

文章编号: 1004-7220(2023)03-0521-07

膝骨关节炎软骨基质刚度对线粒体形态异质性的影响

阚天佑^{1a#}, 侯伶俐^{1b#}, 李汉骏², 崔俊琪^{1c}, 王耀^{1a}, 孙林^{1a}, 王燎^{1a}, 于志锋^{1a*}, 严孟宁^{1a*}

(1. 上海交通大学医学院附属第九人民医院 a 骨科, 上海市骨科内植物重点实验室, b 上海精准医学研究院, c 病理科, 上海 200011; 2. 上海交通大学医学院附属仁济医院 临床干细胞研究中心, 上海 200120)

摘要:目的 研究膝骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 胫骨平台不同区域基质刚度的差异, 及其对软骨和线粒体形态的影响。方法 获取 OA 胫骨平台软骨标本用于纳米压痕测试、透射电镜拍摄以及组织学分析。利用纳米压痕检测 OA 胫骨平台不同区域软骨基质刚度, 通过透射电镜观察不同区域软骨线粒体形态, 定量分析线粒体平面面积、形状、嵴体积密度的变化。通过组织学染色观察 OA 胫骨平台不同区域软骨损伤情况。结果 OA 胫骨平台软骨损伤具有区域异质性, 内侧胫骨平台软骨和线粒体损伤更重, 同时基质刚度更高。OA 评分与基质刚度呈正相关。OA 评分与线粒体形态之间也有显著的相关性; OA 评分越高, 线粒体平面面积越大、越圆以及嵴体积密度越低。结论 胫骨平台不同区域的差异揭示了软骨基质刚度、OA 评分和线粒体形态学参数之间的相关性, 软骨基质刚度增加可能是造成软骨细胞线粒体损伤的主要原因, 进而加重了 OA 进展。

关键词: 骨关节炎; 软骨细胞; 线粒体; 基质刚度; 力学传导

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2023.03.014

Matrix Stiffness Affects Mitochondrial Heterogeneity of Tibial Plateau Chondrocytes in Knee Osteoarthritis

KAN Tianyou^{1a#}, HOU Lingli^{1b#}, LI Hanjun², CUI Junqi^{1c}, WANG Yao^{1a}, SUN Lin^{1a}, WANG Liao^{1a}, YU Zhifeng^{1a*}, YAN Mengning^{1a*}

(1a. Shanghai Key Laboratory of Orthopedic Implants, Department of Orthopedic Surgery, 1b. Shanghai Institute of Precision Medicine, 1c. Department of Pathology, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China; 2. Clinical Stem Cell Research Center, Ren Ji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200120, China)

Abstract: Objective To investigate the difference of matrix stiffness in different regions of tibial plateau in osteoarthritis (OA) and its effects on morphology of the cartilage and mitochondria. **Methods** The tibial plateau cartilage specimens of OA were obtained for nanoindentation test, transmission electron microscopy and histological analysis. The stiffness of cartilage matrix in different regions of OA tibial plateau was detected by nano-indentation. The morphology of cartilage mitochondria in different regions was observed by transmission electron microscopy, and the changes of mitochondrial plane area, shape and ridge volume density were quantitatively analyzed. Cartilage injury in different regions of OA tibial plateau was observed by histological staining. **Results** The cartilage of OA tibial plateau showed regional heterogeneity, and the cartilage and

收稿日期: 2023-04-20; 修回日期: 2023-05-26

基金项目: 国家自然科学基金项目 (12172223, 12272232), 上海市自然科学基金项目 (20ZR1432000)

通信作者: 严孟宁, 主任医师, E-mail: yanmengning@163.com; 于志锋, 研究员, E-mail: zfyu@outlook.com

mitochondria on medial side of varus knee OA were more severe, and the matrix stiffness was higher. The OA scores were positively correlated with matrix stiffness. There was also a significant correlation between OA scores and mitochondrial morphology: the higher OA scores, the larger and rounder mitochondrial plane area, and the lower cristae volume density. **Conclusions** The differences of tibial plateau revealed the correlation between cartilage matrix stiffness, OA scores and mitochondrial morphological parameters. The increased cartilage matrix stiffness may be the main cause of chondrocyte mitochondrial injury, and further aggravate the progression of OA.

