

晚期糖基化终末产物对骨组织生物力学影响的研究进展

毛岩, 杨肖*, 孙联文*

(北京航空航天大学 生物与医学工程学院, 生物力学与力生物学教育部重点实验室, 北京市生物医学工程高精尖创新中心, 北京 100083)

摘要:晚期糖基化终末产物(advanced glycation end-products, AGEs)是大分子物质的游离氨基与还原糖之间发生的非酶促反应产物。AGEs在骨组织中积聚会通过与其骨组织细胞表面受体的结合改变骨组织细胞活性及功能,引起骨重建过程异常。AGEs积聚还会改变骨胶原原有结构及矿物质沉积,影响骨组织的微观力学性能,造成骨强度及韧性的降低,增加骨折风险,导致骨疾病的发生,危害人体健康。概述 AGEs 的产生原因及检测方法,并从微观和宏观层面综述 AGEs 在生物体骨组织内积聚对骨生物力学影响的研究进展,为临床上对骨疾病的早期诊断与治疗提供参考。

关键词:晚期糖基化终末产物; 骨组织; 胶原; 生物力学

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2021.05.023

Progress in Advanced Glycation End-Products Effects on Biomechanics of Bone Tissues

MAO Yan, YANG Xiao*, SUN Lianwen*

(Beijing Advanced Innovation Center for Biomedical Engineering, Key Laboratory for Biomechanics and Mechanobiology of Ministry of Education, School of Biological Science and Medical Engineering, Beihang University, Beijing 100083, China)

Abstract: Advanced glycation end-products (AGEs) are the products of non-enzymatic reactions between free amino groups of macromolecules and reducing sugars. AGEs accumulation in bone tissues changes the activity and function of bone cells by binding to their surface receptors, causing abnormalities in the process of bone remodeling. AGEs accumulation can also change the original structure and mineral deposition of bone collagen, affect the micro-mechanical properties of bone tissues, and further reduce bone strength and toughness, increase the bone fracture risk, which will lead to bone diseases and do great harm to human health. This article summarized the causes of AGEs and their detection methods, and reviewed previous studies about the effects of AGEs accumulation on bone biomechanics at micro and macro levels, so as to provide references for the early diagnosis and treatment of bone diseases in clinic.

Key words: advanced glycation end-products (AGEs); bone tissues; collagen; biomechanics

早在1913年,路易斯·卡米勒·美拉德(Louis Camille Maillard)首次观察到氨基酸和简单碳水化合物之间的非酶褐变反应,这一反应而后被命名为美拉德反应(Maillard reaction)。直至1995年,这一反应所生成的化合物才被明确命名为晚期糖基化终末产物(advanced glycation end-products, AGEs),其定义为:在非酶促条件下,由蛋白质、氨基酸、脂类或核酸等大分子物质的游离氨基与还原糖(葡萄糖、果糖、戊糖等)的醛基经缩合、重排、裂解、氧化修饰后产生的一组稳定的终末产物^[1]。Neeper等^[2]研究认为,AGEs有对应的细胞受体(receptor for advanced glycation end-products, RAGE)与之识别,RAGE主要分布于内皮细胞、平滑肌细胞、单核细胞、巨噬细胞、肾系膜细胞,以及骨组织细胞。研究表明,在I型糖尿病(type 1 diabetes, T1D)患者发病前,患者的RAGE表达明显增加,活性氧和部分细胞因子的生成增加,这与包括T1D在内多种慢性病的发病有关^[3]。

AGEs是一种结构多样性的化合物,分为体内产生的内源性AGEs及体外摄入的外源性AGEs。胶原蛋白形成AGEs的方式也可分为两类:分子间交联修饰和侧链修饰。分子间交联发生在两相邻分子间,部分交联结构(如葡萄糖、核糖与赖氨酸或精氨酸的结合)会产生自发荧光特性,而侧链修饰形成的AGEs通常没有自发荧光特性。依据AGEs的以上特性又可将其分成3类:①具有荧光特性且结构上相互交联的AGEs,如赖氨酸、精氨酸与戊糖反应产物——戊糖素(Pentosidine)、两个赖氨酸残基和葡萄糖经过一系列反应的产物——交联素(crossline)、一种精氨酸与嘧啶反应产物——Argpyrimidine、一种葡萄糖与赖氨酸、精氨酸残基反应产生的AGEs——Glucosepane;②不具备荧光性但结构上相互交联的AGEs,如甲基甘氨酸衍生赖氨酸二聚体(methylgly oxalderived lysine dimer, MOLD)、草酸衍生赖氨酸二聚体(glyoxalderived lysine dimer, GOLD);③不具备荧光性且结构为侧链修饰的AGEs,如羧甲基赖氨酸(Ne-carboxymethyl lysine, CML)、羧乙基赖氨酸(Ne-carboxyethyl lysine, CEL)和吡咯素(pyrraline)。

