

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.05.007

牙龈卟啉单胞菌脂多糖通过 TXNIP/Nlrp3 炎性通路 对小鼠牙周膜成纤维细胞迁移的影响*

俞 梅¹ 李 娜¹ 喻锦娴¹ 王文茜² 刘思佳¹ 徐 佳³(1 湖北中医药大学附属国医医院口腔科 湖北 武汉 430000; 2 湖北中医药大学附属国医医院耳鼻喉科 湖北 武汉 430000;
3 武汉大学医学院附属中山医院(湖北省第三人民医院)放射科 湖北 武汉 430033)

摘要 目的:研究牙龈卟啉单胞菌脂多糖(Porphyromonas lipopolysaccharide, LPS-PG)对牙周膜成纤维细胞(mouse periodontal Ligament: Normal Fibroblasts, mPDLFs)增殖及迁移的影响,探讨 TXNIP/Nlrp3 炎性体途径在其中的作用。**方法:**采用不同浓度的 LPS-PG 刺激小鼠 mPDLFs 细胞不同时间, CCK-8 法检测细胞增殖抑制率。然后将细胞分为对照组(培养基作用 24 h)和 LPS-PG 组(2 M 的 LPS-PG 作用 24 h),划痕实验检测细胞迁移, ELISA 法检测白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)和高迁移率族蛋白 B1(High mobility group protein B1, HMGB1)的水平, Western Blot 检测 Nod 样受体蛋白 3(Nod-like receptor pyrin domain3, NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白(Apoptosis-associated speck-like protein, ASC)、活化半胱氨酸蛋白酶(cleaved-caspase-1)和硫氧还蛋白相互作用蛋白(Thioredoxin-interacting protein, TXNIP)的表达,免疫共沉淀检测以上蛋白间的相互作用。**结果:**与 0 M 的 LPS-PG 相比, 1 M 和 2 M 的 LPS-PG 可显著增加 mPDLFs 的细胞增殖抑制率($P<0.05$)。与 LPS-PG 作用 0 h 相比, LPS-PG 作用 12 h、24 h 和 48 h 均可显著增加 mPDLFs 的细胞增殖抑制率($P<0.05$)。LPS-PG 组细胞向中间'伤口'迁移的距离及细胞数量远远低于对照组。与对照组相比, LPS-PG 组细胞中 IL-1 β 和 HMGB1 的水平、NLRP3、cleaved-caspase-1 和 TXNIP 蛋白表达均显著增加,且 NLRP3 和 ASC、NLRP3 和 cleaved-caspase-1、TXNIP 和 NLRP3 的蛋白互作能力显著增强($P<0.05$),而两组 ASC 蛋白的表达无显著差异($P>0.05$)。**结论:**LPS-PG 可抑制 mPDLFs 细胞的增殖和迁移,其机制与 Nlrp3 炎性体的形成与活化有密切的关系。

关键词:牙龈卟啉单胞菌脂多糖; TXNIP/Nlrp3 途径; 牙周膜成纤维细胞; 迁移

中图分类号:R-33; R246.83; R781.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)05-832-05

Effect of Porphyromonas Gingivalis Lipopolysaccharide on Migration of Periodontal Ligament Fibroblasts Via TXNIP/Nlrp3 Inflammasome Pathway*

YU Mei¹, LI Na¹, YU Jin-xian¹, WANG Wen-qian², LIU Si-jia¹, XU Jia³

(1 Department of Stomatology, Hubei University of Traditional Chinese Medicine Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital, Wuhan, Hubei, 430000, China; 2 Department of Otorhinolaryngology, Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei, 430000, China; 3 Department of Radiology, Zhongshan Hospital Affiliated to Wuhan University School of Medicine(The Third People's Hospital of Hubei Province), Wuhan, Hubei, 430033, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of lipopolysaccharide from Porphyromonas gingivalis (LPS-PG) on the proliferation and migration of periodontal ligament fibroblasts (mPDLFs), and to explore the role of TXNIP/Nlrp3 inflammasome pathway in it. **Methods:** Different concentrations of LPS-PG were used to stimulate mouse mPDLFs cells for different times, and the cell proliferation inhibition rate was detected by CCK-8 method. The cells were then divided into two groups: control group (stimulation with medium for 24 h) and LPS-PG group (stimulation with 2 M LPS-PG for 24 h). The scratch test was used to detect cell migration, ELISA method was used to detect the level of IL-1 β and HMGB1, Western Blot was used to detect the expression of NLRP3, ASC, cleaved-caspase-1 and TXNIP protein, and Co-immunoprecipitation is used to detect the interaction between the above proteins. **Results:** Compared with 0 M of LPS-PG, 1 M and 2 M of LPS-PG significantly increased the cell proliferation inhibition rate of mPDLFs ($P<0.05$). Compared with LPS-PG at 0 h, LPS-PG at 12 h, 24 h and 48 h can significantly increase the cell proliferation inhibition rate of mPDLFs ($P<0.05$). The migration distance and the number of cells in the LPS-PG group to the middle 'wound' were much lower than those in the control group. Compared with the control group, the levels of IL-1 β and HMGB1 and the expression of NLRP3, cleaved-caspase-1 and TXNIP protein in the LPS-PG group were significantly increased ($P<0.05$), and the protein interaction ability of NLRP3 and ASC, NLRP3 and cleaved-caspase-1, TXNIP and NLRP3 was significantly enhanced ($P<0.05$), but there was no significant difference in the expression of ASC protein between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion:** LPS-PG can inhibit the proliferation and migration of mPDLFs cells, and its mechanism is closely related to the formation and activation of Nlrp3 inflammasome.