Key words: osteoarthritis; chondrocytes; mitochondria; matrix stiffness; mechanotransduction

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 长期以来被认为是一种以关节软骨退行性变、软骨下骨重塑和骨赘形成为特征的退行性疾病^[1]。虽然软骨退行性变可由多种因素引起,但异常力学负荷仍被认为是OA发生的主要因素和关键特征^[2-3]。

软骨细胞通过细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 感受外界力学刺激,其物理性质构成了软骨细胞的力学微环境^[4-5]。研究发现,ECM的物理性质影响软骨细胞功能^[5];其中,基质刚度可以调节细胞增殖、分化和凋亡^[6-9]。在OA进展过程中,软骨组织刚度显著增加。关节软骨钙化开始于OA早期,表现为关节软骨表面形成球形矿物颗粒,到OA中晚期软骨钙化向深层转化^[10]。此外,软骨细胞衰老过程中晚期糖基化产物的上调和软骨损伤过程中赖氨酸氧化酶的增加加速了基质硬化^[11]。经力学测试发现,OA软骨基质刚度为正常软骨的3~4倍^[12]。

稳态和生命活动所需的大部分能量来自线粒体,线粒体通过参与细胞能量代谢和凋亡等过程来调节细胞功能,线粒体对于正常软骨细胞功能的维持非常重要^[13]。研究发现,OA的发生与线粒体功能障碍密切相关^[14]。OA软骨细胞线粒体功能改变是对力学环境变化的一种反应,线粒体分裂和融合的平衡对于其功能至关重要^[15]。线粒体分裂受动力相关蛋白1 (dynamic related protein 1, DRP1) 介导,线粒体分裂使软骨细胞产生有缺陷的线粒体,过度分裂最终导致细胞凋亡^[16]。研究发现,在OA进展过程中,膝关节的力学负荷分布发生了变化,不同区域的软骨损伤表现出区域异质性^[17-18]。然而,目前尚不清楚关节软骨的基质刚度是否也受到空间位置的影响。此外,基质刚度与软骨细胞线粒体之间的关系也不清楚。本文通过检测胫骨平台不同区域软骨基质的刚度,观察不同区域软骨线粒

体形态并进行定量统计,并分析基质刚度与OA评分和线粒体形态之间的相关性,探讨OA软骨损伤的空间分布特征。

1 材料与方法

1.1 研究对象

本研究共纳入12例患者,男性3例,女性9例。患者年龄(69±8)岁,身高(1.61±0.08)m,体质量(1.61±0.08)kg,身体质量指数(body mass index, BMI)为(26.3±6.2)kg/m³;其中,左、右侧患肢分别为7和5例。所有患者均在上海交通大学医学院附属第九人民医院诊断为膝OA并接受全膝节置换手术,签署知情同意书。本研究经上海交通大学医学院附属第九人民医院伦理委员会批准。获取OA胫骨平台软骨标本用于纳米压痕测试、透射电镜拍摄以及组织学分析。

1.2 研究区域划分

本文定义的胫骨平台中心(central, C)为单侧平台最大前后径和最大内外径的交叉点,以每侧胫骨平台中心为圆心截取直径1cm圆柱形软骨用于后续分析;沿单侧平台最大前后和内外径线与中心区域相邻截取前方(anterior, A)、后方(posterior, P)、中心边缘(intermediate, I)和髁间嵴(eminencia, E)的圆柱形软骨^[17]。而A、I和P三者共同构成半月板覆盖区域。

1.3 纳米压痕测试

通过纳米压痕仪(杭州轩辕科技有限公司)测定OA胫骨平台软骨的弹性模量,弹性模量的计算公式如下:

$$E = (1 - \nu^2) \times m \times (g/D \times h)$$

式中: D 为探针头部直径, $D=12\text{ mm}$; h 为偏转度; m 为重量; g 为重力常数; ν 泊松比, $\nu=0.5$ 。

1.4 透射电镜分析

采用透射电镜(Talos L120C, Thermo Scientific

公司, 美国) 观察 OA 胫骨平台软骨组织表层软骨细胞和线粒体形态。软骨组织块 (1 mm³) 被固定并脱水。样品用 2.5% 戊二醛固定 2.5 h, 0.1 mol/L, pH 7.0 PBS 洗涤 3 次 (每次 3 min), 然后用 1% 锇酸固定 2 h。用 PBS 洗涤 3 次后, 分别在 30%、50%、70%、85%、95% 和 100% 乙醇中连续脱水 (每步 15 min), 然后在 1:1 混合乙醇+丙酮中脱水 2 次; 纯丙酮, 每次 20 min。每次分别用 3:1、1:1、1:1、1:1、1:1、1:1 的丙酮: 树脂浸润细胞 1 h。然后用树脂浸润细胞过夜, 然后用新鲜树脂包埋 3 h。在 37 C 聚合 8 h 和 65C 聚合 48 h 后, 将树脂块切成超薄片 (70~100 nm)。每个超薄切片放置在带有碳膜的铜网上, 用 4C 醋酸铀酰染色 7 min, 25C 柠檬酸铅染色 3 min, 然后观察并拍摄图像。

1.5 组织学分析

经固定的 OA 胫骨平台软骨石蜡包埋后进行组织学切片 (5 μm 厚度)。组织切片进行番红固绿和苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色 (武汉赛维尔生物技术有限公司)。对于免疫组织化学染色, 切片与一抗 (DRP1、Cleaved-Caspase 3) 结合 4 °C 过夜。用 PBS 洗涤载玻片, 并与山羊抗兔 IgG

辣根过氧化物酶聚合物 (Cell Signaling Technology 公司, 美国), 使用 3, 3'-二氨基联苯胺为显色剂。使用 DM4000 B 显微镜 (Leica 公司, 德国) 拍摄图像, 并使用 Image Pro Plus 6.0 软件获得阳性染色的细胞测量值。

1.6 统计分析

所有的数据均来自至少 3 个独立的实验或重复的测量。组间差异采用 *t* 检验, 多组间差异采用单因素方差分析和 Tukey 多重比较检验。结果以平均值±标准差表示。对于评估线性关系, 使用皮尔森相关性分析方法进行检验。P<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胫骨平台不同区域的软骨基质刚度和软骨损伤程度具有异质性

所有患者均诊断为膝 OA 并接受全膝关节置换手术 [见图 1(a)], 将每个胫骨平台标本分为 10 个区域 [见图 1(b)], 并分别检测各区域表面的软骨基质刚度后分别进行组织染色与透射电镜观察 [见图 1(c)]。HE 和番红 O 染色结果表明, 外侧胫骨

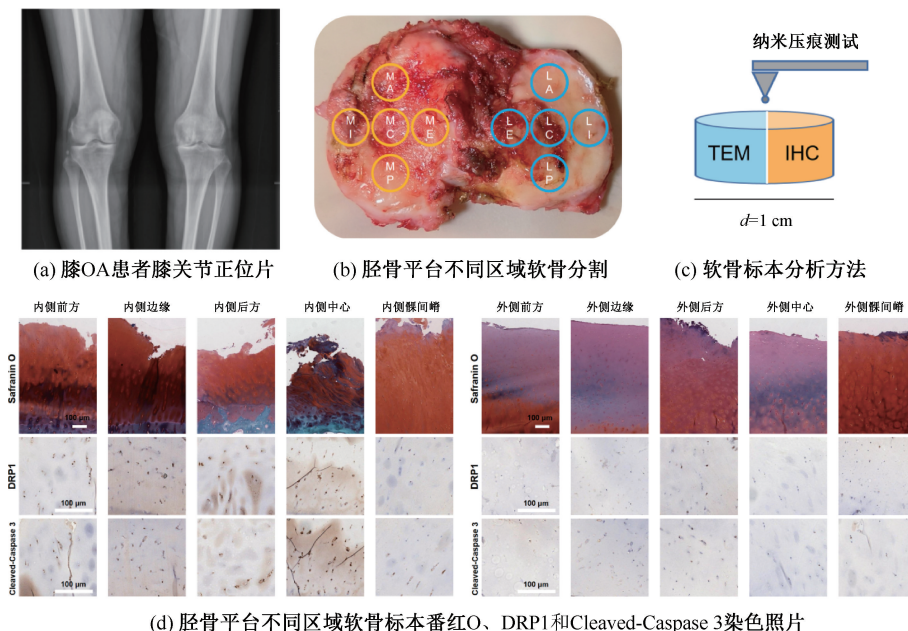


图 1 膝 OA 正位片、胫骨平台不同区域软骨分析方法及组织学染色照片

Fig. 1 X-ray image of knee OA, analysis method and histological staining of cartilage in different regions of tibial plateau

