

初级纤毛在关节软骨中的生物力学效应

许博洋^{1,2,3}, 方添玉⁴, 赵美丹^{1,5}

(1. 天津中医药大学 针灸推拿学院, 天津 301617; 2. 北京大学 运动医学研究所, 北京 100191;
3. 北京市运动医学关节伤病重点实验室, 北京 100191; 4. 天津大学 精密仪器与光电子工程学院,
天津 300072; 5. 天津中医药大学 实验针灸学研究中心, 天津 301617)

摘要:生物力学因素对于关节软骨的稳态维持具有至关重要的作用。初级纤毛是一种可同时感受力学信号和化学信号的细胞器,并于软骨细胞膜表面也存在有初级纤毛分布。其与多个信号转导通路相关,共同参与软骨细胞表型维持和物质代谢的过程。同时,初级纤毛的异常也关联到多种人类的骨关节类疾病。主要论述初级纤毛在软骨细胞力学微环境中的作用,以及与其他信号通路的交互作用机制,探讨其与骨关节疾病的联系,以为骨科临床和基础科研提供一定的科学依据。

关键词:初级纤毛; 软骨细胞; 力学转导; 信号通路

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2020.06.017

Biomechanical Effects of Primary Cilia in Articular Cartilage

XU Boyang^{1,2,3}, FANG Tianyu⁴, ZHAO Meidan^{1,5}

(1. School of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 2. Institute of Sports Medicine, Peking University, Beijing 100191, China; 3. Beijing Key Laboratory of Sports Medicine Joint Injury, Beijing 100191, China; 4. School of Precision Instruments and Optoelectronics Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 5. Research Center of Experimental Acupuncture Science, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

Abstract: Biomechanical factors play a crucial role in the steady-state maintenance of articular cartilage. The primary cilium (PC) is a kind of organelle which can sense mechanical and chemical signals at the same time. It is also distributed on the surface of chondrocyte membrane. It is involved in multiple signal transduction pathways as well as in the process of chondrocyte phenotype maintenance and material metabolism. Abnormalities in PC are also associated with a variety of human bone and joint diseases. This paper mainly discusses the mechanism of PC in mechanical microenvironment of chondrocytes and the interaction with other signaling pathways, and explores its relationship with bone and joint diseases, so as to provide some scientific basis for clinical and basic research in orthopedics.

Key words: primary cilia (PC); chondrocytes; mechanotransduction; signal pathways

初级纤毛(primary cilia, PC)又称静纤毛,是突出于细胞膜表面的一种高度分化的细胞结构,较为广泛地分布于多种特化细胞的细胞膜表面^[1]。软骨细胞作为一种非增殖期细胞,也被证实存在PC,且每个软骨细胞仅有1根PC^[2-3]。软骨细胞的母中心粒在分裂期结束后可移行至细胞表面形成PC的基体,同时与高尔基体囊泡结合后的母中心粒将于其顶端生长出几微米不等的轴丝,两者之间通过由Y纤维构成的过渡区相连接。囊泡的上下两层膜结构逐渐发育成PC膜,虽与细胞膜相延续,但膜蛋白的类别功能具有差异。PC属于非运动型感觉纤毛,大多不具备运动功能,可通过介导某些受体、离子通道和转运蛋白,以改变自身长度或弯曲程度的途径来响应各种外界机械刺激^[4-5]。PC对软骨细胞正常生理功能的维持至关重要,它可协助软骨细胞的胞吞作用、促进增殖并调控凋亡^[6-8]。同时,在骨骼发育早期,PC完整性也是软骨组织细胞形态和成骨正常发育的基础^[9-11]。目前,对于软骨组织如何进行力学信号传递的具体机制仍不明确,现已发现软骨细胞骨架及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、机械敏感性离子通道(mechanically sensitive ion channel, MSC)等参与了力学转导过程。随着生物物理学的进一步研究,PC可作为软骨细胞一种新型力学传感器参与关节软骨的力学转导机制也被逐步认识。