根据AGEs的特性可利用不同方法进行检测。具有自发荧光的AGEs可利用荧光分光光度法;对

于无荧光特性的AGEs则可利用免疫荧光法或酶联免疫吸附测定法。根据AGEs具有特定的化学以及物理性质,还可利用高效液相色谱分离某种AGEs(如戊糖素)并对其含量进行精确定量。除以上常见方法外,最近还有报道利用傅里叶变换红外成像(Fourier transform infrared spectrophotometer, FTIR)方法可在定量检测骨组织中戊糖素的同时,生成由戊糖素光谱变化形成的二维空间分布图像^[4]。

AGEs最早被认为易在代谢缓慢的组织中形成,且其含量的增加和衰老密切相关。而后AGEs被发现在肾病、糖尿病、关节炎、骨质疏松等疾病的发生发展中起作用。在骨疾病的发生过程中,AGEs可通过改变骨基质内胶原蛋白修饰或者干扰骨组织细胞的正常生理功能而影响骨强度、韧性、刚度、黏弹性等力学性能。本文围绕AGEs对骨组织力学性能的影响研究进行综述。

1 AGEs在微观层次上对骨组织生物力学的影响

骨组织不仅可以作为机体的力学支撑,也具有活跃的代谢功能。因此,骨组织在整个生命周期处于成骨和破骨活动的动态平衡中,骨对外力刺激的适应能力及其力学特性主要取决于其结构中矿物质、有机物和水等因素的质量分布及空间排列^[5]。其中,矿物质含量决定着骨强度,而胶原纤维作为骨基质中的主要有机物则决定着骨韧性,并为类骨质提供矿化位点^[6]。当AGEs在骨基质中积聚时,一方面会通过诱导胶原蛋白交联增加进而影响骨基质胶原性能及矿化沉积,另一方面则会引起RAGE表达量明显增加,通过与RAGE的协同作用影响骨组织内各类细胞(如成骨细胞、骨细胞、软骨细胞等)的活性及功能,进而阻碍骨的正常代谢过程,最终对骨重建过程及骨力学性能产生不利影响。

1.1 AGEs对骨组织细胞的影响

细胞内外均可能发生糖基化而形成AGEs。在细胞外,蛋白质的糖基化主要由葡萄糖引起。在细胞内,则由果糖、6-磷酸葡萄糖、3-磷酸葡萄糖引起,并且糖基化更为迅速^[7]。研究表明,成骨细胞受细胞内糖基化影响后会降低成骨细胞中I型胶原(collagen type I, Col I)基因的表达,上调核因子

κ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的表达,并抑制成骨细胞碱性磷酸酶活性和骨钙素的分泌,导致细胞周期阻滞,坏死细胞增多,成骨细胞的成骨潜能被抑制从而导致骨量减少^[8-9]。AGEs还通过干扰Wnt/ β -catenin通路抑制大鼠骨髓间充质干细胞的增殖,且AGEs与RAGE结合后抑制大鼠骨髓间充质干细胞的成骨向分化^[10]。AGEs积聚还会促进骨细胞中转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor A, VEGF-A)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)及硬化蛋白的表达,诱导骨细胞凋亡,提高破骨细胞活性,进而加速骨吸收,影响骨重建过程^[11]。然而,目前关于AGEs对破骨细胞的直接影响研究尚存在争议。部分研究认为,AGEs会诱导破骨细胞骨吸收功能增强^[12];但也有研究则认为,AGEs会抑制破骨细胞活性^[13]。因此,在微观层面上研究AGEs对骨组织的影响时,应综合考虑其对各类骨组织细胞的作用。

此外,在软骨中AGEs含量的增加不仅可以导致软骨细胞释放促炎介质一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)和环氧化酶(cyclooxygenase2, COX2)、使细胞合成II型胶原蛋白和蛋白聚糖的能力下降、对细胞外基质的分解代谢活动增强,还会引起基质变硬,使软骨细胞对基底变形感知下降,最终影响软骨修复过程^[14]。