* 基金项目:国家卫生计生委医药卫生科技发展研究中心项目(W2015CAE173)

作者简介:俞梅(1974-),女,本科,主治医师,研究方向:口腔修复,电话:13627293806, E-mail:ym197401@163.com

(收稿日期:2021-07-03 接受日期:2021-07-27)

Key words: Lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis*; TXNIP/Nlrp3 pathway; Periodontal ligament fibroblast; Migration
Chinese Library Classification (CLC): R-33; R246.83; R781.4 **Document code:** A
Article ID: 1673-6273(2022)05-832-05

前言

慢性牙周炎是最常见的一类牙周疾病,主要由菌斑微生物及其代谢产物所引起,可发生在任何年龄段,其严重程度和发病率会随着年龄的增长而增加^[1]。它是牙周组织的慢性炎症(包括牙龈炎症),病理变化为牙槽骨吸收,临床表征为临床附着丧失,晚期牙松动或者移位,最终导致牙齿脱落^[2,3]。牙周膜成纤维细胞(Mouse periodontal ligament fibroblasts, mPDLFs)是牙周膜组织的主要细胞类型,是牙周膜组织中数目最大、最主要的细胞类型,在牙周炎的发展中起重要作用,包括组织修复和重建^[4,5]。mPDLFs 受损与牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, PG)的侵袭密切相关,其中 PG 是牙周炎的主要病原体,能够产生大量的毒力因子,将引起牙周结缔组织的破坏以及牙槽骨的吸收,是牙周膜成纤维细胞产生炎症反应的主要因素^[6,7]。有研究发现,当免疫反应失衡且病原体处于优势时,龈下菌斑附着在牙根上并破坏牙周膜,而 PG 是龈下菌斑中的主要可疑牙周致病菌类^[8]。同时,脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)作为 PG 的主要致病因子,有助于牙周炎的发生和发展^[9]。有研究表明,LPS-PG 可导致认知障碍、慢性肾病、心血管疾病、动脉粥样硬化等多种疾病^[10-12],但是 LPS-PG 对 mPDLFs 的影响及作用机制还未彻底阐明。因此,本文主要研究 LPS-PG 对 mPDLFs 增殖及迁移的影响,并探讨 TXNIP/Nlrp3 炎性通路在其作用中的调节机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

小鼠 mPDLFs 购自武汉 Procell 公司(货号:CP-M199),从 PG 中提取的 LPS-PG 购自美国 Sigma-Aldrich 公司,CCK-8 试剂盒、小鼠 IL-1 β ELISA 试剂盒购自上海碧云天公司,小鼠 HMGB1/HMG-1 ELISA 试剂盒购自美国 Novus Biologicals 公司,NLRP3 和 cleaved-caspase-1 抗体购自美国 Abcam 公司,ASC 抗体购自美国 Santa cruz 公司,TXNIP 抗体购自美国 CST 公司。

1.2 细胞培养

将 mPDLFs 培养在含有 10 %胎牛血清和 1 %双抗的 DMEM 培养基中,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5 % CO_2 的饱和湿度培养箱中培养,每 2-3 天传代。取对数生长期细胞用于后续实验。

1.3 细胞增殖抑制检测

将 mPDLFs 用 0.25 %的胰酶消化后,以每孔 2×10^3 个细胞种植于 96 孔板,分别用浓度为 0 M、0.5 M、1 M 和 2 M 的 LPS-PG 处理 24 h,或者用 2 M 的 LPS-PG 分别处理 0 h、12 h、24 h 和 48 h,对照孔加 DMEM,之后每孔加入 10 μL 的 CCK-8 试剂,孵育 1 h 后,用酶标仪在 450 nm 处检测吸光值(OD)。细胞增殖抑制率(%)=(对照孔 OD- 测试孔 OD)/对照孔 OD $\times$ 100 %。

