

通过 PINK1/Parkin 通路增强的线粒体自噬在骨关节炎治疗中的应用研究进展

刘珀霖^{1,2,3} 陶诗聪^{1,2} 郭尚春^{1,2,3}

¹上海交通大学医学院, 上海 200025; ²上海交通大学医学院附属第六人民医院骨科, 上海 200233; ³上海市四肢显微外科研究所, 上海 200233

通信作者: 郭尚春, Email: scguo@shsmu.edu.cn

【摘要】 自噬是细胞通过溶酶体机制将受损细胞结构成分降解并再利用的一种自然、保守的能量动态循环过程。线粒体自噬是自噬的一种形式, 指受损或失去功能的线粒体被自噬小体选择性吞噬, 随后被溶酶体降解的过程, 从而维持线粒体质量和内环境的稳定。骨关节炎(OA)是骨科常见的一种慢性退行性疾病, 也叫退行性关节炎, 是导致中老年人群活动受限的主要原因。近年来, 关于线粒体自噬调控机制以及与疾病关联的研究不断增加。目前已证明, 软骨细胞线粒体自噬与 OA 的发生密切相关。本文聚集于线粒体自噬及其与 OA 的联系, 论述了经典线粒体自噬通路——PINK1/Parkin 通路在骨关节炎治疗中的应用研究进展, 以及未来治疗 OA 的可能的方向。

【关键词】 自噬; 线粒体自噬; 骨关节炎; 软骨细胞; PINK1/Parkin

基金项目: 国家自然科学基金(81802226, 81871834, 82072530); 上海市浦江人才计划(2019PJD038); 2020 年上海市“医苑新星”青年医学人才培养资助计划; 上海市第六人民医院优秀人才培养项目(yynyq202101); 上海交通大学医学院双百人项目(2022-017)

Funding: National Natural Science Foundation of China(81802226, 81871834, 82072530); Shanghai Pujiang Program(2019PJD038); 2020 Shanghai “Rising Stars of Medical Talent” Youth Development Program (Youth Medical Talents-Specialist Program); Funding from Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People’s Hospital (ynyq202101); Shanghai Jiao Tong University School of Medicine “Two - Hundred Talent” Program(2022-017)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2023.08.019

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是最常见的退行性关节疾病之一。全球疾病负担数据(Global Burden of Disease, GBD)中, 相比于腰痛和颈痛, OA 年龄标准化发病率每年增加 0.32%, 发病率在过去近 30 年里增长了约 9%^[1]。目前全球有超过 5 亿人口患 OA, 其中女性病患比例更高。从 1990 年至 2019 年, 全球受 OA 影响的人数增加了 48%, OA 已成为全球致残原因第十五位^[2-3]。OA 病理过程表现为关节软骨的进行性退变, 随着 OA 进展, 患者进行性活动受限, 最终丧失活动能力, 给医疗体系和社会带来极大的负担。OA 的发病机制目前尚不明确, 但证明了多种危险因素参与发病, 包括: 高龄、肥胖、创伤、异常的关节解剖以及遗传易感性等因素。其中衰老是最关键的危险因素。OA 的特点是关节软骨细胞稳态机制中与衰老相关的缺陷, 转录因子 FoxO 缺陷致早发性 OA 是近期研究衰老与 OA 的热点之一^[4]。

关于 OA 发病机制的研究, 近年来集中在细胞自噬和细胞内自噬领域。细胞自噬作为细胞稳态的维持机制, 能清除软骨细胞受损的细胞器和生物大分子, 从而维持软骨细胞的稳定, 是细胞的一种自我保护机制^[5]。由于 OA 的发病和进展机制仍未明确, 目前尚无特效的治疗方法来阻止或延缓 OA 的进展, 临床常用的非甾体类抗炎药仅作为缓解病变部位疼痛、红肿的症状的方法, 不能阻断 OA 的进展, 且药物副作用多, 其他药物如营养软骨药, 改善微循环药物等也被证明其疗效非常有限^[6]。

近年来针对自噬增强和活性氧清除在 OA 治疗中的研究逐渐增加, 线粒体自噬通路开始成为 OA 发病机制及治疗的研究热点^[7-8]。基于此背景, 开发安全有效增强自噬活性的药物是治疗 OA 的一种有前景的方向。本文就细胞内自噬中线粒体自噬的基本机制、线粒体自噬与 OA 的相关性、以及增强线粒体自噬的药物相关研究进展进行综述, 以期为 OA 潜在的治疗方向提供参考。

自噬和线粒体自噬概述

自噬, 又叫自体吞噬, 最先由比利时细胞生物学家 Christian René de Duve 于 1963 年提出, 是细胞自身结构通过溶酶体, 将受损的细胞器、错误折叠的蛋白质和其他大分子物质运送至溶酶体降解并再利用的高度保守过程, 通过维持细胞的生物能、清除蛋白质聚集物和受损细胞器来影响细胞的生存^[9]。根据溶酶体不同的吞噬过程, 可将自噬主要分为巨自噬、微自噬、和分子伴侣介导的自噬, 其中巨自噬是主要的自噬途径, 用于清除受损的细胞器或未被使用的蛋白质来降低细胞的损害^[10]。吞噬过程主要分三步: 首先吞噬细胞吞噬需要降解的物质, 然后受损细胞器周围自噬体的形成, 最后是自噬体通过细胞质与溶酶体融合, 溶酶体内酸性水解酶降解自噬体内内容物^[10]。自噬作为真核生物体内的普遍现象, 可以是保护性的, 也可能对机体造成损害, 这取决于自噬存在的状态和激活条件。根据自噬

的激活条件不同,可以分为生理状态下的自噬和非生理因素刺激诱导的自噬。通常生理状态下自噬激活水平低,用于细胞修复、更新,参与细胞内稳态的维持和疾病预防^[11-13]。然而,当机体处于应激反应,如缺氧,活性氧增多,DNA 损伤,蛋白质聚集,细胞器受损,病原体侵入等因素导致细胞损伤时,自噬水平就会被进一步上调,清除细胞受损部分或产生的有害成分,对细胞内大分子或细胞器降解形成可回收利用的细胞成分,从而保证细胞在应激状态下存活^[14-15]。值得一提的是,当细胞处于营养应激时,会很快诱导自噬,而该种应激主要由营养不平衡所造成,或为营养缺乏,或为营养过量^[15]。前者细胞内一磷酸腺苷(adenosine monophosphate, AMP)与三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)比值升高,通过活化 AMP 依赖的蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)信号通路激活自噬;后者则是高浓度的葡萄糖通过活性氧(reactive oxygen species, ROS)途径激活自噬^[15]。目前的证据表明,自噬虽然是细胞的一种保护机制,但是自噬的过度活化,则具有细胞毒性,对 DNA 损伤的修复具有阻碍作用^[16]。当自噬溶酶体中的细胞物质自我消化超过细胞存活的临界低值时,就会引起自噬依赖性细胞死亡(autoptomy-dependent cell death, ADCD)^[17]。由此可见,自噬对细胞的作用具有两面性,即处于生理适应范围的自噬对机体有益,而当自噬过度激活超过细胞耐受能力时,对机体反而有害,这种害处常常表现为诱导细胞死亡。