1.2 AGEs对骨组织中胶原的影响

I型胶原是骨组织内最主要的胶原类型,占比约为70%,不仅充当细胞和细胞外基质生物分子附着的结构框架,还维持着结缔组织的拉伸强度,是骨组织力学特性的主要影响因素之一。胶原分子之间和胶原纤维之间可通过酶或非酶作用形成交联。酶交联只能在胶原分子特定位点上形成,数量有限;而AGEs的非酶交联则可在多个胶原分子位点形成,并联结不同的胶原蛋白分子或纤维。因此,在衰老或其他病理条件下,非酶交联不仅数量增加较快,还会破坏胶原纤维原始结构,从而对骨组织抗拉能力产生影响^[15]。

由于骨组织中的胶原分子生命周期较长,相比其他组织(如肌肉)更易产生AGEs交联。研究表

明,当骨组织AGEs水平明显增加时,会导致胶原纤维堆积密度增加,同时限制了胶原纤维间的滑动,使得骨脆性增加,骨强度下降,进而影响了整体骨力学性能^[16]。Collier等^[17]研究发现,Glucosepane和Dogdic这两种AGEs的存在使胶原分子中低应变域的拉伸及侧向弹性模量分别增加了3.0%~8.5%和2.9%~60.3%,说明AGEs的生成会在分子水平上增加胶原的弹性模量。Poundarik等^[18]研究表明,AGEs积聚损害胶原纤维的能量消散能力。Wang等^[19]等发现,随着非酶交联的增加,骨组织中脱矿胶原的最大断裂应力显著降低,并进一步影响骨的韧性。而Carriero等^[20]对成骨不全症小鼠股骨样本研究发现,由于稳定酶促交联的减少和非酶促交联的增加,相较正常骨胶原其可塑性变差,进而在组织水平上造成股骨韧性的降低。

此外,AGEs积聚还会使软骨内胶原网状结构弹性下降,软骨胶原蛋白基质硬度和脆性增加。Verzijl等^[21]发现,人体关节软骨内胶原网络的瞬时变形(instantaneous deformation, ID)与AGEs水平呈高度负相关($r=-0.81$, $P<0.0001$),提示AGEs积聚会增加软骨内胶原网络的刚度。McGann等^[22]发现,AGEs交联后的牛膝关节软骨卸载刚度相比对照组增加了44%。然而AGEs的侧链修饰形式则更普遍地存在于生物体内,例如CML在人体骨骼中含量是戊糖素的40~100倍。以往研究认为,尽管在骨组织中存在CML和CEL等侧链AGEs,但这种形式的AGEs并不会直接影响骨胶原的力学性能,而可能会通过影响骨组织细胞与基质的相互作用及细胞功能来影响骨重建过程^[23]。然而Goldberga等^[24]在研究大鼠尾腱中胶原分子构象时提出相反观点,认为侧链AGEs修饰会导致胶原分子在原纤维中排列紊乱,造成胶原分子柔性区域的错位,引起胶原纤维硬化,从而影响其力学性能。但这一观点仍需进一步开展力学实验加以验证。

1.3 AGEs对骨组织中矿物质沉积的影响

骨基质中的胶原纤维为矿物质的掺入和生长提供了框架,而矿物质沉积会使骨组织产生较高屈服应力,是整体骨强度的主要决定因素,但矿化程度过高也会增加骨脆性及骨折风险^[25]。目前研究已经证实,骨基质内AGEs积聚会对矿物质沉积产生影响,但由于实验对象和条件的不同,关于这一

影响的研究尚存在争议。Odetti 等^[26]发现,在不同年龄段健康人的皮质骨样本中,戊糖素水平与骨密度及矿化作用呈负相关($r = -0.274, P < 0.01$)。Aoki 等^[27]通过实验证明,腺嘌呤诱导大鼠的股骨松质骨出现了 AGEs 积聚,并导致胶原纤维结构异常和严重的矿化障碍。然而 Farlay 等^[25]使用定量数字化微放射成像法测量骨组织矿化程度,结果显示,发生低能骨折(一种能量耗散较少的骨折,如扭转骨折)的 I 型糖尿病患者的骨小梁矿化程度及其中的戊糖素含量显著高于健康人。