1.4 细胞迁移检测

将胰酶消化后的 mPDLFs 以每孔 8×10^5 个细胞种植于 6

孔板,常规培养 24 h 后,用无菌枪头沿孔的纵轴轻轻划一道痕,并标记划痕范围,经 PBS 轻洗后,对照组的孔中加入 2.5 mL 的 DMEM 培养基,LPS-PG 组的孔中加入 2 M、2.5 mL 的 LPS-PG,每组设 4 个复孔,培养 24 h 后观察划痕区细胞迁移范围。

1.5 ELISA 法检测 IL-1 β 和 HMGB1 的含量

将 mPDLFs 以每孔 5×10^3 个细胞种植于 96 孔板,对照组的孔中加入 100 L 的 DMEM 培养基,LPS-PG 组的孔中加入 2 M、100 L 的 LPS-PG, 每组设 4 个复孔。采用小鼠 IL-1 β 和 HMGB1 ELISA 试剂盒检测两组细胞中炎症因子 IL-1 β 和 HMGB1 的含量,具体检测方法根据试剂盒配套说明进行操作,终止反应后酶标仪检测 450 nm 处以空白对照孔调零后各孔 OD 值。

1.6 Western Blot 法检测 NLRP3、ASC 和 cleaved-caspase-1 蛋白的表达

细胞处理方式同 1.5 部分。采用 RIPA 试剂从两组细胞中提取总蛋白,BCA 试剂盒进行总蛋白定量分析。取 20 g 的总蛋白进行上样,用 10 %的 SDS-PAGE 电泳分离总蛋白,1 h 后转移至 PVDF 膜上,5 %的 BSA 封闭 45 min 后,加入一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,PBST 洗 3 次,孵育辣根过氧化物酶标记的二抗,室温摇床 45 min,PBST 洗 3 次,电化学发光(ECL)试剂显色、曝光,采用凝胶成像系统及 Bio-Rad 公司的 Quantity One 4.6.2 软件统计分析条带。一抗稀释比例为:NLRP3(1:800)、ASC(1:2000)和 cleaved-caspase-1 (1:1000),二抗的稀释比例为 1:10000。 β -actin 为内参。Image-Pro Plus 6.0 采集蛋白条带灰度值,并计算蛋白相对表达量。

1.7 免疫共沉淀检测 NLRP3、ASC 和 cleaved-caspase-1 蛋白质间的相互作用

采用免疫共沉淀技术检测蛋白质间的相互作用。将 1.6 部分提取的两组总蛋白,根据蛋白浓度,用 PBS 稀释至 1 g/L,将 1 mL 的蛋白稀释液加入至含有 20 μL 的 Agarose A/G beads 中,4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床 2 h,收集上清,向上清中加入 5 μL 的 IP 抗体(Input 中加入正常山羊 IgG),4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床过夜,次日加入 30 μL 的 Agarose A/G beads,室温摇床 2 h,弃上清,PBS 冲洗,然后加入上样缓冲液煮沸,然后进行 SDS-PAGE 电泳,后续同 Western Blot 步骤(用 IB 抗体)。

1.8 统计学方法

采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析,正态分布计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较均采用成组 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LPS-PG 对 mPDLFs 细胞增殖抑制率的影响

与 0 M 的 LPS-PG 比较,1 M 和 2 M 的 LPS-PG 作用 24 h 可显著增加 mPDLFs 的细胞增殖抑制率($P < 0.05$)。与 LPS-PG 作用 0 h 比较,2 M 的 LPS-PG 作用 12 h、24 h 和 48 h 均可显著增加 mPDLFs 的细胞增殖抑制率($P < 0.05$)。见图 1。