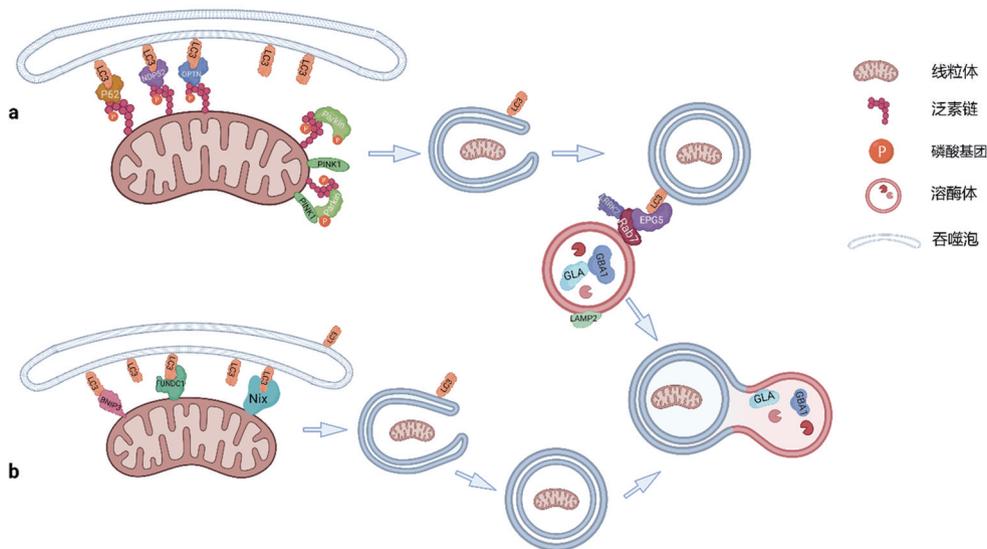
线粒体是位于大多数真核细胞内的双层膜细胞器,是细胞内进行氧化磷酸化和合成能量的“通货”,即三磷酸腺苷的主要场所,为细胞的活动提供能量^[18]。此外,线粒体还控制氧化还原反应的稳态,Ca²⁺的储存和信号传递,铁代谢,先天免疫和凋亡,以及细胞死亡等^[18]。线粒体自噬是细胞内自噬的一种形式,是通过自噬机制选择性清除受损或功能失调线粒体的过程,从而维持线粒体质量和数量在一定水平和内环境的稳定,属于选择性自噬的一种^[19]。选择性自噬对被降解底物具有特异性,这种特异性通常借助微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated proteins light chain 3, LC3)结合目标底物,然后将该底物定向运输至自噬体中降解实现。目前公认的几种选择性自噬类型有线粒体自噬、核糖体自噬、内质网自噬和过氧化物酶体自噬^[20]。近年来,越来越多的研究表明,线粒体自噬失调与 OA 的发生和发展有很强的相关性,线粒体自噬激活在 OA 中能维持软骨细胞活力,发挥软骨保护作用从而延缓 OA 进展^[21-23],若线粒体自噬丧失,或线粒体自身功能障碍,则会加速 OA 中软骨的退化^[24]。线粒体自噬功能失调与多种疾病相关,因此研究线粒体自噬可为相关领域疾病的病理、生理机制,以及治疗方面提供理论支撑。

线粒体自噬通路

PINK1/Parkin 通路是目前线粒体自噬研究领域中最经典的信号通路。通常线粒体自噬调节途径分为泛素依赖和非泛素依赖两大类,PINK1/Parkin 信号通路调节泛素依赖的线粒体自噬^[25]。线粒体自噬的诱导与线粒体跨膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP, $\Delta\Psi_m$)相关联。 $\Delta\Psi_m$ 是跨越其内膜与基质形成的电位差,通常呈现基质侧为负,内膜侧为正的电荷分布。 $\Delta\Psi_m$ 与 pH 梯度(ΔpH)可共同形成氢离子的跨膜电位来制造 ATP。细胞内 $\Delta\Psi_m$ 和 ATP 的水平保持相对稳定,可

反映正常的生理活动。PINK1 在健康线粒体上被降解,在去极化的线粒体上被保留,从而诱导线粒体自噬,因此 $\Delta\Psi_m$ 可在一定程度上反应线粒体的健康状态^[26]。PINK1 是一种线粒体外膜蛋白,具有丝氨酸激酶活性,可靶向连接线粒体。由于膜转运复合体:外膜转位酶(translocase of the outer membrane, TOM)和内膜转位酶(translocases of inner membrane, TIM)存在,将 PINK1 持续运输至线粒体内膜,随即被内膜的蛋白酶切割成短片段,最终通过泛素蛋白酶系统降解。因此健康的线粒体外膜 PINK1 的表达水平很低^[27]。当线粒体受到损伤时,内外两侧的膜电位值减小,即发生线粒体膜电位去极化,原有的电位梯度消失,PINK1 进入线粒体内膜的途径被阻碍,促进线粒体 PINK1 稳定在外膜。稳定后的 PINK1 会通过磷酸化 Ser402 等相关位点被激活,开始募集 Parkin 至线粒体的表面,从而启动 PINK1-Parkin 信号通路诱导线粒体自噬^[28]。此外,附近区域的泛素和多聚泛素链也会被 PINK1 磷酸化,随后磷酸化的泛素与尚无活性的 Parkin 结合,可使其磷酸化位点暴露,从而被 PINK1 磷酸化,激活 E3 连接酶的活性^[29]。活化后的 Parkin 会使线粒体外膜大量的底物泛素化产生泛素链,泛素又作为 PINK1 磷酸化的底物,故泛素化的底物越多,PINK1 的底物也越多,依靠 PINK1 的 Parkin 募集也得到增强,该过程类似于正反馈的放大效应^[30]。磷酸化的泛素链降解通过去泛素酶水解得以实现,一些去泛素化酶被发现通过改变 Parkin 活性来调节线粒体内稳态,包括泛素特异性加工酶(ubiquitin-specific proteases, USPs)中的 USP8、USP14、USP15、USP30、USP33 和 USP35 等。上述去泛素化酶可水解清除已经在线粒体表面形成的泛素链,下调线粒体自噬水平,其中 USP30 是一个关键的线粒体调控因子,已经被深入研究,其他如 USP8、USP14、USP15 等仅在细胞系和果蝇模型中进行了实验,尚需进一步在更高等动物模型实验中得到证实^[31]。泛素化和去泛素化两种生物活动之间的平衡控制着 Parkin 依赖的线粒体自噬,表示多聚泛素链作为受损线粒体标记信号起作用。适配器蛋白 P62 作为泛素化线粒体外膜与 LC3 蛋白的媒介,可介导二者的结合,通过与 LC3 的结合来启动自噬体的形成,线粒体首先被包裹进含 LC3 的双层膜中,自噬体发生酸化与溶酶体前体融合形成自噬溶酶体,随后将受损线粒体降解^[32](图 1)。受损线粒体清除后可有效减少软骨细胞内的 ROS,降低 ROS 对细胞的损害,提高软骨细胞存活率^[33]。