综上所述,AGEs 积聚改变骨组织细胞功能,影响骨组织的有机物及矿化基质的微观力学性能。

2 AGEs 在宏观层次上对骨与关节生物力学的影响

研究 AGEs 对骨组织力学性能的影响可为临床评估老年性或疾病所致的骨折风险提供支持。AGEs 的积聚会引起骨强度和骨韧性下降,导致骨发生脆性微损伤,极易发生骨折,同时还增加了骨在较低应变水平(如跌倒)冲击下的断裂风险^[28]。除强度及韧性外,AGEs 对骨力学性能的影响还具体体现在对整骨或皮质骨/松质骨刚度、硬度、延展性、黏弹性等方面的影响。Ganeko 等^[5]对利用富含甲硫氨酸的食物喂食家兔使其骨基质中非酶交联增加,发现实验组的兔股骨骨折抵抗力显著下降。Tobe 等^[29]研究发现,X 射线会诱导胶原基质中酶促交联减少及 AGEs 增加,使得糖基化牙本质受恒定力作用时发生明显蠕变,且在应力卸载后应变恢复能力变差。Vashishth 等^[30]对体外糖基化的牛皮质骨进行力学性能测试发现,AGEs 积聚可能对皮质骨黏弹性行为产生不利影响,表现为切割模量增加,损伤分数降低,这可能是导致骨组织整体韧性丧失的原因之一。Tang 等^[31]对体外核糖基化的人体股骨进行四点弯曲实验,发现与对照组相比,单个小梁刚度损失和松质骨损伤率均显著增加,表明松质骨易受非酶交联的影响,从而增加其骨折倾向。Hernandez 等^[32]还发现,人的胸骨基质中戊糖素的含量与骨小梁最终应变呈负相关,提示非酶交联会降低骨小梁的结构延展性。Lamya 等^[33]研究发现,与非糖尿病患者相比,II 型糖尿病(type 2 diabetes, T2D)患者的糖化血红蛋白(glycosylated

hemoglobin, HbA1c)水平更高,T2D 组的股骨屈服应力往往低于非糖尿病组,而且血清与股骨中 AGEs 的含量呈正相关。

AGEs 的积累还会影响关节软骨的力学性能。Verzi 等^[34]发现,AGEs 积聚会造成软骨刚度的增加,进而增加关节损伤的风险。Moshtagh 等^[14]对 L-苏糖处理的褐变软骨样本进行力学测试,发现褐变软骨中 AGEs 积聚使其硬度增加了 3 倍以上,导致软骨基质对力学损伤的敏感性增加,更易造成软骨损伤。

此外,不同类型、不同年龄骨中 AGEs 水平不同,其积聚可能与骨形成率和去除率有关,且松质骨和皮质骨重塑率的差异会影响 AGEs 积聚程度^[35]。Karim 等^[35]发现,不同年龄段人体骨样本中松质骨 AGEs 含量显著大于皮质骨,且在体外糖基化实验中松质骨相比皮质骨更容易发生非酶交联。Sroga 等^[36]实验也表明,无论是葡萄糖基化还是核糖基化,人股骨样本中松质骨内的 AGEs 含量均高于皮质骨。然而老年人皮质骨中 AGEs 水平相较年轻人更高,但松质骨中 AGEs 水平与年龄无关,这可能与老龄化皮质骨中矿物含量的减少、孔隙率增加有关。

3 AGEs 在骨与关节疾病中的作用

研究发现,AGEs 参与多种骨疾病的发生发展过程,包括骨质疏松、骨关节炎(osteoarthritis, OA)以及股骨头坏死等。

骨质疏松是一种系统性骨疾病,临床主要表现为骨量损失,骨强度下降,骨脆性增加,极易诱发骨折等。由于 AGEs 会在老龄化及糖尿病患者骨组织中发生显著积聚,故 AGEs 可能是糖尿病和老年性骨质疏松的重要致病因素。Hein 等^[37-38]研究发现,骨质疏松患者血清中的戊糖素以及 CML 水平明显高于健康对照组;且骨质疏松症患者髂嵴骨活检标本中存在咪唑酮(imidazolone)和 CML 这两种 AGEs,AGEs 含量与患者年龄正相关,与骨表面成骨细胞覆盖率显著负相关,提示 AGEs 干扰了骨质疏松患者的骨形成过程。此外,本课题组研究发现,后肢去负荷大鼠的股骨发生废用性骨质疏松,且与骨组织中戊糖素水平升高有关^[39]。AGEs 不仅参与糖尿病及老年性骨质疏松的发生过程,还可能是其