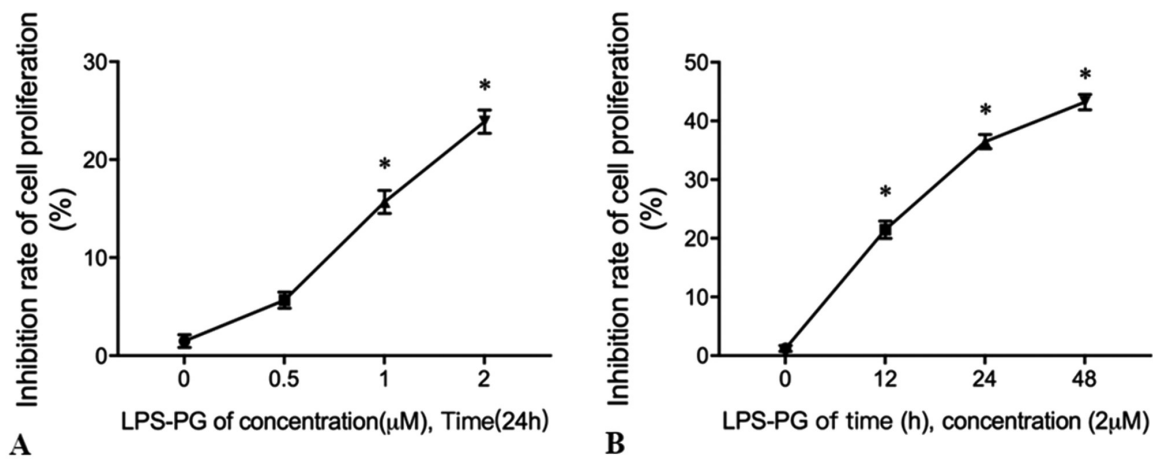


图1 LPS-PG 对 mPDLFs 细胞增殖抑制率的影响(注:A:不同作用浓度,B:不同作用时间。与 0 M 和 0 h 的 LPS-PG 对比,* $P<0.05$)

Fig.1 Effect of LPS-PG on the inhibition rate of mPDLFs cell proliferation(Note:A:Different concentration of LPS-PG,B: Different time of LPS-PG. Compared with 0 M and 0h of LPS-PG,* $P<0.05$)

2.2 LPS-PG 对 mPDLFs 细胞迁移的影响

移的距离及细胞数量远远低于对照组,见图 2。

细胞划痕实验结果显示,LPS-PG 组细胞向中间 ' 伤口 ' 迁

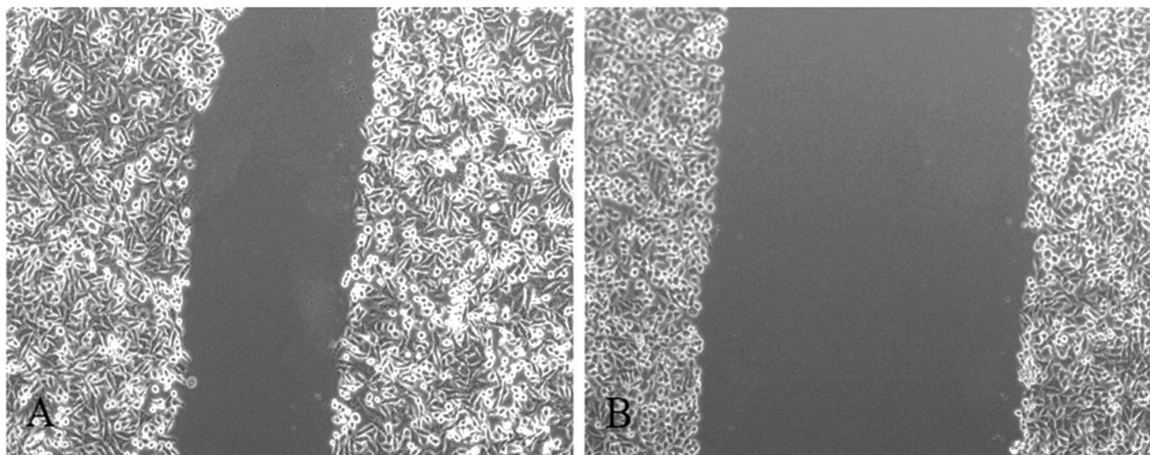


图2 LPS-PG 对 mPDLFs 细胞迁移的影响(注:A- 对照组,B-LPS-PG 组;40×)

Fig.2 The effect of LPS-PG on mPDLFs cell migration(Note:A-Control, B-LPS-PG;40×)

2.3 两组 IL-1 β 和 HMGB1 水平的对比

平显著增加($P<0.05$),见表 1。

与对照组比较,LPS-PG 组细胞中 IL-1 β 和 HMGB1 的水

表 1 两组 IL-1 β 和 HMGB1 水平的对比($\bar{x} \pm s$,pg/mL)

Table 1 Comparison of IL-1 β and HMGB1 levels between the two groups($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

Groups	IL-1 β	HMGB1
Control group	19.43 $\pm$ 2.61	122.44 $\pm$ 26.03
LPS-PG group	50.24 $\pm$ 3.95	1408.63 $\pm$ 51.56*

Note: Compared with the control group,* $P<0.05$.