上述线粒体自噬是 Parkin 介导的过程,其中 Parkin 泛素化是一个标志性特征。除了这种依赖 Parkin 泛素化线粒体自噬的途径,还有另一种避开 Parkin 泛素化过程从而诱导的线粒体自噬,这一途径由线粒体膜上的自噬受体蛋白直接介导^[34]。线粒体外膜蛋白作为线粒体自噬受体,通过与 LC3 和 γ 氨基丁酸 A 型受体相关蛋白(gamma-aminobutyric acid type A receptor-associated protein, GABARAP)(Atg8 蛋白)直接相互作用招募自噬小体,从而介导线粒体自噬,介导此过程使其具有靶向识别能力的是自噬受体蛋白具有的 LC3 相互作用区域(LC3-interacting region, LIR)基序^[35]。BCL-2 相互作用蛋白 3(BCL2 interacting protein 3, BNIP3),NIP3 样蛋白 X(Nix),FUN14 结构域蛋白(FUNDC1)都介导了非 Parkin 依赖的线粒体自噬^[36]。Nix 被称为 BNIP3L,是定位于线粒体膜和内质网的一种受体蛋白,因其属于 Bcl-2 家族,过去常常被认为是促凋亡蛋白,其表达受到



注:a 为 PINK1/Parkin 通路;b 为非 Parkin 依赖的受体通路

图 1 线粒体自噬机制简图

缺氧诱导因子 1(hypoxia inducible factor-1 alpha, HIF1 α) 转录水平的调控。在缺氧条件下, HIF1 α 表达增强, 会导致 Nix 表达相应增加, 在缺氧条件下促进线粒体自噬^[36]。BNIP3 也是定位于线粒体外膜的自噬受体蛋白, 其活性同样受 HIF1 α 的调控, 在缺氧条件下同 Nix 共同调节线粒体自噬^[37]。有研究发现, 单独使用 2-噻吩甲酰三氟丙酮(2-thenoyltrifluoroacetone, TTFA) 或与顺铂联合使用诱导的自噬均不会导致 PINK1 积累, 这意味着在缺氧条件下, 细胞通过激活受体介导的通路存活, 与此同时监测到 BNIP3 和 BNIP3L/Nix 的积累, 说明二者在此通路中起关键作用^[38]。进一步的研究发现, 敲除 BNIP3 的 A549 细胞并没有阻断缺氧诱导的保护; 然而, 在缺乏 BNIP3 的细胞中, 检测到 BNIP3L 代偿性上调; 同时敲除 BNIP3 和 BNIP3L/Nix 时, 缺氧对细胞凋亡的抑制作用减弱, 但未完全消除^[39], 该结果提示, 即使 BNIP3 不存在, BNIP3L/Nix 仍然可以维持线粒体自噬, 且两者不是该通路的完全决定者。

FUNDC1 是新发现的另一种定位于线粒体且含有 LIR 基序的线粒体自噬受体, 与 BNIP3 和 Nix 相似, 可在缺氧条件下调节线粒体自噬^[40]。在正常含氧量的情况下, LIR 基序被非受体酪氨酸激酶(SRC 激酶)的 Tyr18 和酪蛋白激酶 II(casein kinase II, CK2)的 Ser13 磷酸化, 处于活性抑制状态, 不能与 LC3 结合, 由 FUNDC1 介导的线粒体自噬受到抑制; 当处于缺氧状态时, FUNDC1 蛋白上的 Ser13 与 Thr18 由磷酸甘油酸变位酶 5(phosphoglycerate mutase 5, PGAM5)去磷酸化而激活, 从而促进自身与 LC3 的连接与相互作用, 增强线粒体自噬^[41](图 1)。目前, 越来越多的证据表明, PINK1/Parkin、BNIP3 在 OA 的线粒体自噬中发挥作用^[42-44]。然而其他的自噬通路如 FUNDC1, Nix 受体介导的线粒体自噬通路是否与 OA 有明确的相关性未有定论, 未来还需进一步研究。因此, 针对 PINK1/Parkin、BNIP3 调控的线粒体自噬, 开发增强通路活性的药物可能是未来 OA 治疗研究的一个重要方向。

线粒体自噬异常与骨关节炎疾病进展

OA 是与衰老相关的慢性退行性疾病, 线粒体功能障碍参

与了衰老和多种退行性疾病^[54]。虽然目前 OA 的发病机制尚不明确, 但软骨细胞死亡, 软骨组织的进行性退化被认为是 OA 发病的重要标志。受损蛋白质和细胞器的积聚是 OA 一个显著的特征, 这些积累的物质包括功能受损的线粒体以及线粒体自噬相关蛋白^[45, 46]。有研究表明, OA 软骨中存在软骨细胞线粒体肿胀, 此外还显示出线粒体膜电位降低, 提示 OA 发生发展过程与线粒体功能受损之间的相关性^[47]。而在 Haqqi 等人 Parkin 介导的线粒体自噬在软骨细胞炎症调节的研究中, 发现白介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 诱导的 OA 模型中软骨细胞存在过量 ROS, 受损线粒体堆积并且发生去极化, 伴随 Parkin 介导的线粒体自噬水平升高^[48]。线粒体作为细胞的“能量工厂”, 通过产生 ATP 为软骨细胞提供能量, 从而维持软骨细胞的正常生理活动。此外线粒体还参与诸如细胞凋亡、钙稳态, 免疫与炎症等细胞生命活动的调节, 因此线粒体结构和功能的完整对软骨细胞的生存活动至关重要。一旦线粒体受损, 软骨细胞自身的钙稳态难以维持, 活性氧增加, 破坏细胞亚结构诱发炎症, 抑制线粒体自噬, 干扰损伤细胞器和有害物质的清除, 从多方面加重 OA^[49]。线粒体自噬是一种特殊的细胞内自噬, 通过选择性降解失去功能的线粒体维持线粒体周转, 是细胞内稳态的重要机制^[50]。一些刺激因素, 如缺氧, 氧化应激, 膜电位破坏均可导致线粒体自噬系统的激活, 从而去除受损线粒体, 保护软骨细胞。线粒体自噬功能若受损, 就会导致软骨细胞失去维持内部环境稳定的“工具”, 导致软骨细胞死亡和软骨退化^[49, 51-52]。Ansari 等人在 Parkin 病理条件下对软骨细胞生存的影响的研究中, 软骨细胞 Parkin 缺失破坏了 PINK1-Parkin 介导的线粒体自噬途径, 导致 IL-1 β 诱导 OA 模型中线粒体自噬功能的下降和氧化应激增加, 而增强 Parkin 的表达则能清除不健康的线粒体, 降低 ROS, 促进了软骨细胞凋亡^[43]。Lee 等人将线粒体移植到 OA 大鼠膝关节中, 移植后的大鼠软骨破坏以及软骨丢失得到缓解, 且软骨中 IL-1 β , 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α), 基质金属蛋白酶 13(matrix metalloproteinases-13, MMP-13) 的表达降低。此外, 将来自 OA 患者