(a) Coronal MRI image of knee OA in patients, (b) Division of cartilage in different regions of tibial plateau, (c) Analysis method of cartilage specimen, (d) Staining of Safranin O, DRP1 and Cleaved caspase 3 of cartilage from different region of tibial plateau

平台软骨较为完整,而内侧胫骨平台软骨出现裂缝至软骨深层。而 DRP1 和切割半胱氨酸蛋白酶 (Cleaved-Caspase 3) 主要在内侧胫骨平台中高表达 [见图 1(d)]。

纳米压痕测试与组织学定量分析结果表明,内侧胫骨平台的软骨基质刚度明显高于外侧,而内侧胫骨平台前方、中心、边缘的软骨基质刚度显著高于其他区域 [见图 2(a)]。除髁间嵴外,内侧胫骨平台半月板覆盖区域的 Mankin 评分均显著升高 [见图 2(b)]。DRP1 和 Cleaved-Caspase 3 阳性比例高的区域与 OA 评分较高的区域相接近 [见图 2(c)]。以上结果表明,OA 胫骨平台软骨损伤具有异质性,内侧胫骨平台软骨的组织刚度更高同时对对应区域的软骨损伤程度更重。在内翻膝 OA 中胫骨平台前内侧区域是常见的磨损区域^[19],而外侧胫骨平台的软骨相对完整。

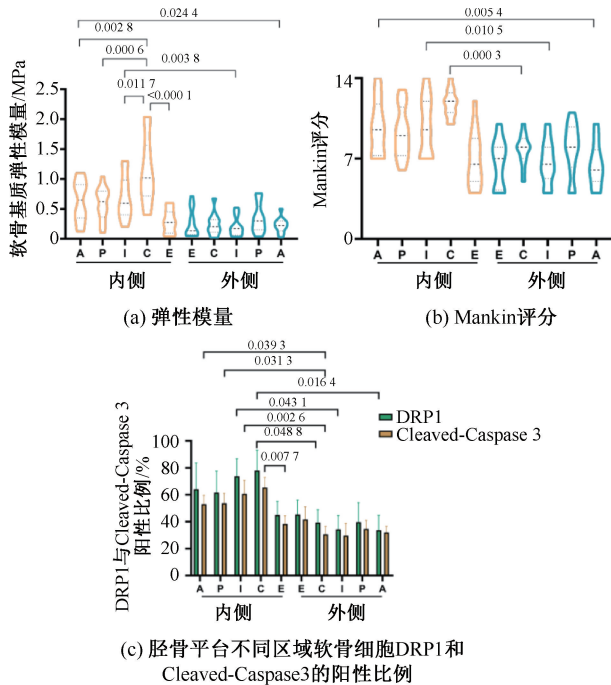


图2 胫骨平台不同区域软骨刚度测试及组织学定量评价

Fig. 2 Measurement of cartilage stiffness and histological quantitative evaluation in different regions of tibial plateau (a) Elastic modulus, (b) Mankin scores, (c) Positive proportion of DRP1 and Cleaved caspase 3 of chondrocytes in different region of the tibial plateau

注: N=60 (12×5); A、P、I、C、E 分别为胫骨平台前方、后方、中心边缘、中心、髁间嵴,下同。

2.2 胫骨平台不同区域软骨细胞线粒体的形态具有异质性

利用透射电镜观察胫骨平台各个区域软骨细胞。电镜照片显示出 OA 胫骨平台不同区域软骨细胞线粒体的形态差异,除髁间棘外,内侧胫骨平台的软骨细胞线粒体肿胀变圆以及嵴减少;外侧胫骨平台的软骨细胞线粒体呈杆状,嵴更丰富 (见图 3)。