他类型骨质疏松的发病机理之一。

AGEs除了参与与骨质疏松的发生发展过程以外,还可能与其他骨疾病有联系。原发性OA多见于老年患者,而AGEs也会在OA患者软骨中发生积聚。Groot等^[40]切断幼犬前腿骨关节的前交叉韧带并向关节腔内注射核糖,利用在体实验证明软骨基质内AGEs水平升高是OA发生的重要因素。Toshio等^[41]发现,类风湿性关节炎和OA患者的关节腔滑膜液中含有戊糖素,且和血浆中戊糖素水平呈正相关。Schwab等^[42]发现,健康人关节中CML免疫反应性(immunoreactivity)仅存在于浅层软骨细胞外基质,而在OA患者中CML免疫反应性则存在于软骨细胞外基质、钙化的软骨细胞、骨下骨骨细胞及其基质中,提示CML积聚可能是OA基质损伤的原因之一。Handl等^[43]还发现,青年OA患者的膝关节软骨中AGEs含量也显著增加,这对半月板病变或前交叉韧带断裂的早期诊断有一定参考意义。此外,股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH)是关节骨科中常见的难治性、致残性疾病^[44]。庞凤祥等^[45]实验结果表明,血液中AGEs水平会随着ONFH患者的分期进展而升高,并且血液中AGEs水平超过2.419 mg/L可能为塌陷的征兆,提示AGEs可能作为临床预测股骨头塌陷的参考指标之一。

目前,使用通过抑制AGEs的生成来治疗相关疾病的研究也已展开。李业琼等^[46]研究表明,二甲双胍(metformin, MET)可减少AGEs在糖尿病大鼠肾组织的积累,并下调糖尿病大鼠肾组织RAGE mRNA的过度表达。Campbell等^[47]对糖尿病大鼠的实验结果表明,12周胰岛素治疗对大鼠骨组织中AGEs水平和皮质骨空隙率没有显著影响,也不能改变骨组织的力学性能。然而,经过胰岛素治疗的大鼠血糖和糖化血红蛋白含量均降低。研究人员据此推测,更长时间的胰岛素治疗可降低骨组织AGEs含量和改善骨的力学性能。

4 结论

AGEs可以通过改变骨组织细胞功能而影响骨重建过程,导致骨量损失,并通过改变骨微观结构力学性能使得骨脆性增加,韧性及强度降低,骨折的风险升高。因此,AGEs积聚是许多骨疾病的重

要致病因素之一,研究AGEs与骨组织生物力学性能的关系在临床上对骨疾病的预防、诊断及治疗方面具有重要意义。

参考文献:

- [1] BROWNLEE M. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging [J]. *Annurev Med*, 1995, 46: 223-234.
- [2] NEEPER M, SCHMIDT AM, BRETT J, et al. Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins [J]. *J Biol Chem*, 1992, 267(21): 14998-14504.
- [3] LE BAGGE S, FOTHERINGHAM AK, LEUNG SS, et al. Targeting the receptor for advanced glycation end products (RAGE) in type 1 diabetes [J]. *Med Res Rev*, 2020, 40(4): 1200-1219.
- [4] SCHMIDT FN, ZIMMERMANN EA, CAMPBELL GM, et al. Assessment of collagen quality associated with non-enzymatic cross-links in human bone using Fourier-transform infrared imaging [J]. *Bone*, 2017, 97: 243-251.
- [5] GANEKO K, MASAKI C, SHIBATA Y, et al. Bone aging by advanced glycation end products: A multiscale mechanical analysis [J]. *J Dent Res*, 2015, 94(12): 1684-1690.
- [6] BANK RA, KRIKKEN M, BEEKMAN B, et al. A simplified measurement of degraded collagen in tissues: Application in healthy, fibrillated and osteoarthritic cartilage [J]. *Matrix Biol*, 1997, 16(5): 233-243.
- [7] LING X, SAKASHITA N, TAKEYA M, et al. Immunohistochemical distribution and subcellular localization of three distinct specific molecular structures of advanced glycation end products in human tissues [J]. *Lab Invest*, 1998, 78(12): 1591-1606.
- [8] FRANKE S, RUSTER C, PESTER J, et al. Advanced glycation end products affect growth and function of osteoblasts [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2011, 29(4): 650-660.
- [9] KATAYAMA Y, AKATSU T, YAMAMOTO M, et al. Role of nonenzymatic glycosylation of type I collagen in diabetic osteopenia [J]. *J Bone Miner Res*, 1996, 11(7): 931-937.
- [10] 张燕. AGEs对大鼠BMSCs成骨分化过程中LRP5、Col-1mRNA表达的影响[D]. 太原: 山西医科大学, 2016.
- [11] NOTSU M, KANAZAWA I, TAKENO A, et al. Advanced glycation end products (ages) increases apoptosis and the expression of sclerostin by stimulating tgf-beta expression and secretion in osteocyte-like MLO-Y4-A2 Cells [J]. *Calcified Tissue Int*, 2017, 100(4): 402-411.
- [12] DONG XN, QIN A, XU J, et al. *In situ* accumulation of advanced glycation endproducts (AGEs) in bone matrix