2.4 两组中 NLRP3、ASC 和 cleaved-caspase-1 蛋白的相互作用比较

与对照组比较,LPS-PG 组细胞中 NLRP3 和 cleaved-caspase-1 蛋白表达显著增加($P<0.05$),ASC 蛋白的表达无显著变化($P>0.05$),见表 2 和图 3。与对照组比较,LPS-PG 组中 NLRP3 和 ASC 的蛋白互作能力、NLRP3 和 cleaved-caspase-11 的蛋白互作能力均显著增加($P<0.05$),见表 3 和图 4。

2.5 两组 TXNIP 表达及其与 Nlrp3 炎症体的相互作用比较

与对照组比较,LPS-PG 组细胞中 TXNIP 的表达显著增加($P<0.05$),且 TXNIP 和 NLRP3 的蛋白互作能力显著增加($P<0.05$),见表 4 和图 5。

3 讨论

mPDLFs 受损与牙周炎的发生发展有密切的关系,PG 是

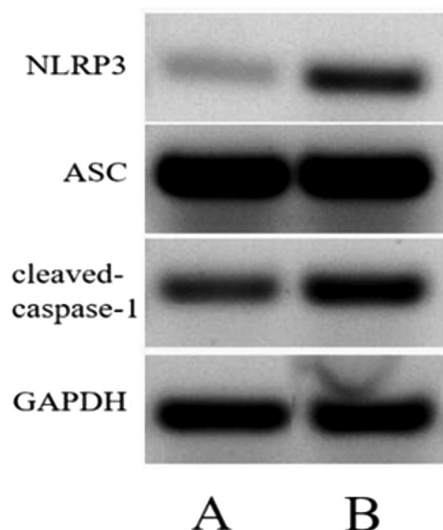


图3 两组 NLRP3、ASC 和 cleaved-caspase-1 表达 Western Blot 结果图
(注:A-对照组,B-LPS-PG 组)

Fig.3 Western Blot results of NLRP3, ASC and cleaved-caspase-1

expressions between the two groups

(Note: A-Control, B-LPS-PG)

主要的牙周病原体之一,LPS-PG 可在牙周膜中引起一系列炎症反应,对 mPDLFs 的功能有不利的影响^[13,14]。mPDLFs 优先迁移是牙周再生获得成功的首要条件^[15,16]。众所周知,mPDLFs 炎症反应将导致结缔组织恢复能力下降以及牙齿稳定性的下降,最终导致牙齿脱落^[17]。近期有报道指出 Nlrp3 炎症体在牙周炎的发展过程中起重要作用^[18,19]。

本研究显示,1 M 和 2 M 的 LPS-PG 作用 24 h 可显著增加 mPDLFs 的细胞增殖抑制率,而 0.5 M 的 LPS-PG 对 mPDLFs 细胞增殖的影响不大,表明低剂量 LPS-PG 对 mPDLFs 功能的影响不明显,而高剂量 LPS-PG 可显著抑制 mPDLFs 细胞的增殖,这一结果与 Yang K 等^[20]研究结果相似,低剂量的 LPS-PG 对 mPDLFs 细胞增殖和迁移的影响不大,但是高剂量的 LPS-PG 可显著抑制 mPDLFs 细胞增殖和迁移。LPS-PG 对 mPDLFs 增殖的影响还与作用时间相关,LPS-PG 作用 12 h、24 h 和 48 h 均可显著抑制 mPDLFs 细胞增殖,且呈时间依赖性,表示受 PG 感染的牙周组织,随着时间的增加,严重程度及发病率也呈上升趋势^[1]。本研究显示,2 M 的 LPS-PG 作用 24 h 时,可显著抑制 mPDLFs 的迁移,提示 LPS-PG 对牙周组织的重生具有不利的影响,与上述研究结论一致。

表2 两组 NLRP3、ASC 和 cleaved-caspase-1 表达的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the expression of NLRP3, ASC and cleaved-caspase-1 between the two groups($\bar{x} \pm s$)

Groups	NLRP3	ASC	cleaved-caspase-1
Control group	0.12 $\pm$ 0.038	2.59 $\pm$ 0.216	0.44 $\pm$ 0.090
LPS-PG group	0.46 $\pm$ 0.017*	2.53 $\pm$ 0.195	0.72 $\pm$ 0.150*

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$.

表3 两组中 NLRP3、ASC 和 cleaved-caspase-1 蛋白的相互作用比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of the interaction between NLRP3, ASC and cleaved-caspase-1 protein between the two groups($\bar{x} \pm s$)

Groups	IP:NLRP3; IB:ASC	IP:NLRP3; IB:cleaved-caspase-1
Control group	0.48 $\pm$ 0.086	0.52 $\pm$ 0.137
LPS-PG group	0.66 $\pm$ 0.103*	0.78 $\pm$ 0.155*

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$.