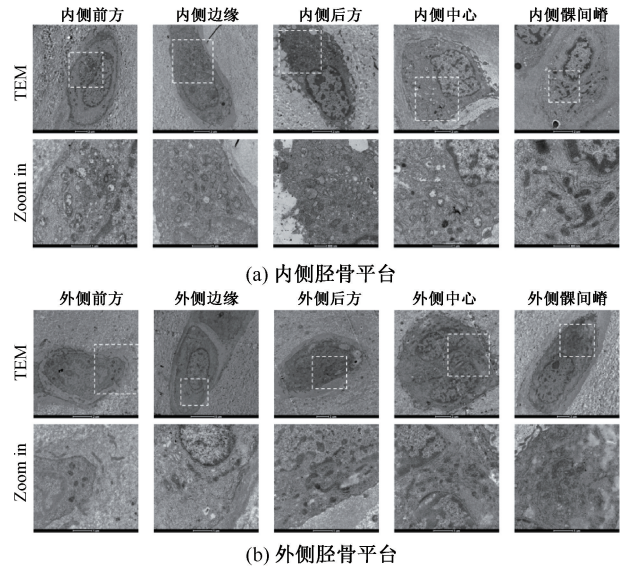


图3 胫骨平台不同区域软骨线粒体透射电镜照片

Fig. 3 TEM images of cartilage in different regions of tibial plateau (a) Medial tibial plateau, (b) Lateral tibial plateau

对线粒体形态参数定量统计进一步比较软骨细胞线粒体的形态差异。首先,单位细胞面积内的线粒体密度仅在胫骨平台内外中心区域有显著差异,而其他区域间无显著差异 [见图 4(a)]。线粒体平面面积和形状指数的结果显示,内侧胫骨平台的软骨线粒体更大且圆,内侧胫骨平台中心和半月板覆盖区域(前、后、边缘区域)的软骨线粒体接近圆形 [见图 4(b)、(c)]。此外,通常用嵴体积密度来反映线粒体功能^[22],内侧胫骨平台的大部分软骨线粒体嵴体积密度均低于外侧 [见图 4(d)]。

2.3 胫骨平台软骨及线粒体损伤程度与基质刚度密切相关

分别将 Mankin 评分、基质刚度与线粒体形态参数进行相关性分析,由于胫骨平台不同区域的软骨线粒体密度差异无显著性意义,故只考虑线粒体的大小、形状指数和嵴体积密度。相关性分析结果显示, Mankin 评分越高,线粒体更大 [见

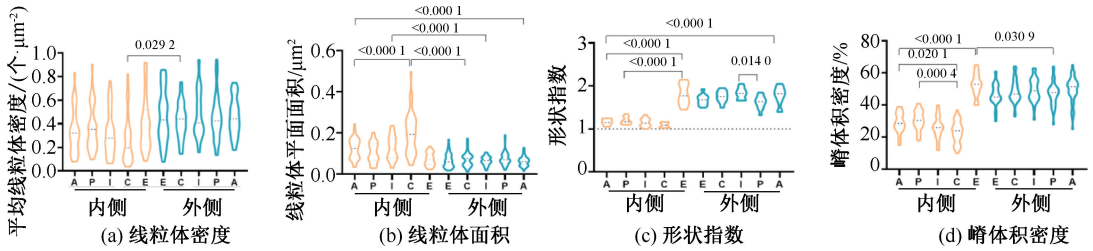


图 4 胫骨平台不同区域软骨线粒体形态学参数定量统计

Fig. 4 Quantitative statistics of mitochondrial morphological parameters in different regions of tibial plateau

(a) Mean mitochondrial density, (b) Mitochondrial area, (c) Aspect ratio, (d) Cristae volume density