的软骨细胞与健康线粒体共培养,软骨细胞的破坏得到改善,同时降低了炎症细胞死亡^[53]。为确定 HIF-1 α 介导的自噬与 OA 的关系,Hu 等人^[54]的实验中发现在人和小鼠 OA 软骨中 HIF-1 α 表达增加;SiRNA 敲除 HIF-1 α 后进一步加重缺氧诱导的线粒体功能障碍,而当 HIF-1 α 稳定存在时,可通过缺氧条件下软骨细胞的自噬来缓解软骨细胞的凋亡和衰老,并且缓解了 OA 小鼠的软骨降解。另外,Fernandez-Moreno 等人总结了大量骨关节炎中线粒体改变的证据,认为骨关节炎可以被认为是一种线粒体疾病^[55]。总结以上研究证据,可以认为 OA 是种线粒体自噬相关疾病。

总之,线粒体与 OA 的发生发展具有密切联系,这种联系极可能是通过线粒体自噬水平的改变而实现,但 OA 的发病是多因素参与的,线粒体功能受损,尤其是线粒体自噬功能的受损,是否是 OA 发病的必要因素仍未可知。今后的研究方向可能聚焦于线粒体自噬功能障碍与 OA 之间的因果联系,对 OA 发病的贡献程度等。

OA 的常规治疗通常是药物、物理治疗和外科手术的结合。虽然药物的作用类型多样,如抗炎止痛的非甾体抗炎药、改善局部微循环药和软骨营养药等,但这些传统药物只能缓解 OA 症状,不能有效阻止 OA 的进展或是逆转病理改变^[6]。当 OA 进展至晚期,患者的日常活动会受到限制,常进行外科手术干预。但手术治疗针对老年患者有诸多局限性,一是术中风险高,二是术后疗效的不确定性以及患者适应过程长,三是患者的生活质量仍会有所下降,不能缓解患者的负担^[3]。近年来,随着对细胞自噬领域的深入研究,发现了细胞自噬与 OA 之间的联系,尤其是增强细胞自噬以及线粒体自噬在 OA 的治疗中也取得了以下进展。

一、姜黄素可通过上调 AMPK-PINK1-Parkin 线粒体自噬治疗 OA

姜黄素是从植物姜黄的根茎中提取出的一种多酚类物质,是姜黄发挥生物学作用的主要活性产物。研究表明,姜黄素的

生物学特性极为广泛,具有抗炎、抗氧化、神经保护、诱导线粒体自噬等作用。在衰老和退行性的疾病中,线粒体自噬维持着整个细胞自噬,尤其是在氧化应激时^[56]。姜黄素具有良好的抗炎性能和抗氧化性能以及增强线粒体自噬作用,因此对 OA 具有潜在治疗价值。一些体内和体外实验已经证明了姜黄素治疗 OA 的有效性:Xu 等^[57]将姜黄素负载到脂肪组织来源的间充质干细胞衍生的小细胞外囊泡中,实验结果表明,姜黄素在体外可下调叔丁基过氧化氢诱导的氧化应激和软骨细胞凋亡,在小鼠 OA 模型中可有效地缓解 OA 软骨的氧化应激和细胞凋亡,具有软骨保护作用。Yabas 等^[58]的研究也发现,一种新型姜黄素制剂可减少 OA 大鼠的关节肿胀,并降低炎症介质,增加超氧化物歧化酶水平,有效地改善 OA 的病理进展。一般认为,姜黄素抗关节炎作用的主要机制包括软骨细胞再生和凋亡、炎症和氧化应激,姜黄素的软骨保护和抗炎作用可能来自于其对 NF- κ B 系统的作用,该系统会介导细胞炎症反应,而核因子 κ B (nuclearfactorkappa-B, NF- κ B) 系统是由 KappaB 激酶抑制剂 (inhibitor of kappaB kinase,IKK) 的激活启动的,它使 IKB α 磷酸化,并通过泛素化使其降解,释放的 NF- κ B 复合体(一种由 p50 和 p65 组成的二聚体)然后进入细胞核,打开负责炎症的基因(图 2)^[56]。

体外研究表明,姜黄素可阻止 p65 的磷酸化以及转位到软骨细胞的细胞核,从而抑制炎症反应^[59]。然而,姜黄素的作用靶点和机制至今尚未统一。最近 Lan 等^[60]通过三氧化二砷对鸭骨骼肌的损伤模型研究了姜黄素调节线粒体自噬的机制,结果表明,姜黄素可阻碍三氧化二砷引起的体重减轻,降低骨骼肌中砷含量的积累,缓解 ATO 引发的氧化应激,主要表现为总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)升高。此外,该研究还发现,三氧化二砷破坏了正常的线粒体裂变/融合(Drp1, OPA1, Mfn1/2),抑制了线粒体生物发生(PGC-1 α , Nrf2, TFAM),而姜黄素可减轻线粒体损伤和细胞核空泡变性,促进线粒体融合,激活

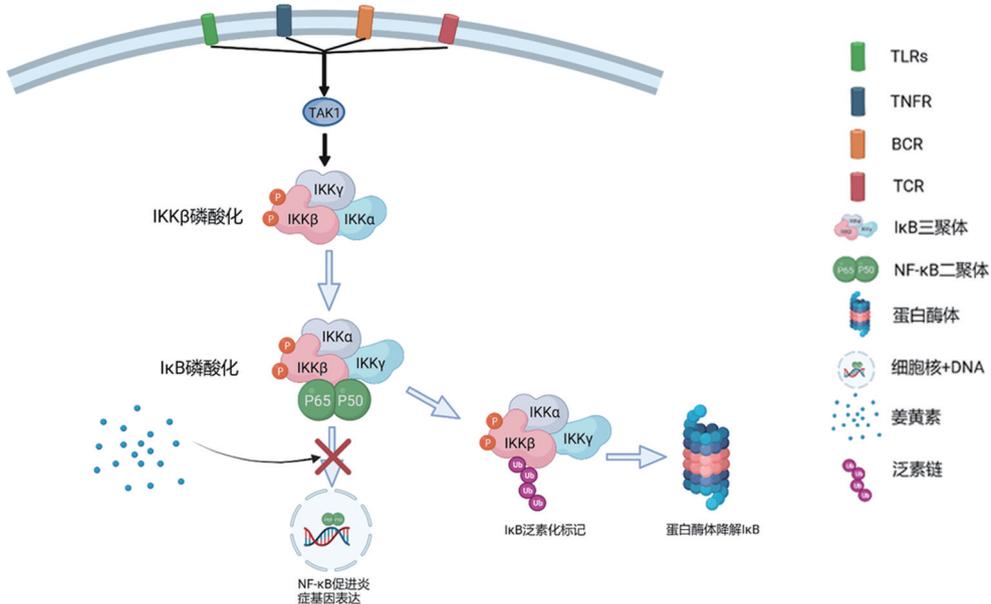


图 2 姜黄素通过 NF- κ B 通路的抗炎机制

PGC-1 α 通路,从而保护肌细胞。由于该研究仅反应了姜黄素对骨骼肌细胞损伤的调控作用,对于其治疗 OA 的作用靶点和机制并未研究,因此并不能完全反应 OA 模型中的软骨细胞调控活动的分子机制。Jin 等^[61]的研究发现,通过碘乙酸钠和 IL-1 β 诱导小鼠 OA 模型,用姜黄素处理并建立对照实验,进一步研究了姜黄素作用的机制,结果发现,姜黄素组中,其线粒体自噬相关蛋白 PINK1, Parkin, LC3B, P62, Beclin1, 以及二型胶原蛋白和 mRNA 水平都显著增加,且在 OA 软骨细胞中,姜黄素激活 AMPK 磷酸化导致 AMPK 抑制,线粒体自噬的关键蛋白减少。该结果表明,姜黄素很可能是通过 AMPK-PINK1-Parkin 线粒体自噬通路的增强来发挥抗 OA 作用,这是以往文献未曾提及的(图 3)。

