

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.05.003

❖ 口腔医学研究专题 ❖

白藜芦醇通过 PI3K/AKT 信号通路抑制脂多糖诱导的人牙龈成纤维细胞炎症

王玉娇¹, 李思玉¹, 李俊雄¹, 陈虹君¹, 冯敬哲¹, 邱亚², 李丽华³

(1. 川北医学院口腔医学系; 川北医学院附属医院, 2. 医学研究中心, 3. 口腔科, 四川 南充 637000)

【摘要】目的: 探讨白藜芦醇(RSV)对牙龈卟啉单胞菌脂多糖(LPS)诱导的人牙龈成纤维细胞(HGFs)炎症的调控及其与 PI3K/AKT 信号通路的相关性。**方法:** 空白对照组、RSV 组、LPS 组、LPS + RSV 组, 通过 CCK-8 法评估细胞活力。然后, 设置空白对照组、LPS 组、LPS + RSV 组, 通过酶联免疫吸附(ELISA)测定炎症因子白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6、IL-8 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的水平; 通过 Western blot 分析 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白的表达水平。最后, 设置空白对照组、LPS 组、LPS + RSV 组、LPS + RSV + LY294002 组, ELISA 测定炎症因子水平; 通过 Western blot 分析 PI3K/AKT 信号通路的激活情况。**结果:** RSV 对 HGFs 无细胞毒性; 在 LPS 诱导的 HGFs 炎症中, RSV 下调 IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 TNF- α 水平; RSV 可诱导 PI3K/AKT 信号通路失活; 且 PI3K/AKT 信号通路抑制剂(LY294002)能通过下调 IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 TNF- α 表达, 进一步增强 RSV 的抗炎效果。**结论:** RSV 可通过抑制 PI3K/AKT 信号通路, 减轻 LPS 诱导的 HGFs 的炎症反应。

【关键词】 慢性牙周炎; 白藜芦醇; PI3K/AKT 信号通路; 人牙龈成纤维细胞

【中图分类号】 R285.5; R781.4 **【文献标志码】** A

Resveratrol inhibits human gingival fibroblast inflammation induced by lipopolysaccharide through PI3K/AKT signaling pathway

WANG Yu-jiao¹, LI Si-yu¹, LI Jun-xiong¹, CHEN Hong-jun¹, FENG Jing-ze¹, QIU Ya², LI Li-hua³

(1. Department of Stomatology, North Sichuan Medical College; 2. Medicine Research Center; 3. Department of Stomatology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: To investigate the regulatory mechanism of Resveratrol (RSV) on Lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation of human gingival fibroblasts (HGFs) and its correlation with PI3K/AKT signaling pathway. **Methods:** Blank control group, RSV group, LPS group and LPS + RSV group were set up to evaluate cell viability by CCK-8 method. The blank control group, LPS group and LPS + RSV group were set up to determine the levels of inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, IL-8 and TNF- α by ELISA and analyze the expression levels of PI3K/AKT signaling pathway related proteins by Western blot. The blank control group, LPS group, LPS + RSV group, LPS + RSV + LY294002 group were set up to determine the levels of inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, IL-8 and TNF- α by ELISA and analyze the activation of PI3K/AKT signaling pathway by Western blot. **Results:** RSV was not toxic to HGFs. RSV down-regulated the levels of IL-1 β , IL-6, IL-8 and TNF- α in LPS induced HGFs inflammation. RSV induced inactivation of the PI3K/AKT signaling pathway. PI3K/AKT pathway inhibitor (LY294002) could further enhance the anti-inflammatory effect of RSV by down-regulating the expression of IL-1 β , IL-6, IL-8 and TNF- α . **Conclusion:** RSV can reduce Lps-induced inflammation of HGFs by inactivating PI3K/AKT signaling pathway.