图 5(a)],更趋近于圆形[见图 5(b)],嵴体积密度越低[见图 5(c)]。一般情况下,当线粒体损伤时形状指数和嵴体积密度较低^[20-23]。最后,软骨

基质刚度与线粒体形态参数的相关性分析结果显示,软骨基质刚度增高对应着软骨细胞线粒体损伤[见图 5(d)~(f)]。

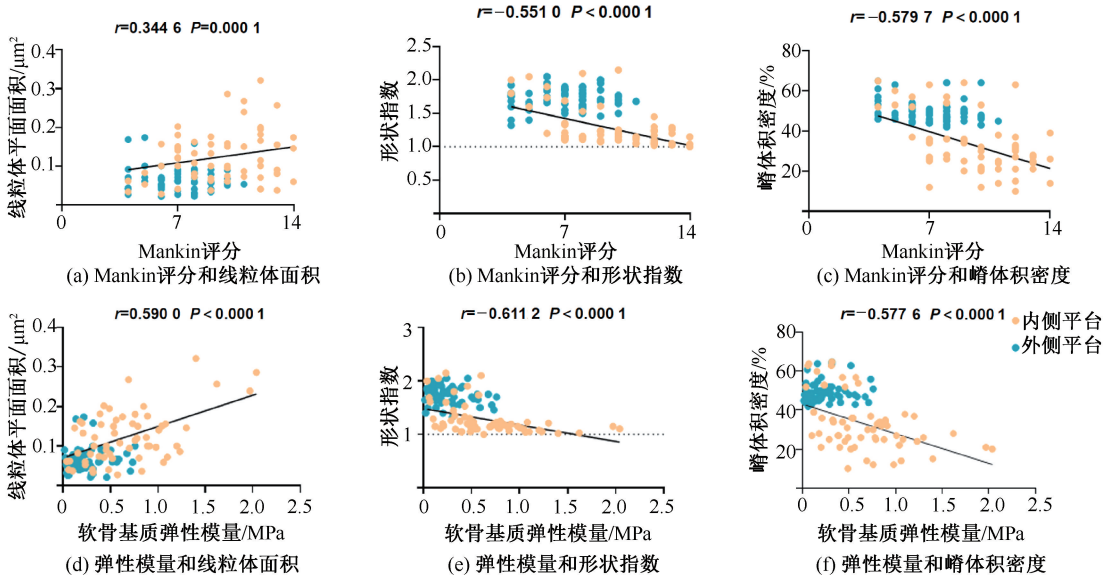


图 5 胫骨平台不同区域软骨 Mankin 评分与软骨线粒体形态以及软骨刚度与软骨线粒体形态的相关性分析

Fig. 5 Analysis on the correlation between Mankin scores and mitochondrial morphology, cartilage stiffness and mitochondrial morphology in different regions of tibial plateau

(a) Mankin scores and mitochondrial area, (b) Mankin scores and aspect ratio, (c) Mankin scores and cristae volume density, (d) Elastic modulus and mitochondrial area, (e) Elastic modulus and aspect ratio, (f) Elastic modulus and cristae volume density

3 讨论与结论

本文通过对 OA 胫骨平台软骨标本进行纳米压痕测试、组织学染色和线粒体形态分析,揭示软骨基质刚度、软骨损伤程度和线粒体形态学参数之间的相关性。结果表明,内侧胫骨平台软骨基质刚度明显增加,对应了更高的 Mankin 评分和线粒体形态损伤改变。由此发现胫骨平台软骨的 Mankin 评分与软骨细胞线粒体损伤,以及软骨基质刚度与软骨细胞线粒体损伤呈显著正相关。本研究拓展了对

力学负荷影响下的胫骨平台不同区域软骨特征的认识。对下肢力线不良的 OA 胫骨平台不同区域软骨进行精确和详细的评估,在 OA 中建立了基质力学-软骨-线粒体之间的关联。

力学刺激是决定细胞命运的关键。线粒体已被发现是力学转导和细胞生物学过程的交集。力学刺激通过影响线粒体能量稳态和氧化磷酸化在细胞内生物反应中发挥重要作用^[25]。线粒体的正常结构和功能受线粒体分裂与融合的平衡来维持^[15]。机械刺激软骨细胞后,直接促进线粒体分裂

的动力蛋白 DRP1 激活,最终导致线粒体过度分裂和线粒体损伤^[16]。研究发现,OA 进展过程中胫股关节的机械载荷分布发生了变化,导致位置特异性的软骨损伤^[17]。本研究证实胫骨平台软骨的基质刚度与线粒体也具有位置特异性,分布不均的软骨基质刚度可能是造成线粒体形态异质性的原因。