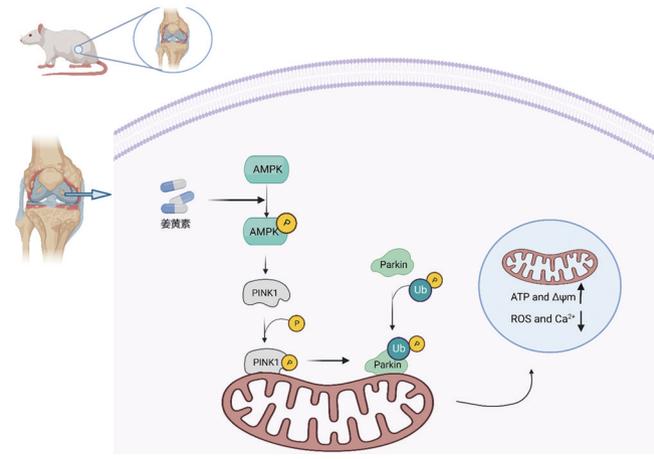


图 3 姜黄素增强 PINK1/Parkin 线粒体自噬通路的潜在机制

近年来,OA 的治疗研究虽然取得了积极的成果,但是姜黄素口服后生物利用度低是目前亟需解决的关键问题;提高姜黄素生物利用度,开发复方缓释剂,纳米颗粒负载姜黄素靶向缓释是可行的方案^[62-64]。今后的研究方向可能是开发高生物利用度的姜黄素制剂或高效的药物递送方案,从而推动姜黄素的临床应用。

二、二甲双胍可通过上调 SIRT3/PINK1/Parkin 通路来治疗 OA

二甲双胍是临床常用的 2 型糖尿病的一线口服降糖药^[65]。然而二甲双胍的药效不仅仅局限于糖尿病的治疗,还能扩展至多种疾病的治疗。研究表明,二甲双胍具有抗癌、调节免疫、抑制炎症、保护心血管、治疗肾脏疾病和神经退行性疾病等作用^[66-71]。近年来的证据表明,二甲双胍对线粒体具有保护作用,这种保护是通过增强线粒体自噬实现,而线粒体自噬增强是 OA 治疗研究的热点^[72-74],因此二甲双胍有望成为治疗 OA 的新药。关于二甲双胍的作用机制,研究的核心是二甲双胍和 AMP 活化的蛋白激酶(AMPK)的激活^[75]。二甲双胍作为一种具有多种生物活性的药物,对 OA 具有积极治疗效果也已被证实。Lim 等^[76]系统地总结和回顾了大量二甲双胍在 OA 中潜在在改善作用的临床前实验数据,结果表明,无论纳入研究的质量和异质性如何,所有研究均有一致的证据支持二甲双胍在 OA(尤其是膝关节炎)的软骨保护、免疫调节和镇痛等作用,此外,这些研究还发现,二甲双胍对 OA 的治疗作用是通过激活 AMPK 通路实现的。为了研究二甲双胍抗 OA 的分子机制,

Wang 等^[77]通过 IL-1 β 诱导小鼠关节炎模型,研究了二甲双胍对线粒体损伤抵抗的机制,结果显示,在 IL-1 β 的刺激下,软骨 SIRT3 表达下调,二甲双胍可上调 SIRT3,减少 ROS 的生成,增强 PINK1/Parkin 通路的表达,且 SIRT3 抑制剂预处理可抑制 PINK1/Parkin 和 LC3 等蛋白的表达。该研究结果表明,二甲双胍可通过 SIRT3/PINK1/Parkin 通路来上调线粒体自噬的水平,从而发挥抗 OA 作用。但该药是如何通过 SIRT3 调控 PINK1/Parkin 通路的? 其具体机制还有待进一步研究。

总结与展望

关于自噬调控和 OA 治疗的研究已经较为成熟,而从线粒体自噬调控角度研究治疗 OA 的药物处于起步阶段。本综述介绍了线粒体自噬的分子机制,就线粒体自噬与 OA 之间的联系进行论述,对可能作为线粒体自噬增强调控剂并用于 OA 治疗的药物研究进展进行了论述。

目前,调控线粒体自噬治疗 OA 的药物研究大都集中在线粒体 PINK1/Parkin 通路,其他如 FUNDC1、Nix 受体介导的线粒体自噬通路与 OA 之间的联系尚未明确,而增强线粒体自噬水平治疗 OA 的药物机制目前也尚未完全明确,未来研究其作用机制是一个重要的研究分支。除此之外,有文献指出“运动”、“电”、“热”、“光”可以治疗骨关节炎^[78-81]。也有文献指出这些物理因子可以影响自噬通路,如“电刺激”和“运动”可通过 PINK/Parkin 通路与线粒体自噬相联系,但关于它们治疗骨关节炎的具体机制的报道较少,因此未来明确这些物理因子治疗 OA 的机制研究也是一个重要的研究方向^[82-85]。

综上所述,针对 PINK1、Parkin、BINP3 调控的线粒体自噬,开发增强线粒体自噬通路活性的药物并明确药物作用机制,研究各种物理因子治疗 OA 的机制,以及与药物协同治疗 OA 都是未来 OA 治疗研究的重要方向。

参考文献

- [1] Stack J, McCarthy GM. Cartilage calcification and osteoarthritis: a pathological association [J]? *Osteoarthritis Cartilage*, 2020, 28 (10): 1301-1302. DOI: 10.1016/j.joca.2020.06.010.
- [2] Hunter DJ, March L, Chew M. Osteoarthritis in 2020 and beyond: a Lancet Commission [J]. *Lancet*, 2020, 396 (10264): 1711-1712. DOI: 10.1016/s0140-6736(20)32230-3.
- [3] Loeser RF, Collins JA, Diekmann BO. Ageing and the pathogenesis of osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12(7): 412-420. DOI: 10.1038/nrrheum.2016.65.
- [4] Ohzono H, Hu Y, Nagira K, et al. Targeting FoxO transcription factors with HDAC inhibitors for the treatment of osteoarthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2023, 82(2): 262-271. DOI: 10.1136/ard-2021-221269.
- [5] Xia F, Fu Y, Xie H, et al. Suppression of ATG4B by copper inhibits autophagy and involves in Mallory body formation [J]. *Redox Biol*, 2022, 52: 102284. DOI: 10.1016/j.redox.2022.102284.
- [6] Da Costa B R, Reichenbach S, Keller N, et al. RETRACTED: Effectiveness of non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of pain in knee and hip osteoarthritis: a network meta-analysis [J]. *Lancet*, 2016, 387 (10033): 2093-2105. DOI: 10.1016/s0140-6736(16)30002-2.
- [7] Xin R, Xu Y, Long D, et al. Mitochondrial acid-5 inhibits reactive oxy-