1 软骨细胞力学微环境

关节软骨是由软骨细胞、软骨基质和细胞间隙液组成的一种不含血管、神经和淋巴管的特殊结缔组织。从微观角度来看,软骨基质包括3个部分:细胞周基质(perinuclear matrix, PCM)、区基质和ECM^[12],其弹性模量依次梯度递增^[13-14]。ECM主要由软骨细胞分泌的透明质酸、蛋白多糖和II型胶原蛋白构成。彼此相互交织成网的胶原纤维与反向平行附着其中的蛋白多糖聚合体紧密结合,通过截留溶质和水分子维持ECM的刚度。相应的循环拉伸应变都会导致ECM中胶原纤维网络的再分布,导致软骨组织含水量改变,细胞外渗透压变化,造成软骨细胞体积和弹性模量相应地增加或减小。而PCM则架起了软骨细胞与ECM之间力学信号传递的桥梁,来源于ECM的力学刺激通过影响PCM

的刚度参与软骨细胞的力学信号转导过程。PC作为位于软骨细胞表面突出的单个较短的富含微管的附属细胞器,通过与ECM中的胶原纤维和蛋白多糖之间相互交错作用,可将外部机械刺激转导至细胞内的信号通路中^[15]。其膜表面的整合蛋白 α_2 、 α_3 和 β_1 可通过自身分子的变构效应将ECM的力学信号传递至软骨细胞骨架,参与力学转导过程。PC膜与胶原纤维的交织处可能表达多种跨膜ECM受体,可激活细胞内信号级联反应,调节相关细胞转录因子的表达。有研究发现,软骨细胞PC优先与高尔基体共定位,从而潜在地调控软骨细胞分泌ECM,影响其生物力学稳态^[16]。另外,流动剪切力可使PC发生偏转,促使多囊蛋白-1、2形成应力感受复合体,提升 Ca^{2+} 内流速率,辅助软骨细胞的力学感受。

2 初级纤毛参与力学转导

大量研究表明,PC可作为一种力学感受器在软骨组织力学转导中扮演重要角色。PC具有良好的生物力学特性,对力学、超声等多种机械刺激敏感,尤其是流动剪切力,另外也可感受细胞内外组织渗透压的差异^[17]。从目前的研究来看,在力学载荷作用的过程中,PC主要是通过纤毛内转运蛋白(intraflagellar transport, IFT)系统以及与细胞自噬机制的相互作用,从而调控软骨细胞正常的物质代谢过程。

2.1 纤毛内转运蛋白系统

PC的膜结构和基质中都含有数百种蛋白质,但其本身并不能合成分解任何蛋白质。PC所需的蛋白质皆在软骨细胞胞质内合成,再通过IFT系统转运至纤毛。PC基体的A、B管逐渐向上延伸形成1组二联体微管,9组二联体微管共同围成1个轴丝微管,从而构成PC的基本骨架结构。IFT系统就是一种由IFT和马达蛋白(Kinesin-2和Cytoplasmic dynein-2)协同作用沿着轴丝微管进行的双向物质运输系统^[18-19]。逆向物质运输过程主要依靠IFT转运复合体A,正向转运过程由IFT转运复合体B介导。但近来也有研究发现,IFT转运复合体A也参与正向转运过程。IFT转运复合体B中的IFT蛋白可形成两个亚复合体,分别为核心亚复合体和外围亚复合体。两个亚复合体通过IFT 38、IFT 52、

IFT 57和 IFT 88 的相互作用而连接^[20-21]。已有相关研究证实,IFT 家族对于软骨组织的生长发育及成熟以及维持软骨细胞表型有着至关重要的作用,如 IFT 80 和 IFT 88,目前的实验大量集中于这两个复合体^[22-23]。在敲除 IFT 88 之后易导致 PC 损伤,深层软骨基层机械性能显著降低,软骨细胞骨架发生变构,肌动蛋白应力纤维组织不断增加^[24-25]。而 IFT 80 的缺失会阻碍软骨细胞分化,主要表现为软骨缩短。IFT80缺失的胚胎小鼠出生时四肢短小,出生后生长板增长受抑制,关节软骨厚度增加^[26]。此外,IFT 在纤毛内也与 IFT 附属蛋白、BBSome 蛋白复合体、Evc 蛋白协同运动,但目前具体机制尚不明确。