软骨细胞通过 ECM 感受外界力学刺激,其结构和组成的破坏被认为是 OA 的标志^[26-27]。在 OA 的发展过程中,II 型胶原和蛋白聚糖形成的 ECM 网络的完整性被破坏,OA 软骨的弹性储能能力降低。OA 早期软骨表面出现病理性钙化。随着 OA 进展,软骨钙化向深层侵入,晶体结晶度增加使组织刚度显著提高^[18]。同时,软骨细胞衰老过程中晚期糖基化产物的上调和软骨损伤过程中赖氨酸氧化酶的增加加速了基质硬化^[29]。软骨细胞的透射电镜图像展示了基质刚度对线粒体的影响,其中线粒体的形态参数与 OA 评分和基质刚度密切相关^[30-31]。这些结果说明软骨细胞线粒体具有响应基质刚度的行为,并且高基质刚度导致线粒体形态变化最终影响软骨细胞功能。

异常的力学刺激引起线粒体损伤,进而导致软骨细胞损伤^[29]。越来越多的证据表明,线粒体功能障碍通过多种机制促进 OA 的进展,包括能量代谢、氧化应激、炎症反应、细胞衰老和死亡以及钙稳态^[30]。然而 OA 是一种具有不同致病过程的异质性疾病,已成功鉴定了 4 种 OA 亚型及其相应的功能特征^[31]。细胞死亡大多与线粒体有关,但仍缺乏相关研究来分析 OA 软骨细胞死亡方式^[32]。因此,还需要进一步对基质刚度通过线粒体影响软骨细胞功能的机制进行研究,构建不同刚度的细胞培养模型有助于在体外对软骨细胞响应基质刚度的机制深入研究。同时,软骨基质的力学可以影响软骨细胞功能^[27],而软骨细胞本身功能直接影响其 ECM^[29],故还需要进一步探究在 OA 中软骨 ECM 与软骨细胞互作的因果关系。

综上所述,本研究发现了胫骨平台软骨损伤程度与软骨基质刚度和线粒体形态参数之间的相关性,提示线粒体的力学响应在 OA 进展中的作用,为纠正下肢力线和应用药物干预 OA 进展提供理论基础。

参考文献:

- [1] HUNTER DJ, BIERMA-ZEINSTRAS S. Osteoarthritis [J]. *Lancet*, 2019, 393(10182): 1745-1759.
- [2] HARLAAR J, MACRI EM, WESSELING M. Osteoarthritis year in review 2021: Mechanics [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2022, 30(5): 663-670.
- [3] HODGKINSON T, KELLY DC, CURTIN CM, *et al.* Mechanosignalling in cartilage: An emerging target for the treatment of osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2022, 18(2): 67-84.
- [4] 沈星宇,唐斌. 基质刚度介导软骨细胞衰老过程 [J]. *医用生物力学*, 2021, 36(S1): 23.
- [5] PENG Z, SUN H, BUNPETCH V, *et al.* The regulation of cartilage extracellular matrix homeostasis in joint cartilage degeneration and regeneration [J]. *Biomaterials*, 2021, 268: 120555.
- [6] KAUKONEN R, MAI A, GEORGIADOU M, *et al.* Normal stroma suppresses cancer cell proliferation via mechanosensitive regulation of JMJD1a-mediated transcription [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12237.
- [7] DUAN B, YIN Z, HOCKADAY KANG L, *et al.* Active tissue stiffness modulation controls valve interstitial cell phenotype and osteogenic potential in 3D culture [J]. *Acta Biomater*, 2016, 36: 42-54.
- [8] WATT FM, HUCK WT. Role of the extracellular matrix in regulating stem cell fate [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(8): 467-473.
- [9] COSGROVE BD, MUI KL, DRISCOLL TP, *et al.* N-cadherin adhesive interactions modulate matrix mechanosensing and fate commitment of mesenchymal stem cells [J]. *Nat Mater*, 2016, 15(12): 1297-1306.
- [10] WANG X, WU Q, ZHANG R, *et al.* Stage-specific and location-specific cartilage calcification in osteoarthritis development [J]. *Ann Rheum Dis*, 2023, 82(3): 393-402.
- [11] KIM JH, LEE G, WON Y, *et al.* Matrix cross-linking-mediated mechanotransduction promotes posttraumatic osteoarthritis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(30): 9424-9429.
- [12] ZHANG X, CAI D, ZHOU F, *et al.* Targeting downstream subcellular YAP activity as a function of matrix stiffness with Verteporfin-encapsulated chitosan microsphere attenuates osteoarthritis [J]. *Biomaterials*, 2020, 232: 119724.
- [13] EVERS TMJ, HOLT LJ, ALBERTI S, *et al.* Reciprocal regulation of cellular mechanics and metabolism [J]. *Nat Metab*, 2021, 3(4): 456-468.
- [14] ANSARI MY, KHAN NM, AHMAD I, *et al.* Parkin