- gen species production and improves human chondrocyte survival by upregulating SIRT3-mediated, Parkin-dependent mitophagy[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 911716. DOI:10.3389/fphar.2022.911716.
- [8] Xue S, Zhou X, Sang W, et al. Cartilage-targeting peptide-modified dual-drug delivery nanoplatfrom with NIR laser response for osteoarthritis therapy[J]. *Bioact Mater*, 2021, 6(8): 2372-2389. DOI:10.1016/j.bioactmat.2021.01.017.
- [9] Doherty J, Baehrecke EH. Life, death and autophagy[J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(10): 1110-1117. DOI:10.1038/s41556-018-0201-5.
- [10] Lorincz P, Juhasz G. Autophagosome-Lysosome Fusion[J]. *J Mol Biol*, 2020, 432(8): 2462-2482. DOI:10.1016/j.jmb.2019.10.028.
- [11] Su SH, Wu YF, Wang DP, et al. Inhibition of excessive autophagy and mitophagy mediates neuroprotective effects of URB597 against chronic cerebral hypoperfusion[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(7): 733. DOI:10.1038/s41419-018-0755-y.
- [12] Boecker CA, Holzbaur ELF. Hyperactive LRRK2 kinase impairs the trafficking of axonal autophagosomes[J]. *Autophagy*, 2021, 17(8): 2043-2045. DOI:10.1080/15548627.2021.1936933.
- [13] Wang H, Xiong WC, Mei L. Excessive mitophagy for anxiety[J]. *Neuron*, 2021, 109(23): 3715-3716. DOI:10.1016/j.neuron.2021.11.007.
- [14] Qian M, Fang X, Wang X. Autophagy and inflammation[J]. *Clin Transl Med*, 2017, 6(1): 24. DOI:10.1186/s40169-017-0154-5.
- [15] Shen S, Yang L, Li L, et al. Lipid metabolism in mouse embryonic fibroblast cells in response to autophagy induced by nutrient stress[J]. *Anal Chim Acta*, 2018, 1037: 75-86. DOI:10.1016/j.aca.2017.11.005.
- [16] Sharma A, Almasan A. Autophagy and PTEN in DNA damage-induced senescence[J]. *Adv Cancer Res*, 2021, 150: 249-284. DOI: 10.1016/bs.acr.2021.01.006.
- [17] Allavena G, Cuomo F, Baumgartner G, et al. Suppressed translation as a mechanism of initiation of CASP8 (caspase 8)-dependent apoptosis in autophagy-deficient NSCLC cells under nutrient limitation[J]. *Autophagy*, 2018, 14(2): 252-268. DOI:10.1080/15548627.2017.1405192.
- [18] Ma K, Chen G, Li W, et al. Mitophagy, mitochondrial homeostasis, and cell fate[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 467. DOI:10.3389/fcell.2020.00467.
- [19] Zhang Y, Xu X, Hu M, et al. SPATA33 is an autophagy mediator for cargo selectivity in germline mitophagy[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(3): 1076-1090. DOI:10.1038/s41418-020-00638-2.
- [20] Kim J, Lee S, Kim H, et al. Autophagic organelles in DNA damage response[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 668735. DOI:10.3389/fcell.2021.668735.
- [21] Maimaitijuma T, Yu JH, Ren Y L, et al. PHF23 negatively regulates the autophagy of chondrocytes in osteoarthritis[J]. *Life Sci*, 2020, 253: 117750. DOI:10.1016/j.lfs.2020.117750.
- [22] Hu SL, Mamun AA, Shaw J, et al. TBK1-mediated DRP1 phosphorylation orchestrates mitochondrial dynamics and autophagy activation in osteoarthritis[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(3): 610-621. DOI:10.1038/s41401-022-00967-7.
- [23] Alvarez-Garcia O, Matsuzaki T, Olmer M, et al. Regulated in development and DNA damage response 1 deficiency impairs autophagy and mitochondrial biogenesis in articular cartilage and increases the severity of experimental osteoarthritis[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2017, 69(7): 1418-1428. DOI:10.1002/art.40104.
- [24] Kuwahara M, Akasaki Y, Kurakazu I, et al. C10orf10/DEPP activates mitochondrial autophagy and maintains chondrocyte viability in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. *FASEB J*, 2022, 36(2): e22145. DOI:10.1096/fj.202100896R.
- [25] Li W, He P, Huang Y, et al. Selective autophagy of intracellular organelles; recent research advances[J]. *Theranostics*, 2021, 11(1): 222-256. DOI:10.7150/thno.49860.
- [26] Li X, Zhao Y, Yin J, et al. Organic fluorescent probes for detecting mitochondrial membrane potential[J]. *Coord Chem Rev*, 2020, 420: 213419. DOI:10.1016/j.ccr.2020.213419.
- [27] Goodall EA, Kraus F, Harper J W. Mechanisms underlying ubiquitin-driven selective mitochondrial and bacterial autophagy[J]. *Mol Cell*, 2022, 82(8): 1501-1513. DOI:10.1016/j.molcel.2022.03.012.
- [28] Okatsu K, Oka T, Iguchi M, et al. PINK1 autophosphorylation upon membrane potential dissipation is essential for Parkin recruitment to damaged mitochondria[J]. *Nat Commun*, 2012, 3: 1016. DOI:10.1038/ncomms2016.
- [29] Panicker N, Dawson VL, Dawson TM. Activation mechanisms of the E3 ubiquitin ligase Parkin[J]. *Biochem J*, 2017, 474(18): 3075-3086. DOI:10.1042/BCJ20170476.
- [30] Pan W, Wang Y, Bai X, et al. Deubiquitinating enzyme USP30 negatively regulates mitophagy and accelerates myocardial cell senescence through antagonism of Parkin[J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 187. DOI:10.1038/s41420-021-00546-5.
- [31] Wang F, Gao Y, Zhou L, et al. USP30: Structure, emerging physiological role, and target inhibition[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 851654. DOI:10.3389/fphar.2022.851654.
- [32] Goodall EA, Kraus F, Harper JW. Mechanisms underlying ubiquitin-driven selective mitochondrial and bacterial autophagy[J]. *Mol Cell*, 2022, 82(8): 1501-1513. DOI:10.1016/j.molcel.2022.03.012.
- [33] Palikaras K, Lionaki E, Tavernarakis N. Mechanisms of mitophagy in cellular homeostasis, physiology and pathology[J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(9): 1013-1022. DOI:10.1038/s41556-018-0176-2.
- [34] Murakawa T, Yamaguchi O, Hashimoto A, et al. Bcl-2-like protein 13 is a mammalian Atg32 homologue that mediates mitophagy and mitochondrial fragmentation[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7527. DOI:10.1038/ncomms8527.
- [35] Bhujabal Z, Birgisiddoti AB, Sjøttem E, et al. FKBP8 recruits LC3A to mediate Parkin-independent mitophagy[J]. *EMBO Rep*, 2017, 18(6): 947-961. DOI:10.15252/embr.201643147.
- [36] Lei Y, Klionsky DJ. New regulators of PRKN-independent mitophagy[J]. *Autophagy*, 2022, 18(1): 1-3. DOI:10.1080/15548627.2021.2012867.
- [37] Ma J, Ni H, Rui Q, et al. Potential Roles of NIX/BNIP3L Pathway in Rat Traumatic Brain Injury[J]. *Cell Transplant*, 2019, 28(5): 585-595. DOI:10.1177/0963689719840353.
- [38] Madhu V, Boneski PK, Silagi E, et al. Hypoxic regulation of mitochondrial metabolism and mitophagy in nucleus pulposus cells is dependent on HIF-1 α -BNIP3 axis[J]. *J Bone Miner Res*, 2020, 35(8): 1504-1524. DOI:10.1002/jbmr.4019.
- [39] Abdrakhmanov A, Yapryntseva MA, Kaminsky VO, et al. Receptor-mediated mitophagy rescues cancer cells under hypoxic conditions[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(16): 4027. DOI: 10.3390/cancers13164027.