表4 两组 TXNIP 表达及其与 Nlrp3 炎症体的相互作用比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of TXNIP expression and Nlrp3 inflammasome interaction between the two groups($\bar{x} \pm s$)

Groups	TXNIP	IP:TXNIP; IB:NLRP3
Control group	0.34 $\pm$ 0.102	0.29 $\pm$ 0.082
LPS-PG group	1.07 $\pm$ 0.169*	0.71 $\pm$ 0.149*

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$.

Nlrp3 炎症小体主要包括 NLRP3、ASC 和效应蛋白半胱氨酸蛋白酶 Caspase 1,这 3 种蛋白通过低聚反应形成高分子量的炎症体复合物。当 Nlrp3 炎症体被激活时,这个低聚体复合物中的 Pro-caspase 1 将被转换为它的活化形式 caspase 1,活化的 caspase 1 可将其底物如前白介素 -1 (前 IL-1) 切割为具有生物活性的 IL-1,引起炎症反应^[21,22]。当然,炎症体不只有 Nlrp3 炎症体,还有 Nlrp1 炎症体和 Nlrp4 炎症体,但是据报道相对于这两个炎症体,Nlrp3 炎症体可能是参与 LPS 先天反应的细胞间受体^[23]。为探讨 LPS-PG 抑制 mPDLFs 细胞增殖和迁移

的机制,我们进一步研究了 LPS-PG 对细胞中炎症因子和炎症体的影响,本研究通过免疫共沉淀技术检测到 LPS-PG 可增加 NLRP3 和 ASC 的结合,以及 NLRP3 和 cleaved-caspase-1 的结合,结果表明:LPS-PG 促进 Nlrp3 炎症体的形成,这与 Yang 等^[24]人对人牙龈成纤维细胞的研究结果对比一致,即:LPS-PG 分别刺激人牙龈成纤维细胞 3 h 和 6 h 可显著增强炎症小体的形成和激活,其次 LPS-PG 增加 NLRP3 和活性 cleaved-caspase-1 的表达,提示 LPS-PG 可激活 Nlrp3 炎症体;进一步推测可知:LPS-PG 促进 IL-1 β 和 HMGB1 等炎症因子的分泌,表示

LPS-PG 促进 Nlrp3 炎症体的炎症反应, 而 LPS-PG 参与 Nlrp3 炎症体的形成、激活和炎症反应这一过程可能是 LPS-PG 导致慢性牙周炎期间 mPDLFs 细胞炎症的重要致病机制。

Nlrp3 炎症体招募含有 CARD 的 ASC 和 pro-caspase 1, 引起 caspase 1 活化以及促炎症因子 IL-1 和 IL-18 的成熟和分泌^[25]。这其中涉及 2 个激活 Nlrp3 炎症体的信号通路: 一个是主要途径, Toll 样受体 (TLR) 活化途径, 如以 NF- κ B 依赖的方式激活 NLRP3^[26]。另一个是次要途径, ROS 氧化应激引起 TRX 被氧化为 TXNIP 释放, TXNIP 与 Nlrp3 炎症体结合进一步促进炎症体的低聚化聚合^[27,28]。而且也有研究证实, 炎性体激活剂 (如尿酸晶体) 以 ROS 敏感方式诱导 TXNIP 与硫氧还蛋白解离, 并使其结合 NLRP3, 这也证明 Nlrp3 炎症体与 TXNIP 相互作用^[29]。本研究主要关注第二条次要途径, 免疫共沉淀结果显示, 与对照组比较, LPS-PG 组细胞中 TXNIP 的表达显著增加, 且 TXNIP 和 NLRP3 蛋白的相互作用能力显著增加。这些结果提示 LPS-PG 可显著增加 mPDLFs 中 TXNIP 的表达, 同时促进 TXNIP 与 NLRP3 的结合, 进一步提示 LPS-PG 可促进 TXNIP 相关的 Nlrp3 炎症体聚集, 而 TXNIP 的激活释放与 ROS 的产生有密切关系^[30]。因此, 靶向 LPS-PG 诱导的 Nlrp3 炎症体形成或活化阶段可能是防止慢性牙周炎期间 mPDLFs 功能障碍或损伤的一种新的治疗策略, 值得我们更加深入的探究。

综上所述, 本研究揭示了 LPS-PG 可抑制 mPDLFs 细胞的增殖和迁移, 导致 mPDLFs 功能障碍和损伤。其机制与 Nlrp3 炎症体的形成与活化有密切的关系。本研究仍存在一定的局限性, 例如没有从分子机制角度深入探索 LPS-PG 对 mPDLFs 细胞中 Nlrp3 炎症体形成及活化的影响, 也并没有形态学实验加以佐证。此外, 对于 NLRP3 和 ASC、caspase-1 以及 TXNIP 蛋白之间的相互作用并未进行深入研究。这些问题将是我们下一步研究的主要内容。虽然存在一定的局限性, 但本研究仍可为阐明慢性牙周炎的发病机制提供理论及实验基础, 为慢性牙周炎的治疗提供科学靶点, 为临床治疗提供新思路。