【Key words】 Chronic periodontitis; Resveratrol; PI3K/AKT signaling pathway; Human gingival fibroblasts (HGFs)

慢性牙周炎, 是口腔最常见的疾病之一, 也是目前成年人牙齿脱落的主要原因^[1], 主要表现为龈下菌斑中的病原菌(例如牙龈卟啉单胞菌)导致的慢性炎症, 会导致软组织的破坏, 牙槽骨的吸收及牙齿的脱落^[2]。牙周炎发病机理不清楚, 防治难度较大, 目前, 中药或中药成分已经在包括牙周炎在内的

难治性疾病中进行尝试, 以期找到新的治疗策略。

牙龈卟啉单胞菌能够通过脂多糖及其产生的炎症细胞因子刺激宿主免疫反应^[3], 其中促炎细胞因子白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6、IL-8 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)已被证明是导致牙周组织破坏的重要的细胞因子^[4-5]。人牙

基金项目: 四川省南充市科技计划项目(20YFZJ0090); 四川省南充市战略合作科技专项项目(19SXHZ0078)

作者简介: 王玉娇(1992-), 女, 硕士研究生, 住院医师。E-mail: wyj753768@163.com

通讯作者: 李丽华。E-mail: angel_li77@163.com

龈成纤维细胞 (human gingival fibroblasts, HGFs) 主要存在于牙龈结缔组织中,在牙周组织的形成、再生、功能行使和修复中起着重要的作用^[6],不仅有较强的自我更新能力,而且有合成和降解胶原蛋白、弹力纤维等细胞外基质的功能^[7],由免疫细胞分泌的免疫因子调控,同时也会产生参与局部炎症的细胞因子^[8-9]。因此,抑制炎症对慢性牙周炎治疗至关重要。

白藜芦醇 (resveratrol, RSV) 是一种安全有效的抗牙周炎的天然多酚植物抗毒素,具有抗氧化、抗癌、抗炎等生物活性^[10-12],可通过下调 toll 样受体 (toll-like receptor, TLR) 信号改善糖尿病老鼠的实验性牙周炎和抑制牙龈上皮细胞受脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激后炎症^[13]。但是,RSV 在 LPS 刺激的体外人牙龈成纤维细胞中的功能和机制尚未明确,尤其是促进健康作用的基本模式仍待探讨。PI3K/AKT 信号通路主要由胞内磷脂酰肌醇激酶 (phosphatidylinositide 3-kinases, PI3K)、蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 组成,在细胞增殖、凋亡、肿瘤发生和转移以及癌症扩散中发挥关键作用,与慢性牙周炎及其他慢性炎症性疾病的发展相关^[14]。因此,本研究拟探讨 RSV 如何通过 PI3K/AKT 信号通路在 LPS 刺激的人牙龈成纤维细胞中发挥抗炎作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 白藜芦醇 (美国 Sigma 公司);人牙龈成纤维细胞株 (上海佳和科技生物有限公司);Dulbecco 改良 Eagle 培养基 (Dulbecco's modified eagle medium, DMEM) 培养基 (武汉普诺赛公司);胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) (索尔生物科技有限公司);放射免疫沉淀法裂解缓冲液 (radio immunoprecipitation assay lysis buffer, RIPA) (南京海克尔生物科技有限公司);二苯二酚酸 (bichinchoninic acid, BCA) 试剂盒 (上海易色医疗科技有限公司);PI3K、p-PI3K、AKT 和 p-AKT 抗体 (美国 Abcam 公司); β -actin 抗体 (武汉爱博泰克生物科技有限公司);牛血清白蛋白 (北京全式金生物技术有限公司);LY294002 (美国 Sigma 公司);增强型化学发光试剂 (enhanced chemiluminescence, ECL) 化学发光底物试剂盒 (广州赛国生物科技有限责任公司);IL-1 β 、IL-6、IL-8 及 TNF- α 含量测定试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。

1.1.2 仪器 蛋白电泳设备 (美国 Bio-Rad 公司);凝胶成像系统 (美国 Thermo Fisher 公司);细胞培养

箱 (美国 Thermo Fisher 公司);酶标仪 (美国 Thermo Fisher 公司);光学显微镜 (日本 OLYMPUS 公司);台式低温离心机 (美国 Thermo Fisher 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和处理 将人牙龈成纤维细胞株传代培养 5 代,制备成 4.0×10^4 个/mL 的细胞悬浮液,恒温箱过夜。取等量人牙龈成纤维细胞悬浮液接种于 6 孔板上培养,直到融合至约 80%,加入含有 FBS 的 DMEM 培养基继续培养。

