·论著·

OPA1 通过激活 Parkin 介导的线粒体自噬保护 IL-1β 诱导的软骨细胞损伤*

张凯　康旭鹏　郝帅　高正超　段亮　段大鹏
（西安医学院附属医院·陕西省人民医院骨科，陕西 西安 710068）

【摘要】 目的　研究视神经萎缩蛋白 1(OPA1)过表达激活 Parkin 介导的线粒体自噬对白细胞介素-1β(IL-1β)诱导的人软骨细胞损伤的保护作用。**方法**　将 C28/I2 细胞分别用 Ad-OPA1、Ad-null、siRNA 及 si-OPA1 转染后，用 IL-1β(5ng/mL)处理细胞 24 h，Western blot 分析 OPA1 在软骨细胞中的表达，MTT 法检测软骨细胞活力，流式细胞术检测细胞凋亡率。然后采用 Western blot 分析测定半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)、B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)和 Bcl-2 关联 X 蛋白单克隆抗体(BAX)蛋白的表达，以及Ⅱ型胶原蛋白(Collagen Ⅱ)、聚集蛋白聚糖(Aggrecan)、基质金属蛋白酶 13(MMP-13)蛋白的表达。同时检测软骨细胞中活性氧(ROS)表达水平及谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性，JC-1 探针检测膜电位(ΔΨM)，线粒体 ATP 试剂盒测三磷酸腺苷(ATP)含量，并采用 RT-qPCR 检测线粒体动力学标志物 PGC-1α、MFN1 和 Drp1 的 mRNA 表达，采用 Western blot 检测 P62、LC3B 的表达水平及线粒体自噬标记物 Beclin-1、LAMP1、PINK1、Parkin 和 USP30 在软骨细胞中的表达。分别用 Ad-OPA1 和 Parkin-siRNA 转染 C28/I2 细胞，Western blot 检测 Parkin、P62、LAMP1、Beclin-1、PINK1、USP30、cle-Caspase3、聚集蛋白聚糖、Ⅱ型胶原和 MMP-13 的蛋白表达，检测软骨细胞中靶蛋白的表达水平、ROS 水平、SOD 活性、膜电位去极化、软骨细胞活力、测细胞凋亡率。**结果**　IL-1β 处理腺病毒转染的细胞后，Western blot 结果显示 OPA1 的蛋白表达显著降低，而 Ad-OPA1 可提高 OPA1 的表达；MTT 结果提示，OPA1 的过表达增加了被 IL-1β 抑制的细胞活力；流式细胞术结果提示 OPA1 的过表达抑制软骨细胞凋亡。进一步的 Western blot 结果提示 OPA1 显著降低了 Caspase3 和 BAX 的蛋白水平，并上调软骨细胞中 Bcl-2 的表达。同时可上调 CollagenⅡ和 Aggrecan 的表达，降低 MMP-13 的表达。OPA1 过表达降低了 ROS 表达，增加了 GPX 和 SOD 的活性，并增强 ΔΨM 及 ATP(被 IL-1β 降低)的含量。RT-qPCR 结果显示，OPA1 可增加 PGC-1α 及 MFN1 的 mRNA 表达，下调 Drp1 的 mRNA 表达。Western blot 结果显示，OPA1 下调 P62、USP30 的表达，上调 LC3B 及线粒体自噬指标 Beclin-1、LAMP1、PINK1 和 Parkin 的表达。Parkin-siRNA 转染 C28/I2 细胞后发现，OPA1 诱导的 Parkin 表达显著下调；Parkin-siRNA 提高 ROS、P62、USP30、Caspase3 及 MMP-13 表达，降低了 GPX 和 SOD 的活性、ΔΨM、ATP 的含量、调胶原 II、聚集蛋白聚糖 LC3B 及线粒体自噬指标 Beclin-1、LAMP1、PINK1 和 Parkin 的蛋白表达。此外，Parkin-siRNA 显著降低了细胞活力，提高了软骨细胞凋亡率。**结论**　OPA1 通过 Parkin 介导的线粒体自噬，并进一步保护软骨细胞免受损伤和 ECM 降解，从而减轻 IL-1β 诱导的线粒体功能障碍和氧化应激，实现对骨关节炎(OA)关节软骨的保护作用。