2.2 软骨细胞自噬

软骨组织中仅含有软骨细胞一种细胞类型,且其在软骨组织中的密度很低,仅靠 ECM 进行基本的代谢过程。研究表明,由于组织严重缺乏血液供应,软骨细胞的养供高度依赖于细胞自噬机制介导的能量代谢再利用效应^[27]。细胞自噬是一种基因调控的溶酶体降解过程,通过降解大分子代谢废物或异常老化的细胞器来调节软骨细胞的营养代谢,从而使软骨细胞适应外部微环境的不同变化,这是维持软骨细胞的稳态和应对应激反应的关键有效机制^[28]。近来有研究发现,在同一个发育正常的软骨细胞中,PC 和细胞自噬能够同时表达,并且两者之间存在交互调控作用机制^[29]。Xiang 等^[30]研究发现,应力刺激可通过 ERK-mTOR 信号轴调控 PC 和自噬的共表达水平及交互过程,其中肌醇多聚磷酸 5-磷酸酶 (inositol polyphosphate-5-phosphatase, INPP5E) 可能是应力介导软骨细胞 PC 和自噬交互调控的关键位点。当 INPP5E 基因表达受抑制,将会造成纤毛顶端形成囊泡样结构,最终使 PC 发生解聚,细胞自噬水平降低^[31]。

3 初级纤毛和信号级联反应

PC 膜表面镶嵌或锚定有多种通道蛋白和受体,是其发挥机械和化学传感器作用的分子基础。PC 在软骨生长板中作为信号级联的关键部位,有多种信号通路直接与其连接,重视其上下游及局部信号网络的影响,对软骨发育维持和相关疾病障碍具有重要意义。

3.1 机械敏感性离子通道

MSC 是软骨细胞进行机械力感知和响应的分子基础。目前的研究仅发现瞬时感受器电位通道香草素受体亚家族 (transient receptor potential vanilloid, TRPV) 中的 TRPV4 表达于软骨细胞 PC 膜表面。PC 通过 TRPV4 可感知软骨细胞力学微环境中渗透压的变化,并引起膜内外钙离子 (Ca^{2+}) 浓度的改变^[32]。值得注意的是,TRPV4 在整个软骨细胞膜表面皆有分布,并不局限于 PC,但 PC 结构与功能的完整性是其介导 Ca^{2+} 反应的生理学基础。 Ca^{2+} 信号变化是软骨细胞体现其机械敏感性的标志性基本过程^[33]。在力学载荷作用下 ECM 刚度改变,力学信号传至软骨细胞并激活 TRPV4,可形成 Ca^{2+} 微区,诱导 Ca^{2+} 大量内流入纤毛,进而引起下游级联反应,影响软骨细胞功能^[34-36]。同时在正常情况下,TRPV4 也存在一定的反馈调节机制。当其通道打开, Ca^{2+} 内流后,膜内 Ca^{2+} 浓度升高,其后不同因素激活该通道的速度和幅度可显著提高;而一段时间后,膜内 Ca^{2+} 升高至饱和状态,通道又可被 Ca^{2+} 依赖性的负反馈机制所阻断,反映出细胞钙超载的现象,保护细胞本身不会因为过大的电压差而出现异常^[37]。据此 PC 也将表现出极为完善的负反馈机制,PC 基质中的 Ca^{2+} 和环磷酸腺苷浓度升高,从而正向促进 IFT 合成速率,使 PC 的长度增加,最终抑制 PC 对于流动剪切力的反应。

3.2 细胞信号转导

除了力学载荷诱导的钙离子传导反应外,另外还有些蛋白可通过 IFT 系统的双向转运过程作为多种细胞信号通路关键分子发挥相应作用^[38],如 Hedgehog (Hh) 信号通路、豪猪蛋白-甲状腺素相关肽 (Ihh/PTHrP) 信号轴、转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)- β 信号家族、骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 信号通路、经典与非经典 Wnt 信号通路、成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 信号通路和 Notch 信号转导等。这些细胞信号通路皆与软骨生长板、软骨细胞形态及软骨内骨化具有较大的关联性。Hh 通路是调控软骨细胞物质代谢的关键通路。Hh 配体是多条细胞转导途径的关键启动因子或核心调节物质,游离的 Ihh 配体能激活 PC 膜表面的多种通道蛋白和受体蛋白,依赖于 PC 本身的 IFT 系统