1.2.2 细胞毒性分析 人牙龈成纤维细胞以 5×10^3 细胞/孔接种于 96 孔板内培养。设置空白对照组、RSV 组、LPS 组、LPS + RSV 组。对照组:不做任何处理。LPS 刺激组:加入牙龈卟啉单胞菌 LPS ($1 \mu\text{g}/\text{mL}$);RSV-80 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 组:加入 RSV ($80 \mu\text{mol}/\text{L}$);LPS + RSV 组:加入牙龈卟啉单胞菌 LPS ($1 \mu\text{g}/\text{mL}$) 和 RSV ($80 \mu\text{mol}/\text{L}$);继续培养 24 h。RSV 的浓度参考既往研究^[15-16]。然后以 10:1 的比例用 DMEM 培养基稀释 CCK-8 试剂,并在每孔加入 100 μL 上述稀释液,轻轻敲击培养板混匀,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 的 CO_2 孵箱中再培养 2.5 h。人牙龈成纤维细胞的生存能力通过细胞计数试剂盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8) 测定,具体方法参照说明书。通过利用酶标仪检测各组在 450 nm 处的吸光度从而获得各组的细胞活力。该试验重复 4 次。

1.2.3 酶联免疫吸附剂测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 人牙龈成纤维细胞接种于 24 孔板,密度为 2×10^5 /孔。实验一:设置空白对照组、LPS 组、LPS + RSV 组。对照组:不做任何处理。LPS 刺激组:加入牙龈卟啉单胞菌 LPS ($1 \mu\text{g}/\text{mL}$);LPS + RSV 组:加入牙龈卟啉单胞菌 LPS ($1 \mu\text{g}/\text{mL}$) 和 RSV ($80 \mu\text{mol}/\text{L}$);继续培养 30 min。实验二:设置空白对照组、LPS 组、LPS + RSV 组、LPS + RSV + LY294002 组。对照组:不做任何处理。LPS 刺激组:加入牙龈卟啉单胞菌 LPS ($1 \mu\text{g}/\text{mL}$);LPS + RSV 组:加入牙龈卟啉单胞菌 LPS ($1 \mu\text{g}/\text{mL}$) 和 RSV ($80 \mu\text{mol}/\text{L}$);LPS + RSV + LY294002 组:加入 RSV ($80 \mu\text{mol}/\text{L}$) 和 PI3K/AKT 信号通路抑制剂 (LY294002),继续培养 24 h。各组细胞培养上清液中 IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 的含量用 ELISA 试剂盒测定,具体方法参照说明书。然后将培养板用磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 洗涤 5 次,每孔加入 50 μL 生物素化抗体工作液,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 持续 20 min。如前述洗涤后每孔加入 100 μL 洗涤酶结合工作液置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 持续 10 min。而后每孔加入 100 μL 底物显色溶液,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光持续 15 min 后,每孔加 100 μL 停止液。吸光光度值在

450 nm和570 nm的将被酶标仪测定。平行试验3次。

1.2.4 Western Blot 分析蛋白表达水平

人牙龈成纤维细胞以 1×10^6 细胞/孔接种于6孔板上培养。实验一:设置空白对照组、LPS组、LPS+RSV组。对照组:不做任何处理。LPS刺激组:加入牙龈卟啉单胞菌 LPS ($1 \mu\text{g}/\text{mL}$);LPS+RSV组:加入牙龈卟啉单胞菌 LPS ($1 \mu\text{g}/\text{mL}$)和 RSV ($80 \mu\text{mol}/\text{L}$);继续培养30 min。实验二:设置空白对照组、LPS组、LPS+RSV组、LPS+RSV+LY294002组。对照组:不做任何处理。LPS刺激组:加入牙龈卟啉单胞菌 LPS ($1 \mu\text{g}/\text{mL}$);LPS+RSV组:加入牙龈卟啉单胞菌 LPS ($1 \mu\text{g}/\text{mL}$)和 RSV ($80 \mu\text{mol}/\text{L}$);LPS+RSV+LY294002组:加入 RSV ($80 \mu\text{mol}/\text{L}$)和 PI3K/AKT 信号通路抑制剂 (LY294002),继续培养30 min。然后分组收集细胞,进行 Western blot 实验分析 PI3K/AKT 信号通路激活情况。细胞裂解产物用 PBS 洗涤3次再添加1%苯甲基磺酰氟的 RIPA 缓冲液中以裂解得到蛋白质。BCA 测定试剂盒用于测定蛋白质浓度。在10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳中,在每个通道上装载等量的蛋白质 ($40 \mu\text{g}$),并与分子量标准 marker 一起电泳。随后,将这些蛋白质转移到聚偏氟乙烯 [poly(1,1-difluoroethylene), PVDF] 膜上,电流300 mA持续110 min。用10%脱脂奶粉封闭膜1 h并与相应的蛋白抗体或兔抗 β -actin 单克隆抗体孵育。然后把膜放在 HRP 山羊抗兔 IgG 中孵育。用凝胶图像处理系统分析光密度。随后,使用 ECL 系统对蛋白质条带进行可视化处理, β -actin 作为负载对照。以 β -actin 为细胞总蛋白内参,计算各组蛋白质的相对表达量。试验重复3次。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较使用单因素方差分析 (one-way analysis of variance, one-way ANOVA)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RSV 对牙龈卟啉单胞菌 LPS 刺激的人牙龈成纤维细胞活力的影响