【关键词】 视神经萎缩蛋白 1；细胞凋亡；细胞外基质；线粒体；细胞自噬
【中图分类号】 R684.3；R329.2　**【文献标志码】** A　**DOI**：10.3969/j.issn.1672-3511.2026.01.006

OPA1 protects IL-1β-induced chondrocyte injury by activating parkin-mediated mitophagy

ZHANG Kai, KANG Xupeng, HAO Shuai, GAO Zhengchao, DUAN Liang, DUAN Dapeng
(*Department of Orthopedics, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an* 710068, *China*)

【Abstract】 Objective　To investigate the protective effect of overexpression of Optic Atrophy Protein 1 (OPA1) on

基金项目：国家自然科学基金青年科学基金项目(82101453)
通信作者：段大鹏，主任医师，E-mail：15829086908@163.com
引用本文：张凯，康旭鹏，郝帅，等. OPA1 通过激活 Parkin 介导的线粒体自噬保护 IL-1β 诱导的软骨细胞损伤[J]. 西部医学，2026，38(1)：32-38. DOI：10.3969/j.issn.1672-3511.2026.01.006

interleukin-1β (IL-1β)-induced damage in human chondrocytes through Parkin-mediated mitophagy. **Methods** C28/I2 cells were transfected with Ad-OPA1, Ad-null, siRNA, and si-OPA1, respectively, and then treated with IL-1β(5 ng/ml) for 24 hours. Western blot was used to analyze the expression of OPA1 in chondrocytes, MTT assay was used to detect cell viability, and flow cytometry was used to measure the apoptosis rate. Western blot was also used to measure the expression of Caspase-3, B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), and Bcl-2 associated X protein (BAX), as well as the expression of Collagen Ⅱ, Aggrecan, and Matrix metalloproteinase 13 (MMP-13). Additionally, the levels of reactive oxygen species (ROS), glutathione peroxidase (GPX), and superoxide dismutase (SOD) activity were detected. JC-1 probe was used to measure mitochondrial membrane potential (ΔΨM), and mitochondrial ATP kit was used to measure adenosine triphosphate (ATP) content. RT-qPCR was used to detect the mRNA expression of mitochondrial dynamics markers PGC-1α, MFN1, and Drp1. Western blot was used to measure the expression levels of P62, LC3B, and mitophagy markers Beclin-1, LAMP1, PINK1, Parkin, and USP30 in chondrocytes. C28/I2 cells were transfected with Ad-OPA1 and Parkin-siRNA, and Western blot was used to detect the protein expression of Parkin, P62, LAMP1, Beclin-1, PINK1, USP30, cleaved-caspase3, Aggrecan, Collagen Ⅱ, and MMP-13. The expression levels of target proteins, ROS levels, SOD activity, membrane potential depolarization, cell viability, and apoptosis rate were also measured. **Results** After IL-1β treatment of adenovirus-transfected cells, Western blot results showed a significant decrease in OPA1 protein expression, while Ad-OPA1 increased OPA1 expression. MTT results indicated that OPA1 overexpression enhanced cell viability inhibited by IL-1β. Flow cytometry results showed that OPA1 overexpression inhibited chondrocyte apoptosis. Further Western blot results showed that OPA1 significantly reduced the protein levels of Caspase3 and BAX and upregulated Bcl-2 expression in chondrocytes. OPA1 also upregulated Collagen Ⅱ and Aggrecan expression while reducing MMP-13 expression. OPA1 overexpression decreased ROS levels, increased GPX and SOD activity, and enhanced ΔΨM and ATP content (which were reduced by IL-1β). RT-qPCR results showed that OPA1 increased the mRNA expression of PGC-1α and MFN1 while downregulating Drp1 mRNA expression. Western blot results showed that OPA1 downregulated P62 and USP30 expression and upregulated LC3B and mitophagy markers Beclin-1, LAMP1, PINK1, and Parkin. After transfection of C28/I2 cells with Parkin-siRNA, OPA1-induced Parkin expression was significantly downregulated. Parkin-siRNA increased ROS, P62, USP30, Caspase3, and MMP-13 expression, while reducing GPX and SOD activity, ΔΨM, ATP content, Collagen Ⅱ, Aggrecan, LC3B, and mitophagy markers Beclin-1, LAMP1, PINK1, and Parkin protein expression. Additionally, Parkin-siRNA significantly reduced cell viability and increased chondrocyte apoptosis rate. **Conclusion** OPA1 protects chondrocytes from damage and extracellular matrix (ECM) degradation through Parkin-mediated mitophagy, thereby alleviating IL-1β-induced mitochondrial dysfunction and oxidative stress, and providing a protective effect on OA articular cartilage.