- and its correlation with osteoclastic bone resorption [J]. Bone, 2011, 49(2): 174-183.
- [13] VALCOURT U, MERLE B, GINEYTS E, *et al.* Non-enzymatic glycation of bone collagen modifies osteoclastic activity and differentiation [J]. J Biol Chem, 2007, 282(8): 5691-5703.
- [14] MOSHTAGH PR, KORTHAGEN NM, RIJEN MHP, *et al.* Effects of non-enzymatic glycation on the micro- and nano-mechanics of articular cartilage [J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2018, 77: 551-556.
- [15] GREVEN WL, SMIT JM, ROMMES JH, *et al.* Accumulation of advanced glycation end (AGEs) products in intensive care patients: An observational, prospective study [J]. BMC Clin Pathol, 2010, 10(1): 4-5.
- [16] VIGUET-CARRIN S, GARNERO P, DELMAS PD. The role of collagen in bone strength [J]. Osteoporosis Int, 2006, 17(3): 319-336.
- [17] COLLIER TA, NASH A, BIRCH HL, *et al.* Effect on the mechanical properties of type I collagen of intra-molecular lysine-arginine derived advanced glycation end-product cross-linking [J]. J Biomech, 2018, 67: 55-61.
- [18] POUNDARIK A, WU P, EVIS Z, *et al.* A direct role of collagen glycation in bone fracture [J]. J Mech Behav Biomed, 2015, 52: 120-130.
- [19] WANG X, SHEN X, LI X, *et al.* Age-related changes in the collagen network and toughness of bone [J]. Bone, 2002, 31(1): 1-7.
- [20] CARRIERO A, ZIMMERMANN E, PALUSZNY A. How tough is brittle bone? Investigating osteogenesis imperfecta in mouse bone [J]. J Bone Miner Res, 2014, 29(6): 1392-1393.
- [21] VERZIJL N, DEGROOT J, BEN Z C, *et al.* Crosslinking by advanced glycation end products increases the stiffness of the collagen network in human articular cartilage: A possible mechanism through which age is a risk factor for osteoarthritis [J]. Arthritis Rheum, 2002, 46(1): 114-116.
- [22] MCGANN ME, BONITSKY CM, OVAERT TC, *et al.* The effect of collagen crosslinking on the biphasic poroviscoelastic cartilage properties determined from a semi-automated microindentation protocol for stress relaxation [J]. J Mech Behav Biomed, 2014, 34: 264-272.
- [23] BAILEY AJ. Molecular mechanisms of aging in connective tissues [J]. Mech Ageing Dev, 2001, 122(7): 735-755.
- [24] GOLDBERGA I, LI R, DUER MJ. Collagen structure-function relationships from solid-state nmr spectroscopy [J]. Acc Chem Res, 2018, 51(7): 1621-1629.
- [25] FARLAY D, ARMAS LAG, GINEYTS E, *et al.* Nonenzymatic glycation and degree of mineralization are higher in bone from fractured patients with type I diabetes mellitus [J]. J Bone Miner Res, 2016, 31(1): 190-195.
- [26] ODETTI P, ROSSI S, MONACELLI F, *et al.* Advanced glycation end products and bone loss during aging [J]. Ann N Y Acad Sci, 2005, 1043(1): 710-717.
- [27] AOKI C, UTO K, HONDA K, *et al.* Advanced glycation end products suppress lysyl oxidase and induce bone collagen degradation in a rat model of renal osteodystrophy [J]. Lab Invest, 2013, 93(11): 1170-1183.
- [28] VASHISHTH D. Advanced glycation end-products and bone fractures [J]. IBMS Bonekey, 2009, 6(8): 268-278.
- [29] TOBE T, SHIBATA Y, MOCHIZUKI A, *et al.* Nanomechanical characterization of time-dependent deformation/recovery on human dentin caused by radiation-induced glycation [J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2019, 90(1): 248-255.
- [30] VASHISHTH D, GIBSON GJ, KHOURY JI, *et al.* Influence of nonenzymatic glycation on biomechanical properties of cortical bone [J]. Bone, 2001, 28(2): 195-201.
- [31] TANG SY, VASHISHTH D. Non-enzymatic glycation alters microdamage formation in human cancellous bone [J]. Bone, 2010, 46(1): 148-154.
- [32] HERNANDEZ CJ, TANG SY, BAUMBACH BM, *et al.* Trabecular microfracture and the influence of pyridinium and non-enzymatic glycation-mediated collagen cross-links [J]. Bone, 2005, 37(6): 825-832.
- [33] KARIM L, MOULTON J, VLIET MV, *et al.* Bone microarchitecture, biomechanical properties, and advanced glycation end-products in the proximal femur of adults with type 2 diabetes [J]. Bone, 2018, 114(1): 32-39.
- [34] VERZIJL N, DEGROOT J, OLDEHINKEL E, *et al.* Age-related accumulation of Maillard reaction products in human articular cartilage collagen [J]. Biochemical J, 2000, 350(2): 381-387.
- [35] KARIM L, TANG S, *et al.* Differences in non-enzymatic glycation and collagen cross-links between human cortical and cancellous bone [J]. Osteoporosis Int, 2013, 24(9): 2441-2447.
- [36] SROGA GE, SIDDULA A, VASHISHTH D. Glycation of human cortical and cancellous bone captures differences in the formation of maillard reaction products between glucose and ribose [J]. PLoS One, 2015, 10(2): 1-19.
- [37] HEIN G, WIEGAND R, LEHMANN G, *et al.* Advanced glycation end-products pentosidine and N-carboxymethyllysine are elevated in serum of patients with osteoporosis [J]. Rheumatology, 2003, 42(10): 1242-1246.
- [38] GHEIN, CWEISS, SFRANKE, *et al.* Advanced glycation