LPS 刺激组、RSV- $80 \mu\text{mol}/\text{L}$ 组和 LPS+RSV 组处理人牙龈成纤维细胞,对细胞活力的影响与对照组相当,表明 RSV 对人牙龈成纤维细胞无毒性,并且作用方式为非特异性。见图1。

2.2 RSV 抑制牙龈卟啉单胞菌 LPS 诱导的人牙龈成纤维细胞的炎症

LPS 刺激导致人牙龈成纤维细胞中 IL- 1β 、IL-6、IL-8 和 TNF- α 增加;在 LPS 刺激的人牙龈成纤维细胞中, $80 \mu\text{mol}/\text{L}$ 的 RSV 抑制了促炎因子 IL- 1β 、IL-6、IL-8 和 TNF- α 的产生,组间比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图2。

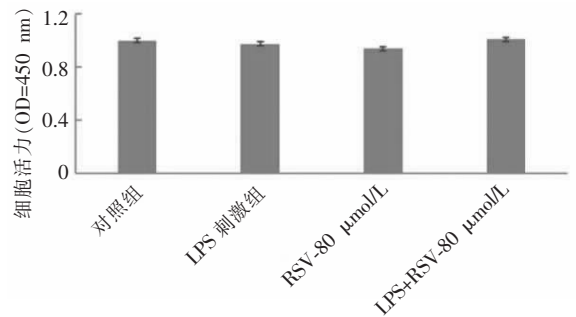


图1 RSV 对人牙龈成纤维细胞增殖能力的影响

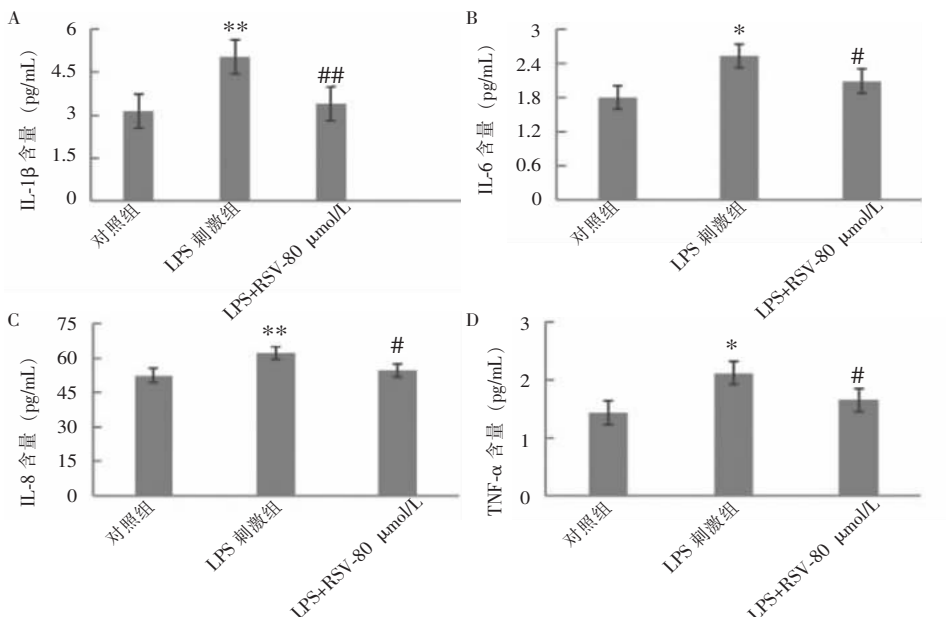


图2 RSV 处理可抑制人牙龈成纤维细胞的炎症反应

* $P < 0.05$,与对照组比;** $P < 0.01$,与对照组比;# $P < 0.05$,与LPS刺激组比;## $P < 0.01$,与LPS刺激组比。