- [40] Liu R, Xu C, Zhang W, et al. FUNDC1-mediated mitophagy and HIF1 α activation drives pulmonary hypertension during hypoxia [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(7): 634. DOI:10.1038/s41419-022-05091-2.
- [41] Zhang W. The mitophagy receptor FUN14 domain-containing 1 (FUNDC1): a promising biomarker and potential therapeutic target of human diseases [J]. *Genes Dis*, 2021, 8(5): 640-654. DOI: 10.1016/j.gendis.2020.08.011.
- [42] Shin HJ, Park H, Shin N, et al. Pink1-mediated chondrocytic mitophagy contributes to cartilage degeneration in osteoarthritis [J]. *J Clin Med*, 2019, 8(11): 1849. DOI:10.3390/jcm8111849.
- [43] 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. DOI: 10.1016/j.joca.2017.07.020.
- [44] Kim D, Song J, Jin EJ. BNIP3-dependent mitophagy via PGC1 α promotes cartilage degradation [J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1839. DOI: 10.3390/cells10071839.
- [45] Mcculloch K, Litherland GJ, Rai TS. Cellular senescence in osteoarthritis pathology [J]. *Aging Cell*, 2017, 16(2): 210-218. DOI: 10.1111/ace.12562.
- [46] Kuo CW, Lian WS, Chen YS, et al. Mitophagy loss along with mitochondrial dysfunction accelerates losing of chondrocyte activity in osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2020, 28: S68. DOI: 10.1016/j.joca.2020.02.104.
- [47] Goutas A, Tsezou A, Trachana V. The chondroprotective function of autophagy against acute exogenous oxidative insult in osteoarthritic chondrocytes is impaired [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 120: S62. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.205.
- [48] Ansari MY, Novak K, Haqqi TM. Parkin deficiency impairs the clearance of dysfunctional mitochondria and augments IL-1 β induced inflammation in human articular chondrocytes [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2019, 27: S158. DOI: 10.1016/j.joca.2019.02.232.
- [49] Kan S, Duan M, Liu Y, et al. Role of mitochondria in physiology of chondrocytes and diseases of osteoarthritis and rheumatoid arthritis [J]. *Cartilage*, 2021, 13(2-suppl): 1102S-1121S. DOI: 10.1177/19476035211063858.
- [50] Sun K, Jing X, Guo J, et al. Mitophagy in degenerative joint diseases [J]. *Autophagy*, 2021, 17(9): 2082-2092. DOI: 10.1080/15548627.2020.1822097.
- [51] Xiong H, Chen S, Lai L, et al. Modulation of miR-34a/SIRT1 signaling protects cochlear hair cells against oxidative stress and delays age-related hearing loss through coordinated regulation of mitophagy and mitochondrial biogenesis [J]. *Neurobiol Aging*, 2019, 79: 30-42. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2019.03.013.
- [52] Lyamzaev KG, Tokarchuk AV, Panteleeva AA, et al. Induction of autophagy by depolarization of mitochondria [J]. *Autophagy*, 2018, 14(5): 921-924. DOI: 10.1080/15548627.2018.1436937.
- [53] Lee AR, Woo JS, Lee SY, et al. Mitochondrial transplantation ameliorates the development and progression of osteoarthritis [J]. *Immune Netw*, 2022, 22(2): e14. DOI: 10.4110/in.2022.22.e14.
- [54] Hu S, Zhang C, Ni L, et al. Stabilization of HIF-1 α alleviates osteoarthritis via enhancing mitophagy [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(6): 481. DOI: 10.1038/s41419-020-2680-0.
- [55] Fernandez-Moreno M, Rego-Perez I, Blanco FJ. Is osteoarthritis a mitochondrial disease? What is the evidence [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2022, 34(1): 46-53. DOI: 10.1097/BOR.0000000000000855.
- [56] Yun HR, Jo YH, Kim J, et al. Roles of autophagy in oxidative stress [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): 3289. DOI: 10.3390/ijms21093289.
- [57] Xu C, Zhai Z, Ying H, et al. Curcumin primed ADMSCs derived small extracellular vesicle exert enhanced protective effects on osteoarthritis by inhibiting oxidative stress and chondrocyte apoptosis [J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 123. DOI: 10.1186/s12951-022-01339-3.
- [58] Yabas M, Orhan C, Er B, et al. A next generation formulation of curcumin ameliorates experimentally induced osteoarthritis in rats via regulation of inflammatory mediators [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 609629. DOI: 10.3389/fimmu.2021.609629.
- [59] Chin KY. The spice for joint inflammation: anti-inflammatory role of curcumin in treating osteoarthritis [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10: 3029-3042. DOI: 10.2147/DDDT.S117432.
- [60] Lan J, Tang L, Wu S, et al. Curcumin alleviates arsenic-induced injury in duck skeletal muscle via regulating the PINK1/Parkin pathway and protecting mitochondrial function [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2022, 434: 115820. DOI: 10.1016/j.taap.2021.115820.
- [61] Jin Z, Chang B, Wei Y, et al. Curcumin exerts chondroprotective effects against osteoarthritis by promoting AMPK/PINK1/Parkin-mediated mitophagy [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 151: 113092. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113092.
- [62] Wang J, Wang X, Cao Y, et al. Therapeutic potential of hyaluronic acid/chitosan nanoparticles for the delivery of curcuminoid in knee osteoarthritis and an in vitro evaluation in chondrocytes [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(5): 2604-2614. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3817.
- [63] Ratanavaraporn J, Soontornvipart K, Shuangshoti S, et al. Localized delivery of curcumin from injectable gelatin/Thai silk fibroin microspheres for anti-inflammatory treatment of osteoarthritis in a rat model [J]. *Inflammopharmacology*, 2017, 25(2): 211-221. DOI: 10.1007/s10787-017-0318-3.
- [64] Li F. Curcumin-containing PLGA nanoparticle as a carrier for the treatment of osteoarthritis in rabbits OA model [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24: S166. DOI: 10.1016/j.joca.2016.01.325.
- [65] Bailey CJ. Metformin: historical overview [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(9): 1566-1576. DOI: 10.1007/s00125-017-4318-z.
- [66] Bahrambeigi S, Shafiei-Irannejad V. Immune-mediated anti-tumor effects of metformin; targeting metabolic reprogramming of T cells as a new possible mechanism for anti-cancer effects of metformin [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 174: 113787. DOI: 10.1016/j.bcp.2019.113787.
- [67] Lee SK, Park MJ, Jhun JY, et al. Combination treatment with metformin and tacrolimus improves systemic immune cellular homeostasis by modulating Treg and Th17 imbalance [J]. *Front Immunol*, 2021, 11: 581728. DOI: 10.3389/fimmu.2020.581728.
- [68] Nassif RM, Chalhoub E, Chedid P, et al. Metformin inhibits ROS production by human M2 macrophages via the activation of AMPK [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(2): 319. DOI: 10.3390/biomedicines10020319.
- [69] Chen C, Yuan S, Zhao X, et al. Metformin protects cardiovascular health in people with diabetes [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 949113. DOI: 10.3389/fcvm.2022.949113.
- [70] Neven E, Vervaeet B, Brand K, et al. Metformin prevents the develop-