- end product modification of bone proteins and bone remodelling; Hypothesis and preliminary immunohistochemical findings [J]. *Ann Rheum Dis*, 2006, 65(1): 101-104.
- [39] 张小雪, 杨肖, 王守辉, 等. 尾吊大鼠后肢骨中晚期糖基化终末产物的变化及其可能机制 [C]//第十二届全国生物力学学术会议暨第十四届全国生物流变学学术会议论文集. 西安: [s.n.], 2018. 132-133.
- [40] JEROEN D, NICOLE V, *et al.* Accumulation of advanced glycation end products as a molecular mechanism for aging as a risk factor in osteoarthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(4): 1207-1215.
- [41] MIYATA T, ISHIGURO N, YASUDA Y, *et al.* Increased pentosidine, an advanced glycation end product, in plasma and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and its relation with inflammatory markers [J]. *Biochem Bioph Res Co*, 1998, 244(1): 45-49.
- [42] SCHWAB W, FRIESS U, HEMPEL U, *et al.* Immunohistochemical demonstration of Ne-(carboxymethyl) lysine protein adducts in normal and osteoarthritic cartilage [J]. *Histochem Cell Biol*, 2002, 117: 541-546
- [43] FRANKE S, RUESTER C, PESTER J. Advanced glycation end products affect growth and function of osteoblasts [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2011, 29(4): 650-660.
- [44] LARSON E, JONES LC, GOODMAN SB. Early-stage osteonecrosis of the femoral head: Where are we and where are we going in year 2018? [J]. *Int Orthop*, 2018, 42(7): 1723-1728.
- [45] 庞凤祥, 陈晓俊, 何晓铭, 等. 晚期糖基化终末产物与股骨头坏死进展的相关性研究 [J]. *中国全科医学*, 2020, 23(23): 2913-2917.
- [46] 李业琼, 叶山东, 翟丽敏, 等. 二甲双胍对 2 型糖尿病模型大鼠肾组织 AGEs 表达的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2016, 32(5): 703-707.
- [47] PICKE AK, ALAGUERO IG, CAMPBELL GM, *et al.* Bone defect regeneration and cortical bone parameters of type 2 diabetic rats are improved by insulin therapy [J]. *Bone*, 2016, 82: 108-115.