2.3 RSV 抑制牙龈卟啉单胞菌 LPS 诱导下 PI3K/AKT 信号通路的激活

在人牙龈成纤维细胞中, LPS 刺激组 p-PI3K 和 p-AKT 表达水平均高于对照组 ($P < 0.05$)。80 $\mu\text{mol/L}$ RSV 处理 LPS 刺激的人牙龈成纤维细胞后, PI3K 和 AKT 的磷酸化水平降低, 然而 PI3K 和 AKT 的表达在 3 组中的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 3。

2.4 RSV 通过 PI3K/AKT 信号通路抑制炎症反应

在 LPS + RSV + LY294002 组中, LY294002 进一步降低了 PI3K 和 AKT 的磷酸化水平。ELISA 结果显示 80 $\mu\text{mol/L}$ RSV 导致 IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 TNF- α 表达下降。这一效应被 LY294002 增强, 即在 LPS + RSV + LY294002 组, PI3K/AKT 信号通路的抑制进一步降低了这些细胞因子水平。这些结果表明在 LPS 刺激的人牙龈成纤维细胞中, RSV 通过抑制 PI3K/AKT 信号通路来抑制炎症反应。见图 4 及图 5。

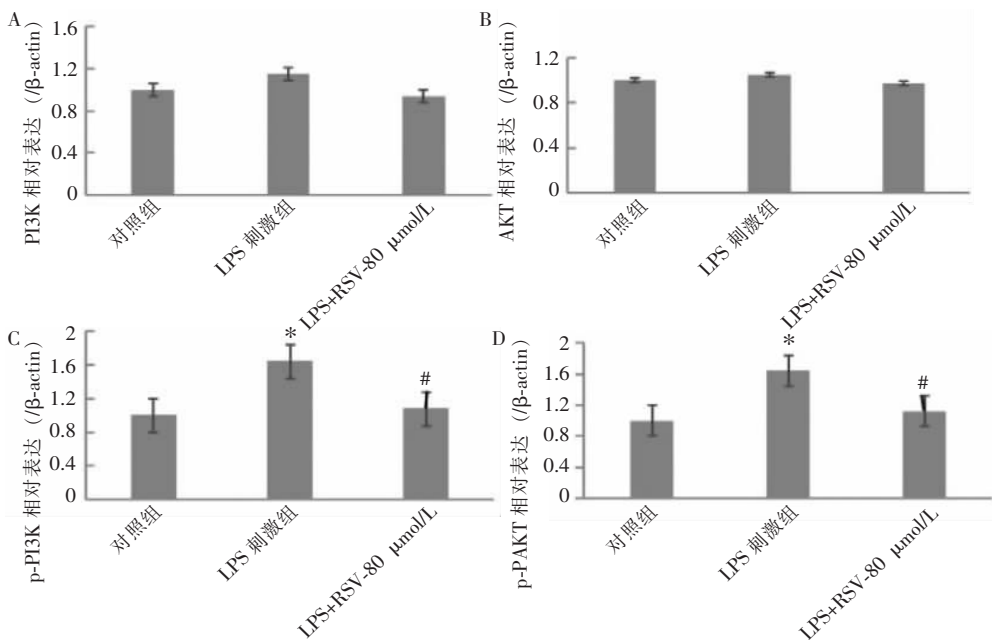


图 3 RSV 对 PI3K/AKT 信号通路的调控作用

* $P < 0.05$, 与对照组比; # $P < 0.05$, 与 LPS 组比。

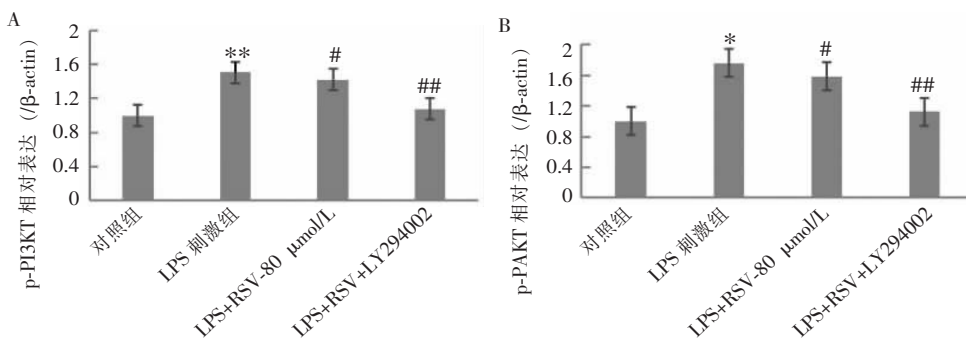
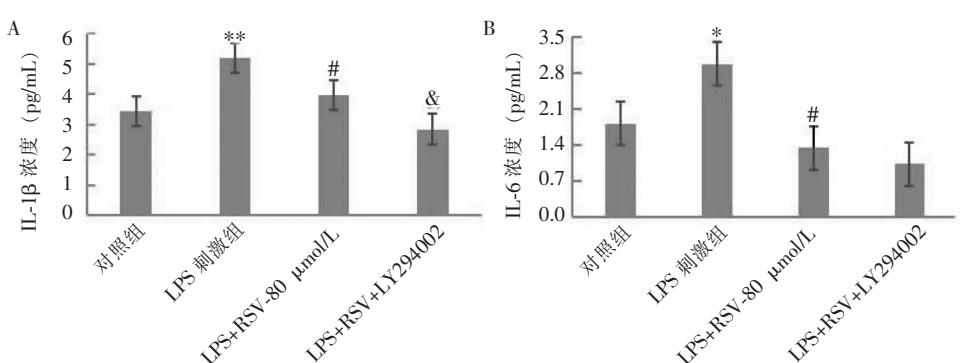


图 4 RSV 对 PI3K/AKT 信号通路的调控作用

* $P < 0.05$, 与对照组比; ** $P < 0.01$, 与对照组比; # $P < 0.05$, 与 LPS 组比较; ## $P < 0.01$, 与 LPS 组比较。



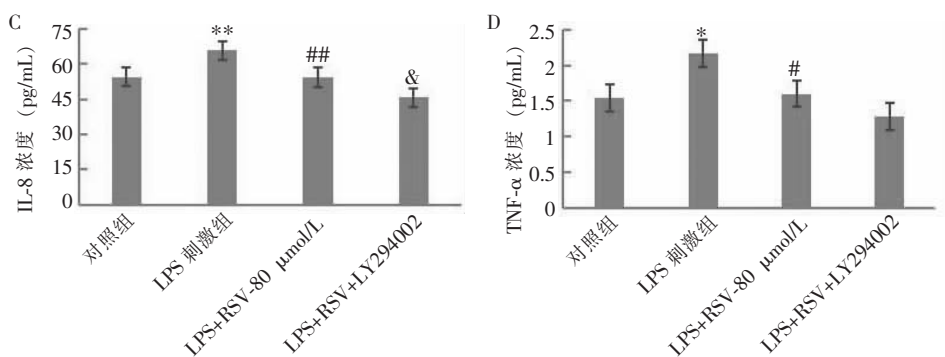