- ment of severe chronic kidney disease and its associated mineral and bone disorder [J]. *Kidney Int*, 2018, 94 (1): 102-113. DOI: 10.1016/j.kint.2018.01.027.
- [71] Paudel YN, Angelopoulou E, Piperi C, et al. Emerging neuroprotective effect of metformin in Parkinson's disease; a molecular crosstalk [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 152: 104593. DOI: 10.1016/j.phrs.2019.104593.
- [72] Na HS, Kwon JY, Lee SY, et al. Metformin attenuates monosodium-iodoacetate-induced osteoarthritis via regulation of pain mediators and the autophagy-lysosomal pathway [J]. *Cells*, 2021, 10(3): 681. DOI: 10.3390/cells10030681.
- [73] Wang C, Yao Z, Zhang Y, et al. Metformin mitigates cartilage degradation by activating AMPK/SIRT1-Mediated autophagy in a mouse osteoarthritis model [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 1114. DOI: 10.3389/fphar.2020.01114.
- [74] Triggle CR, Mohammed I, Bshesh K, et al. Metformin: Is it a drug for all reasons and diseases? [J]. *Metabolism*, 2022, 133: 155223. DOI: 10.1016/j.metabol.2022.155223.
- [75] Rena G, Hardie DG, Pearson ER. The mechanisms of action of metformin [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(9): 1577-1585. DOI: 10.1007/s00125-017-4342-z.
- [76] Lim YZ, Wang Y, Estee M, et al. Metformin as a potential disease-modifying drug in osteoarthritis: a systematic review of pre-clinical and human studies [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2022, 30 (11): 1434-1442. DOI: 10.1016/j.joca.2022.05.005.
- [77] Wang C, Yang Y, Zhang Y, et al. Protective effects of metformin against osteoarthritis through upregulation of SIRT3-mediated PINK1/Parkin-dependent mitophagy in primary chondrocytes [J]. *Biosci Trends*, 2019, 12(6): 605-612. DOI: 10.5582/bst.2018.01263.
- [78] Zeng CY, Zhang ZR, Tang ZM, et al. Benefits and mechanisms of exercise training for knee osteoarthritis [J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 794062. DOI: 10.3389/fphys.2021.794062.
- [79] Wang T, Xie W, Ye W, et al. Effects of electromagnetic fields on osteoarthritis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109282. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109282.
- [80] Takahashi K, Nakamura H, Ozawa H, et al. Effectiveness of radiofrequency hyperthermia for treating cartilage in guinea pigs with primary osteoarthritis [J]. *Cartilage*, 2018, 9 (1): 71-79. DOI: 10.1177/1947603516678974.
- [81] Akaltun MS, Altindag O, Turan N, et al. Efficacy of high intensity laser therapy in knee osteoarthritis: a double-blind controlled randomized study [J]. *Clin Rheumatol*, 2021, 40(5): 1989-1995. DOI: 10.1007/s10067-020-05469-7.
- [82] Yang Y, Yang CL, Zhao ZJ, et al. Microwave hyperthermia enhances the sensitivity of lung cancer cells to gemcitabine through reactive oxygen species induced autophagic death [J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(5): 3100-3110. DOI: 10.3892/or.2019.7085.
- [83] Hu Z, Wen T, Hu K, et al. Transcutaneous electrical acupoint stimulation ameliorates cognitive function through PINK1/Parkin mediated mitophagy in VD rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 2810794. DOI: 10.1155/2022/2810794.
- [84] Chen L, Xu Z, Jiang M, et al. Light-emitting diode 585nm photomodulation inhibiting melanin synthesis and inducing autophagy in human melanocytes [J]. *J Dermatol Sci*, 2018, 89 (1): 11-18. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2017.10.001.
- [85] Li H, Qin S, Liang Q, et al. Exercise training enhances myocardial mitophagy and improves cardiac function via Irisin/FNDC5-PINK1/Parkin pathway in mi mice [J]. *Biomedicine*, 2021, 9(6): 701. DOI: 10.3390/biomedicine9060701.

(修回日期: 2023-06-02)
(本文编辑: 阮仕衡)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对参考文献的有关要求

执行 GB/T 7714-2005《文后参考文献著录规则》。采用顺序编码制著录, 依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出, 并将序号置于方括号中, 排列于文后。内部刊物、未发表资料(不包括已被接受的待发表资料)、个人通信等请勿作为文献引用。日文汉字请按日文规定书写, 勿与我国汉字及简化字混淆。同一文献作者不超过 3 人全部著录; 超过 3 人只著录前 3 人, 后依文种加表示“等”。作者姓名一律姓氏在前、名字在后, 外国人的名字采用首字母缩写形式, 缩写名后不加缩写点; 不同作者姓名之间用“,” 隔开, 不用“和”、“and”等连词。题名后请标注文献类型标志。文献类型标志代码参照 GB 3469-1983《文献类型与文献载体代码》, 如参考文献类型为杂志, 请于参考文献末尾标注 DOI 号。中文期刊用全名。示例如下。

- [1] 陈登原. 国史旧闻 [M]. 北京: 中华书局, 2000: 29.
- [2] 胡永善. 运动功能评定 // 王茂斌. 康复医学 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 67-78.
- [3] 刘欣, 申阳, 洪葵, 等. 心脏性猝死风险的遗传检测管理 [J]. *中华心血管病杂志*, 2015, 43(9): 760-764. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2015.09.003.
- [4] Mahowald ML, Krug HE, Singh JA, et al. Intra-articular Botulinum Toxin Type A: a new approach to treat arthritis joint pain [J]. *Toxicon*, 2009, 54(5): 658-667. DOI: 10.1016/j.toxicon.2009.03.028.
- [5] 余建斌. 我们的科技一直在追赶: 访中国工程院院长周济 [N/OL]. *人民日报*, 2013-01-12(2). [2013-03-20]. http://paper.people.com.cn/rmrb/html/2013-01/12/nw.D110000renmrb_20130112_5-02.htm.