参考文献 (References)

- CARDOSO E M, REIS CATIA, MANZANARES-CESPEDES, et al. Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases [J]. *Postgraduate Medicine*, 2018, 130(1): 98-104
- GUO Y, XU C, WU X, et al. Leptin regulates OPG and RANKL expression in Gingival Fibroblasts and Tissues of Chronic Periodontitis Patients[J]. *Int J Med Sci*, 2021, 18(11): 2431-2437
- YAO S, JIANG C, ZHANG H, et al. Visfatin regulates Pg LPS-induced proinflammatory/prodegradative effects in healthy and inflammatory periodontal cells partially via NF- κ B pathway [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2021, 1868(8): 119042
- Lian D, Dai L, Xie Z, et al. Periodontal ligament fibroblasts migration injury via ROS/TXNIP/Nlrp3 inflammasome pathway with Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide [J]. *Mol Immuno*, 2018, 103(12): 209-219
- Symmank J, Chorus M, Appel S, et al. Distinguish fatty acids impact survival, differentiation and cellular function of periodontal ligament fibroblasts[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 15706
- Reynolds EC, Faull RLM, Curtis MA, et al. Porphyromonas gingivalis in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors [J]. *Sci Adv*, 2019, 5(1): e3333
- OKA S, LI X, ZHANG F, et al. Loss of Dec1 prevents autophagy in inflamed periodontal ligament fibroblast[J]. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(2): 1423-1431.
- Iyer R, Perpich JD, Haque N, et al. Akkermansia muciniphila reduces Porphyromonas gingivalis-induced inflammation and periodontal bone destruction[J]. *J Clin Periodontol*, 2020, 47(2): 202-212
- LIU X, KANG WY, SHANG LL, et al. Sitagliptin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response in human gingival fibroblasts by blocking nuclear factor- κ B signaling pathway [J]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 2021, 39(2): 153-163
- Zhang J, Yu C, Zhang X, et al. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide induces cognitive dysfunction, mediated by neuronal inflammation via activation of the TLR4 signaling pathway in C57BL/6 mice[J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 37
- LEIRA Y, IGLESIAS-REY R, GÓMEZ-LADO N, et al. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-induced periodontitis and serum amyloid-beta peptides[J]. *Arch Oral Biol*, 2019, 99(2): 120-125
- Gu Y, Wu Z, Zeng F, et al. Systemic Exposure to Lipopolysaccharide from Porphyromonas gingivalis Induces Bone Loss-Related Alzheimer's Disease-Like Pathologies in Middle-Aged Mice [J]. *J Alzheimers Dis*, 2020, 78(1): 61-74
- Senini V, Amara U, Paul M, et al. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide activates platelet Cdc42 and promotes platelet spreading and thrombosis[J]. *J Periodontol*, 2019, 90(11): 1336-1345
- OKA S, LI X, SATO F, et al. Dec2 attenuates autophagy in inflamed periodontal tissues[J]. *Immun Inflamm Dis*, 2021, 9(1): 265-273
- 马静雯, 宋萌, 潘劲松, 等. miRNA-145 通过下调 ROCK1 的表达抑制人牙周膜成纤维细胞的迁移[J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(4): 606-609, 615
- Tamashunas AC, Katiyar A, Zhang Q, et al. Osteoprotegerin is sensitive to actomyosin tension in human periodontal ligament fibroblasts [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(8): 5715-5724
- TAKAHAMA M, AKIRA S, SAITOH T. Autophagy limits activation of the inflammasomes[J]. *Immunol Rev*, 2018, 281(1): 62-73
- Chen Y, Yang Q, Lv C, et al. NLRP3 regulates alveolar bone loss in ligature-induced periodontitis by promoting osteoclastic differentiation[J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(2): e12973
- PIZZICANNELLA J, FONTICOLI L, GUARNIERI S, et al. Antioxidant Ascorbic Acid Modulates NLRP3 Inflammasome in LPS-G Treated Oral Stem Cells through NF κ B/Caspase-1/IL-1 β Pathway[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(5): 797
- Yang K, Xu S, Zhao H, et al. Hypoxia and Porphyromonas gingivalis-lipopolysaccharide synergistically induce NLRP3 inflammasome activation in human gingival fibroblasts[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 94(Suppl 1): 107456
- MISSIROLI S, PERRONE M, BONCOMPAGNI C, et al. Targeting the NLRP3 Inflammasome as a New Therapeutic Option for Overcoming Cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(10): 2297
- XU Q, ZHAO B, YE Y, et al. Relevant mediators involved in and therapies targeting the inflammatory response induced by activation of the NLRP3 inflammasome in ischemic stroke[J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 123