图5 LY294002 处理可增强 RSV 对 LPS 诱导的人牙龈成纤维细胞的炎症的抑制

* $P < 0.05$, 与对照组比; ** $P < 0.01$, 与对照组比; # $P < 0.05$, 与 LPS 组比较; ## $P < 0.01$, 与 LPS 组比较; & $P < 0.05$, 与 LPS+RSV-80 $\mu\text{mol/L}$ 组比较。

3 讨论

临床上牙周治疗主要通过洁治术、刮治术、根面平整术清除附着的牙菌斑,偶尔辅用抗生素以控制口腔微生物的形成。天然药物(中药)的有效成分低毒、高效,可抑制细菌耐药和感染,对慢性牙周炎治疗有益^[17]。本研究中,RSV 抑制促炎因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 表达进而调控 LPS 诱导的人牙龈成纤维细胞炎症反应。此外,本研究揭示了 RSV 通过抑制 PI3K/AKT 信号通路进而调节炎症反应。

RSV 是一种含有对称二苯代乙烯结构的非黄酮类多酚化合物,隶属于非甾体类天然抗氧化剂,可从葡萄皮、浆果和花生中提取,具有多种生物活性和药理作用,其中抗炎作用已被广泛验证^[18]。Park 等^[19]指出,RSV 通过抑制 NF- κB 在白细胞中的激活,从而抑制脂多糖诱导的内皮细胞粘附分子的表达和血管炎症。RSV 和水飞蓟素的结合能够显著增强成纤维细胞的生存能力,并且 RSV 能抑制 LPS 诱导的 IL-6 和 IL-8 表达^[20]。RSV 能减弱金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和牙龈卟啉单胞菌的生长和毒力因子的表达^[21]。在实验性牙周炎大鼠模型中,RSV 导致了牙槽骨再吸收和降低 IL-17 表达^[22]。RSV 还可通过 SIRT1/FOXO3A 信号通路和 UNX2 基因的表达有效促进骨生成^[23]。本研究证明 RSV 处理对于人牙龈成纤维细胞的生存能力没有明显影响,并且能够抑制 LPS 导致的人牙龈成纤维细胞中 IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 TNF- α 的升高,与前人研究结论相符合。