进行信号转导,从而构成交互网络共同调控软骨细胞的生长发育^[39]。另有研究发现,软骨细胞 Hh 通路的激活也可通过 PC 感受应力刺激后介导,并与 Ihh/PTHrP 信号轴形成负反馈环路,保持软骨细胞处于良好发育状态,并抑制新生软骨细胞分化^[40]。因此,本文有理由推测,Hh 通路、MSC、应力敏感型受体之间可能具有一定的级联关系,第 2 信使 Ca^{2+} 将作为关键物质,并与 Wnt 信号通路紧密联系。但其余信号转导过程的机械敏感性以及 PC 的影响并未见有相关报道,PC 缺损与否对各个信号通路的作用和联系也有待探索。

3.3 应力敏感型受体

PC 也参与应力介导的软骨发育调控过程。研究证实,PC 可在应力刺激的条件介导软骨前体细胞和肥大细胞的终末分化^[41]。组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)中具有机械敏感性的是 HDAC4 与 HDAC6。力学载荷可通过 HDAC6 调节 PC 的结构,高应变刺激将诱导 PC 的解聚,阻断 Hh 通路和聚蛋白多糖酶 5 的表达^[42]。同时,力学载荷在软骨细胞中发挥抗炎作用抑制白介素 IL-1 β 的机制可能是由 HDAC6 活化调节的 IFT 依赖性途径和微管蛋白乙酰化和聚合发生的^[43]。因此,PC 对于软骨细胞外机械刺激具有一定的信号级联放大效应,可作为日后临床通过操纵细胞行为诱导组织改变的潜在治疗靶点。

4 初级纤毛与骨关节类疾病

生物力学因素对于软骨组织稳态的维持至关重要。PC 作为一种具有机械感受的“天线”细胞器,它对于软骨发育起着不可或缺的作用,PC 或纤毛相关蛋白的表达缺失或功能异常都将会导致相应的骨关节疾病。

4.1 骨性关节炎

骨性关节炎(osteoarthritis, OA)发病机制目前尚未完全阐释清楚,重视生物力学因素以及延缓软骨组织损伤是其治疗的关键。目前在 OA 整个发病的过程中,每个软骨细胞皆可观察到 PC 的存在。但与正常组织不同的是,损伤区软骨 PC 表达比例和长度明显增加,过度伸长后易破坏纤毛内转运过程。另外,OA 软骨细胞 PC 定向也发生改变,浅表区软骨细胞将以细胞群的形式存在,PC 则朝向细

胞群的中央^[44]。从目前的研究来看,多因素导致的 IFT 缺失或突变是诱发 OA 的原因之一。在敲除 IFT 88 基因后可显示出早期 OA 的迹象^[45]。在 OA 标记物表达水平上调的同时伴有关节软骨硬度降低,可能与 Hh 通路的异常活化有关。IL-1 高表达是 OA 的主要特征,其通过蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 依赖途径诱导 PC 增长^[46]。但在 IL-1 β 存在的情况下,Hh 却并不会因此异常激活造成 ECM 降解,对于 Hh 在 OA 发病机制中的作用和联系仍很大程度上未知^[47]。除此之外,PC 在响应 IL-1 后诱使长度增加的同时也存在低氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)-2 α 瞬时积累增多的现象^[48]。HIF-2 α 一方面可通过诱导基质降解酶的表达而促进 OA 的发展,也可通过 HIF-2 α /AURK A (极光激酶 A)/NEDD 9(经元细胞表达发育下调基因 9)途径促进 PC 丢失,加速 OA 进程^[49]。现有研究发现,在组织学水平上,IFT 140 在骨质疏松症长骨中的含量存在降低现象^[50]。IFT140 在成骨细胞和软骨细胞中均有特征性表达,这是否表明 PC 可作为构建起 OA 与骨质疏松症之间潜在病理联系的生物标记物,也有待商榷。但有证据表明,PC 的确可作为 OA 性疾病的新型治疗靶标^[51]。