(下转第 862 页)

- cific Knowledge in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2020, 15(19): 1103-1110
- [20] Wong CK, Yu WC. Correlates of disease-specific knowledge in Chinese patients with COPD [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2016, 11(14): 2221-2227
- [21] 丛舒, 姚洁宇, 樊静, 等. 2014-2015 年中国慢性阻塞性肺疾病患者的患病相关知识知晓情况 [J]. *中华流行病学杂志*, 2020, 41(7): 1034-1040
- [22] Xie L, Liu Z, Hao S, et al. Assessment of knowledge, attitude, and practice towards pulmonary rehabilitation among COPD patients: A multicenter and cross-sectional survey in China[J]. *Respir Med*, 2020, 174(6): 106198
- [23] 李晔. 上海地区慢性阻塞性肺疾病患者对疾病相关知识认知程度的调查研究[J]. *山西医药杂志*, 2019, 48(12): 1417-1419
- [24] Baiardini I, Rogliani P, Santus P, et al. Disease awareness in patients with COPD: measurement and extent[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2018, 14(17): 1-11
- [25] Chen XC, Liu C, Ma SJ, et al. Clinical therapeutic effects of high-flow nasal oxygen therapy in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: A protocol for systematic review and meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(12): e24084
- [26] Chen KY, Wu SM, Tseng CH, et al. Combination therapies with thiazolidinediones are associated with a lower risk of acute exacerbations in new-onset COPD patients with advanced diabetic mellitus: a cohort-based case-control study[J]. *BMC Pulm Med*, 2021, 21(1): 141
- [27] 姚婉贞, 路明. 慢性阻塞性肺疾病急性加重如何合理使用抗生素 [J]. *中国实用内科杂志*, 2012, 32(7): 558-560
- [28] Stellessen M, Paige SR, Alber JM, et al. Association Between Health Literacy, Electronic Health Literacy, Disease-Specific Knowledge, and Health-Related Quality of Life Among Adults With Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Cross-Sectional Study [J]. *J Med Internet Res*, 2019, 21(6): e12165
- [29] 陆影, 章美华. 参与式健康教育对 COPD 并发肺部感染住院患者认知、满意度及焦虑状态的影响[J]. *新疆医科大学学报*, 2018, 41(6): 777-780
- [30] 黄仕明, 李江旭, 王秋梅, 等. 健康信念模式教育对 COPD 患者疾病认知与呼吸功能锻炼依从性的影响[J]. *重庆医学*, 2013, 42(10): 1136-1138

(上接第 836 页)

- [23] WINSHIP A, DIMITRIADIS E. Interleukin-11 induces preterm birth and modulates decidual inflammasome gene expression in mice [J]. *Placenta*, 2017, 50(Complete): 99-101
- [24] YANG K, XU S, ZHAO H, et al. Hypoxia and Porphyromonas gingivalis-lipopolysaccharide synergistically induce NLRP3 inflammasome activation in human gingival fibroblasts[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 94(6): 1035-1041
- [25] Sun L, Ma W, Gao W, et al. Propofol directly induces caspase-1-dependent macrophage pyroptosis through the NLRP3-ASC inflammasome[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(8): 542
- [26] OLCUM M, TUFEKCI KU, DURUR DY, et al. Ethyl Pyruvate Attenuates Microglial NLRP3 Inflammasome Activation via Inhibition of HMGB1/NF- κ B/miR-223 Signaling [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(5): 745
- [27] Chen D, Dixon BJ, Doycheva DM, et al. IRE1 α inhibition decreased TXNIP/NLRP3 inflammasome activation through miR-17-5p after neonatal hypoxic-ischemic brain injury in rats [J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 32
- [28] Zhou H, Zhang Z, Qian G, et al. Omentin-1 attenuates adipose tissue inflammation via restoration of TXNIP/NLRP3 signaling in high-fat diet-induced obese mice [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2020, 34(6): 721-735
- [29] Li L, Ismael S, Nasoohi S, et al. Thioredoxin-Interacting Protein (TXNIP) Associated NLRP3 Inflammasome Activation in Human Alzheimer's Disease Brain[J]. *J Alzheimers Dis*, 2019, 68(1): 255-265
- [30] WANG DS, YAN LY, YANG DZ, et al. Formononetin ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats by suppressing the ROS-TXNIP-NLRP3 pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 525(3): 759-766