Tsai 等^[24]表明 RSV 通过阻断 PI3K/AKT 信号通路抑制癌细胞的增殖和侵袭。PI3K/AKT 信号通路是牙周炎治疗的关键介质。在牙龈上皮细胞中,牙龈卟啉单胞菌通过调节 PI3K、AKT 以及 AKT 下游蛋白质 GSK3、mTOR 和 Bad 的磷酸化水平,影响

细胞存活和免疫反应^[25]。牙龈卟啉单胞菌的 LPS 可通过 PI3K/AKT 信号通路介导人牙龈成纤维细胞的自吞噬^[26]。此外,大车前苷、咖啡酸苯乙基酯、杜鹃素等均能通过 PI3K/AKT 信号通路来抑制 LPS 刺激人牙龈成纤维细胞产生的炎症反应^[27]。在实验性牙周病模型中,甲磺双环脲通过下调 PI3K 和 AKT 降低髓过氧化物酶活性和 MDA、IL-1 β 和 TNF- α 的水平^[28]。本研究结果也表明 LPS 能够刺激人牙龈成纤维细胞中 PI3K/AKT 信号通路的激活,而 RSV 可抑制 PI3K/AKT 信号通路的激活,PI3K/AKT 信号通路抑制剂(LY294002)处理后,进一步降低了 IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 TNF- α 的表达,提示 RSV 通过抑制 PI3K/AKT 信号通路来减轻炎症伤害。

综上所述,在牙龈卟啉单胞菌 LPS 诱导的人牙龈成纤维细胞炎症中,RSV 通过抑制 PI3K/AKT 信号通路激活,降低炎症因子水平,为牙周炎的治疗提供了理论依据及新的方向。

参考文献

- [1] Slots J. Periodontitis: Facts, fallacies and the future[J]. Periodontology, 2017, 2000, 75(1): 7-23.
- [2] Rovai ES, Souto ML, Ganhito JA, et al. Efficacy of local antimicrobials in the non-surgical treatment of patients with periodontitis and diabetes: A systematic review[J]. Journal of Periodontology, 2016, 87(12): 1406-1417.
- [3] Zenobia C, Hajishengallis G. Porphyromonas gingivalis virulence factors involved in subversion of leukocytes and microbial dysbiosis[J]. Virulence, 2015, 6(3): 236-243.
- [4] Zheng XY, Mao CY, Qiao H, et al. Plumbagin suppresses chronic periodontitis in rats via down-regulation of TNF- α , IL-1 β and IL-6 expression[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2017, 38(8): 1150-1160.
- [5] Noh MK, Jung M, Kim SH, et al. Assessment of IL-6, IL-8 and TNF- α levels in the gingival tissue of patients with periodontitis[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2013, 6(3): 847-851.
- [6] Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan AS. Molecular and cell biology of the gingiva[J]. Periodontology, 2000, 24: 28-55.
- [7] Hoang AM, Chen D, Oates TW, et al. Development and character-