4.2 软骨肿瘤

良性骨软骨瘤和恶性骨肉瘤是软骨组织中最多发变的病变。在骨软骨瘤内,PC 的形成过程与正常无异,但其生长取向转变成与生长轴相平行的方向;而位于骨肉瘤中的 PC 则被完全破坏,随机分布于软骨细胞表面^[52]。在小鼠外周骨肉瘤中,大量软骨细胞 PC 缺损将可能引起细胞极性丧失。PC 发生比例大幅降低,对于正常软骨细胞会产生增殖障碍,从而会促进骨肉瘤的侵袭性增殖^[53]。另一方面,敲除 IFT 88 破坏 PC 会导致 Hh 信号通路进一步激活,对肿瘤细胞的生长有促进作用^[54]。而在骨软骨瘤中,Hh 信号通路被阻断,呈现出均质性^[55]。因此,PC 在肿瘤临床诊断中也可作为区分良恶性的生物标记物。但 PC 在软骨肿瘤中是促进还是抑制作用,目前仍存在大量争议,造成软骨肿瘤的 IFT 诱发因素和具体的生物力学作用机制有待进一步研究。

5 总结与展望

PC 作为机械传感器在软骨组织力学微环境中

占有独特地位,在软骨发育和维持中起着重要的作用。IFT系统和Hh通路是PC参与软骨细胞各项生命活动的关键基础,它们的表达缺失或功能异常都将诱发OA、骨肿瘤等相关疾病,同时也是临床治疗的潜在治疗靶点,可为软骨相关疾病的发病机制研究和临床治疗提供一个新思路。但同时PC与周围组织大环境的联系并不密切,PC的生长过程可能不仅和中心体相关,与软骨细胞骨架和细胞自噬或许有着更深层次的关系。对于细胞信号转导,目前大量研究集中于Hh通路和Wnt信号转导上,对于其他的信号转导途径如Notch通路很大程度上依然未知。积极探索PC局部信号网络,将有利于促进软骨疾病基于组织工程疗法的深入研究。

致谢:衷心感谢天津中医药大学中医药研究院崔元璐老师对此文稿的严谨审查及重要建议。

参考文献:

- [1] WHEATLEY DN, WANG AM, STRUGNELL GE. Expression of primary cilia in mammalian cells [J]. Cell Bio Int, 1996, 20(1): 73-81.
- [2] POOLE CA, JENSEN CG, SNYDER JA, *et al.* Confocal analysis of primary cilia structure and colocalization with the Golgi apparatus in chondrocytes and aortic smooth muscle cells [J]. Cell Biol Int, 1997, 21(8): 483-494.
- [3] JENSEN CG, POOLE CA, MCGLASHAN SR, *et al.* Ultrastructural, tomographic and confocal imaging of the chondrocyte primary cilium *in situ* [J]. Cell Biol Int, 2004, 28(2): 101-110.
- [4] GARDNER K, ARNO CZKY SP, LAVAGNINO M. Effect of *in vitro* stress-deprivation and cyclic loading on the length of tendon cell cilia *in situ* [J]. J Orthop Res, 2011, 29(4): 582-587.
- [5] SUBRAMANIAN A, BUDHIRAJA G, SAHU N. Chondrocyte primary cilium is mechanosensitive and responds to low-intensity-ultrasound by altering its length and orientation [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2017, 91(Pt A): 60-64.
- [6] RICH DR, CLARK AL. Chondrocyte primary cilia shorten in response to osmotic challenge and are sites for endocytosis [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2012, 20(8): 923-930.
- [7] WANG S, WEI Q, DONG G, *et al.* ERK-mediated suppression of cilia in cisplatin-induced tubular cell apoptosis and acute kidney injury [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1832(10): 1582-1590.
- [8] CHANG CF, SERRA R. Ift88 regulates Hedgehog signaling, Sfrp5 expression, and β -catenin activity in post-natal growth plate [J]. J Orthop Res, 2013, 31(3): 350-356.
- [9] SONG B, HAYCRAFT CJ, SEO HS, *et al.* Development of the post-natal growth plate requires intraflagellar transport proteins [J]. Dev Biol, 2007, 305(1): 202-216.
- [10] MAES C, KOBAYASHI T, SELIG MK, *et al.* Osteoblast precursors, but not mature osteoblasts, move into developing and fractured bones along with invading blood vessels [J]. Dev Cell, 2010, 19(2): 329-344.
- [11] YANG L, TSANG K, TANG H, *et al.* Hypertrophic chondrocytes can become osteoblasts and osteocytes in endochondral bone formation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(33): 12097-12102.
- [12] WILUSZ RE, SANCHEZ-ADAMS J, GUILAK F. The structure and function of the pericellular matrix of articular cartilage [J]. Matrix Biol, 2014, 39: 25-32.
- [13] DARLING EM, WILUSZ RE, BOLOGNESI MP, *et al.* Spatial mapping of the biomechanical properties of the pericellular matrix of articular cartilage measured *in situ* via atomic force microscopy [J]. Biophys J, 2010, 98(12): 2848-2856.
- [14] WILUSZ RE, DEFRATE LE, GUILAK F. Immunofluorescence-guided atomic force microscopy to measure the micromechanical properties of the pericellular matrix of porcine articular cartilage [J]. J R Soc Interface, 2012, 9(76): 2997-3007.
- [15] POOLE CA, ZHANG ZJ, ROSS JM. The differential distribution of acetylated and deetyrosinated alpha-tubulin in the microtubular cytoskeleton and primary cilia of hyaline cartilage chondrocytes [J]. J Anat, 2001, 199(4): 393-405.
- [16] MCGLASHAN SR, JENSEN CG, POOLE CA. Localization of extracellular matrix receptors on the chondrocyte primary cilium [J]. J Histochem Cytochem, 2006, 54(9): 1005-1014.
- [17] BESSCHETNOVA TY, KOLPAKOVA-HART E, GUAN Y, *et al.* Identification of signaling pathways regulating primary cilium length and flow-mediated adaptation [J]. Curr Biol, 2010, 20(2): 182-187.
- [18] ISHIKAWA H, MARSHALL WF. Ciliogenesis: Building the cell's antenna [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2011, 12(4): 222-234.
- [19] TASCHNER M, BHOGARAJU S, LORENTZEN E. Architecture and function of IFT complex proteins in ciliogenesis [J]. Differentiation, 2012, 83(2): S12-22.
- [20] KATOH Y, TERADA M, NISHIJIMA Y, *et al.* Overall architecture of the intraflagellar transport (IFT)-B complex