- clearance of dysfunctional mitochondria regulates ROS levels and increases survival of human chondrocytes [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2018, 26(8): 1087-1097.
- [15] KOROBOVA F, RAMABHADHRAN V, HIGGS HN. An actin-dependent step in mitochondrial fission mediated by the ER-associated formin INF2 [J]. *Science*, 2013, 339(6118): 464-467.
- [16] YAN T, ZHAO Y. Acetaldehyde induces phosphorylation of dynamin-related protein 1 and mitochondrial dysfunction via elevating intracellular ROS and Ca²⁺ levels [J]. *Redox Biol*, 2020, 28: 101381.
- [17] HABERKAMP S, OLÁH T, ORTH P, *et al.* Analysis of spatial osteochondral heterogeneity in advanced knee osteoarthritis exposes influence of joint alignment [J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(562): eaba9481.
- [18] HAN X, CUI J, CHU L, *et al.* Abnormal subchondral trabecular bone remodeling in knee osteoarthritis under the influence of knee alignment [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2022, 30(1): 100-109.
- [19] SNELLING S, ROUT R, DAVIDSON R, *et al.* A gene expression study of normal and damaged cartilage in anteromedial gonarthrosis, a phenotype of osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2014, 22(2): 334-343.
- [20] HUSER CA, DAVIES ME. Calcium signaling leads to mitochondrial depolarization in impact-induced chondrocyte death in equine articular cartilage explants [J]. *Arthritis Rheum*, 2007, 56(7): 2322-2334.
- [21] RUIZ-ROMERO C, LÓPEZ-ARMADA MJ, BLANCO FJ. Mitochondrial proteomic characterization of human normal articular chondrocytes [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2006, 14(6): 507-518.
- [22] CASTRO-SEPULVEDA M, FERNÁNDEZ-VERDEJO R, TUÑÓN-SUÁREZ M, *et al.* Low abundance of Mfn2 protein correlates with reduced mitochondria-SR juxtaposition and mitochondrial cristae density in human men skeletal muscle: Examining organelle measurements from TEM images [J]. *FASEB J*, 2021, 35(4): e21553.
- [23] KANG GM, MIN SH, LEE CH, *et al.* Mitohormesis in hypothalamic POMC neurons mediates regular exercise-induced high-turnover metabolism [J]. *Cell Metab*, 2021, 33(2): 334-349.
- [24] LOESER RF, COLLINS JA, DIEKMANN BO. Ageing and the pathogenesis of osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12(7): 412-420.
- [25] 杨永青, 谭芷芬, 刘曦雨, 等. 疲劳载荷作用下老年大鼠骨微损伤时空变化规律及基于线粒体动力学的相关机制研究 [J]. *医用生物力学*, 2021, 36(S1): 461.
- [26] SHI Y, HU X, CHENG J, *et al.* A small molecule promotes cartilage extracellular matrix generation and inhibits osteoarthritis development [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1914.
- [27] VERZIJJ N, DEGROOT J, BEN ZC, *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): 114-23.
- [28] GOLDRING MB, GOLDRING SR. Articular cartilage and subchondral bone in the pathogenesis of osteoarthritis [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1192: 230-237.
- [29] JIANG W, LIU H, WAN R, *et al.* Mechanisms linking mitochondrial mechanotransduction and chondrocyte biology in the pathogenesis of osteoarthritis [J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 67: 101315.
- [30] BOLDUC JA, COLLINS JA, LOESER RF. Reactive oxygen species, aging and articular cartilage homeostasis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 132: 73-82.
- [31] YUAN C, PAN Z, ZHAO K, *et al.* Classification of four distinct osteoarthritis subtypes with a knee joint tissue transcriptome atlas [J]. *Bone Res*, 2020, 8(1): 38.
- [32] BOCK FJ, TAIT SWG. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(2): 85-100.