- ization of a transformed human periodontal ligament cell line[J]. Journal of Periodontology, 1997, 6(11):1054-1062.
- [8] Shang L, Wang T, Tong D, *et al.* Prolyl hydroxylases positively regulated LPS-induced inflammation in human gingival fibroblasts via TLR4/MyD88-mediated AKT/NF- κ B and MAPK pathways [J]. Cell proliferation, 2018, 51(6):e12516.
- [9] Naruishi K, Nagata T. Biological effects of interleukin-6 on gingival fibroblasts: Cytokine regulation in periodontitis[J]. Journal of Cellular Physiology, 2018, 233(9):6393-6400.
- [10] Sánchez-Melgar A, Albasanz JL, Guixà-González R, *et al.* The antioxidant resveratrol acts as a non-selective adenosine receptor agonist[J]. Free Radical Biology & Medicine, 2019, 135:261-273.
- [11] Yang L, Zhang Z, Zhuo Y, *et al.* Resveratrol alleviates sepsis-induced acute lung injury by suppressing inflammation and apoptosis of alveolar macrophage cells[J]. American Journal of Translational Research, 2018, 10(7):1961-1975.
- [12] Yousef M, Vlachogiannis IA, Tsiani E. Effects of resveratrol against lung cancer: In vitro and in vivo studies[J]. Nutrients, 2017, 9(11):1231.
- [13] Zhen L, Fan DS, Zhang Y, *et al.* Resveratrol ameliorates experimental periodontitis in diabetic mice through negative regulation of TLR4 signaling[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2015, 36(2):221-228.
- [14] Lei S, Su W. Hyperglycemia-induced oxidative stress abrogates remifentanyl preconditioning-mediated cardioprotection in diabetic rats by impairing caveolin-3-modulated PI3K/Akt and JAK2/STAT3 signaling[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, Doi:10.1155/2019/9836302.
- [15] Zhang Z, Liu Z, Chen J, *et al.* Resveratrol induces autophagic apoptosis via the lysosomal cathepsin D pathway in human drug-resistant K562/ADM leukemia cells[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2018, 15(3):3012-3019.
- [16] Núñez MJ, Novío S, Balboa J, *et al.* Effects of resveratrol on expression of vascular endothelial growth factor in human gingival fibroblasts stimulated by periodontal pathogens[J]. Acta Odontologica Scandinavica, 2010, 68(4):239-247.
- [17] Li X, Yu C, Hu Y, *et al.* New application of Psoralen and Angelicin on periodontitis with anti-bacterial, anti-inflammatory, and osteogenesis effects[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2018, 8:178.
- [18] Pangani R, Sahni JK, Ali J, *et al.* Resveratrol: Review on therapeutic potential and recent advances in drug delivery[J]. Expert Opinion on Drug Delivery, 2014, 11(8):1285-1298.
- [19] Park HJ, Jeong SK, Kim SR, *et al.* Resveratrol inhibits porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-induced endothelial adhesion molecule expression by suppressing NF kappaB activation [J]. Archives of Pharmacal Research, 2009, 32(4):583-591.
- [20] Shahidi M, Vaziri F, Haerian A, *et al.* Proliferative and anti-inflammatory effects of resveratrol and silymarin on human gingival fibroblasts: A view to the future [J]. Journal of Dentistry (Tehran, Iran), 2017, 14(4):203-211.
- [21] Kugaji MS, Kumbar VM, Peram MR, *et al.* Effect of resveratrol on biofilm formation and virulence factor gene expression of porphyromonas gingivalis in periodontal disease [J]. Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica, 2019, 127(4):187-195.
- [22] Casati MZ, Algayer C, Geisa CDC, *et al.* Resveratrol decreases periodontal breakdown and modulates local levels of cytokines during periodontitis in rats[J]. Journal of Periodontology, 2013, 84(10):e58-e64.
- [23] Tseng PC, Hou SM, Chen RJ, *et al.* Resveratrol promotes osteogenesis of human mesenchymal stem cells by upregulating RUNX2 gene expression via the SIRT1/FOXO3A axis[J]. Journal of Bone and Mineral Research, 2011, 26(10):2552-2563.
- [24] Tsai JH, Hsu LS, Lin CL, *et al.* 3,5,4'-Trimethoxystilbene, a natural methoxylated analog of resveratrol, inhibits breast cancer cell invasiveness by downregulation of PI3K/Akt and Wnt/ β -catenin signaling cascades and reversal of epithelial-mesenchymal transition [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2013, 272(3):746-756.
- [25] Nakayama M, Inoue T, Naito M, *et al.* Attenuation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway by Porphyromonas gingivalis gingipains RgpA, RgpB, and Kgp [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2015, 290(8):5190-5202.
- [26] Liu J, Wang X, Zheng M, *et al.* Lipopolysaccharide from porphyromonas gingivalis promotes autophagy of human gingival fibroblasts through the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. Life sciences, 2018, 211:133-139.
- [27] Liu F, Huang X, He JJ, *et al.* Plantamajoside attenuates inflammatory response in LPS stimulated human gingival fibroblasts by inhibiting PI3K/AKT signaling pathway [J]. Microbial pathogenesis, 2019, 127:208-211.
- [28] Araújo AA, Morais HB. Gliclazide reduced oxidative stress, inflammation, and bone loss in an experimental periodontal disease model [J]. Journal of Applied Oral Science, 2019, 27:e20180211.

(收稿日期:2022-01-19

修回日期:2022-03-01)