- containing Cluap1/IFT38 as an essential component of the IFT-B peripheral subcomplex [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(21): 10962-10975.
- [21] TASCHNER M, WEBER K, MOURÃO A, *et al.* Intraflagellar transport proteins 172, 80, 57, 54, 38, and 20 form a stable tubulin-binding IFT-B2 complex [J]. *EMBO J*, 2016, 35(7): 773-790.
- [22] KITAMI M, YAMAGUCHI H, EBINA M, *et al.* IFT20 is required for the maintenance of cartilaginous matrix in condylar cartilage [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 509(1): 222-226.
- [23] XIANG W, ZHANG J, WANG R, *et al.* Role of IFT88 in icariin-regulated maintenance of the chondrocyte phenotype [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(4): 4999-5006.
- [24] WANG Z, WANN AK, THOMPSON CL, *et al.* IFT88 influences chondrocyte actin organization and biomechanics [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(3): 544-554.
- [25] TUMMALA P, ARNSDORF EJ, JACOBS CR. The role of primary cilia in mesenchymal stem cell differentiation: A pivotal switch in guiding lineage commitment [J]. *Cell Mol Bioeng*, 2010, 3(3): 207-212.
- [26] YUAN X, YANG S. Deletion of IFT80 impairs epiphyseal and articular cartilage formation due to disruption of chondrocyte differentiation [J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0130618.
- [27] LÓPEZ DE FIGUEROA P, LOTZ MK, BLANCO FJ, *et al.* Autophagy activation protects from mitochondrial dysfunction in human chondrocytes [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(4): 966-976.
- [28] LI YS, ZHANG FJ, ZENG C, *et al.* Autophagy in osteoarthritis [J]. *Joint Bone Spine*, 2016, 83(2): 143-148.
- [29] 向威, 许涛. 初级纤毛在调控软骨细胞自噬中的作用研究 [J]. *骨科*, 2018, 9(6): 64-68.
- [30] XIANG W, JIANG T, HAO X, *et al.* Primary cilia and autophagy interaction is involved in mechanical stress mediated cartilage development via ERK/mTOR axis [J]. *Life Sci*, 2019, doi: 10.1016/j.lfs.2019.01.001.
- [31] PHUA SC, CHIBA S, SUZUKI M, *et al.* Dynamic remodeling of membrane composition drives cell cycle through primary cilia excision [J]. *Cell*, 2017, doi: 10.1016/j.cell.2019.06.015.
- [32] PHAN MN, LEDDY HA, VOTTA BJ, *et al.* Functional characterization of TRPV4 as an osmotically sensitive ion channel in porcine articular chondrocytes [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 60(10): 3028-3037.
- [33] ZHOU Y, DAVID MA, CHEN X, *et al.* Effects of osmolarity on the spontaneous calcium signaling of, *in situ*, juvenile and adult articular chondrocytes [J]. *Ann Biomed Eng*, 2016, 44(4): 1138-1147.
- [34] LEE KL, GUEVARRA MD, NGUYEN AM, *et al.* The primary cilium functions as a mechanical and calcium signaling nexus [J]. *Cilia*, 2015, doi: 10.1186/s13630-015-0016-y. eCollection 2015.
- [35] RAJASEKHARREDDY P, NEDAA A, SURYA N. Primary cilium-dependent signaling mechanisms [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(11), doi: 10.3390/ijms18112272.
- [36] MCGLASHAN SR, KNIGHT MM, CHOWDHURY TT, *et al.* Mechanical loading modulates chondrocyte primary cilia incidence and length [J]. *Cell Biol Int*, 2010, 34(5): 441-446.
- [37] STROTMANN R, SCHULTZ G, PLANT TD. Ca²⁺-dependent potentiation of the nonselective cation channel trpv4 is mediated by a C-terminal calmodulin binding site [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(29): 26541-26549.
- [38] MOORE ER, JACOBS CR. The primary cilium as a signaling nexus for growth plate function and subsequent skeletal development [J]. *J Orthop Res*, 2018, 36(2): 533-545.
- [39] MUKHOPADHYAY S, ROHATGI R. G-protein-coupled receptors, hedgehog signaling and primary cilia [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, doi: 10.1016/j.semcdb.2014.05.002.
- [40] SHAO YY, WANG L, WELTER JF, *et al.* Primary cilia modulate Ihh signal transduction in response to hydrostatic loading of growth plate chondrocytes [J]. *Bone*, 2012, 50(1): 79-84.
- [41] MATTHEW D, XU Y, YINGJIE G, *et al.* Biological and chemical removal of primary cilia affects mechanical activation of chondrogenesis markers in chondroprogenitors and hypertrophic chondrocytes [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(2): 188.
- [42] THOMPSON CL, CHAPPLE JP, KNIGHT MM. Primary cilia disassembly down-regulates mechanosensitive hedgehog signalling: A feedback mechanism controlling ADAMTS-5 expression in chondrocytes [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2014, 22(3): 490-498.
- [43] FU S, THOMPSON CL, ALI A, *et al.* Mechanical loading inhibits cartilage inflammatory signalling via an HDAC6 and IFT-dependent mechanism regulating primary cilia elongation [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2019, 27(7): 1064-1074.
- [44] MCGLASHAN SR, CLUETT EC, JENSEN CG, *et al.* Primary cilia in osteoarthritic chondrocytes: From chondrons to clusters [J]. *Dev Dyn*, 2008, 237(8): 2013-2020.