expression profile of compressed primary human cementoblasts before and after IL-1 β stimulation[J]. Clin Oral Invest, 2014, 18(8): 1925-1939.
- [17] Levine B, Kroemer G. Autophagy in aging, disease and death: the true identity of a cell death impostor[J]. Cell Death Differ, 2009, 16(1): 1-2.
- [18] Liang PQ, Hu R, Dong HM, et al. GDC-0152-induced autophagy promotes apoptosis in HL-60 cells[J]. Mol Cell Biochem, 2018, 445(1): 135-143.
- [19] Berthelot JM, Corvec S, Hayem G. SAPHO, autophagy, IL-1, FoxO1, and *Propionibacterium (Cutibacterium) acnes*[J]. Joint Bone Spine, 2018, 85(2): 171-176.
- [20] Yu L, Chen Y, Tooze SA. Autophagy pathway: cellular and molecular mechanisms[J]. Autophagy, 2018, 14(2): 207-215.

(责任编辑:张学颖)