【Key words】 Optic atrophy 1; Apoptosis; Extracellular matrix; Mitochondria; Autophagy

在骨关节炎(Osteoarthritis,OA)进展过程中,线粒体功能障碍加剧了氧化应激,从而导致基质金属蛋白酶增加和 ECM 降解,破坏了关节软骨的结构,最终导致软骨细胞死亡[1-2]。线粒体以三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate,ATP)的形式为各种重要的细胞过程提供能量,在维持细胞微环境中发挥着至关重要的作用[3]。在退行性疾病中,线粒体自噬水平与一系列病理过程密切相关,包括线粒体功能障碍、氧化应激、细胞凋亡[4]。研究表明,线粒体自噬在 OA 的发病机制中起着重要作用[5-6]。视神经萎缩蛋白 1(Optic atrophy protein 1,OPA1)是一种动态蛋白相关的 GTP 酶,调节线粒体融合[7]。据报道,OPA1 参与线粒体的多种细胞内生理和生化过程,如分裂和融合、线粒体自噬和氧化应激[8]。研究表明,OPA1 在各种疾病中通过增强线粒体自噬来保护细胞免受损伤[9],线粒体自噬减少会导致线粒体功能障碍和氧化应激,从而导致细胞凋亡和 ECM 产生[10]。本研究拟设计 OPA1 过表达激活线粒体自噬对白细胞介素-1β(Interleukin-1β,IL-1β)诱导的软骨细胞损伤的保护作用,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 细胞培养和处理 OA 软骨组织收集自关节置换术的 OA 患者(15 例,45~65 岁;平均 55.9 岁),正常软骨组织来自从 15 例因外伤截肢且无 OA 病史的患者。该研究获得了所有个体参与者的知情同意,并得到了陕西省人民医院伦理委员会的批准。C28/I2 软骨细胞由北京 Bnbio 股份有限公司提供(BNCC339995),在含有 10%胎牛血清和 1%青霉素/链霉素的 Dulbecco 改良培养基(DMEM;Gibco,Grand Island,NJ,USA)中培养,置于 37℃、5% CO_2 的培养箱中。取对数生长期的细胞,离心后将其密度调整为 5×10^4/mL,并接种在 96 孔板中,用 1 ng/mL、

5 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL 的 IL-1β 在 37 ℃下处理细胞过夜。

1.2 细胞转染 OPA1 腺病毒(Ad-OPA1)的构建由苏州赛亚生物技术有限公司进行。扩增 OPA1 的全长完整编码 DNA 序列(CDS)并插入腺病毒中构建 Ad-OP1 载体。使用含有空质粒的腺病毒(Ad-null)作为对照。

1.3 MTT 实验 使用 MTT 测定试剂盒检测软骨细胞活力。将 C28/I2 软骨细胞培养至对数生长期,制成单细胞悬液,计数后(5×10^4 个细胞/mL)接种在 96 孔板中,孵育 24 h 后,每孔加入 20 μL MTT 培养4 h,去上清,每孔加入 150 μL DMSO,终止反应。水平震荡 10 min。酶联免疫检测仪于 570 nm 处测量细胞活力。

1.4 细胞凋亡分析 采用 Annexin V/PI 双染色法,取对数期生长的 C28/I2 软骨细胞,0.25% 胰酶消化后制成细胞悬液,以 10^5/mL 细胞密度接种于细胞培养板中,在用 IL-1β 培养过夜后,将用不同质粒转染的软骨细胞分为不同组别,在室温下黑暗中孵育15 min。然后通过流式细胞术分析细胞凋亡。

1.5 RT-qPCR 检测 mRNA 表达 使用 TRIzol 试剂(美国赛默飞世尔科技公司)从 C28/I2 软骨细胞中提取总 RNA。通过逆转录反应合成 cDNA,使用 miRNA 特异性 TaqManTM MicroRNA 试剂盒检测 miRNA。使用 FastStart Universal SYBR Green master mix 进行定量 PCR 进行定量逆转录 PCR(RT-qPCR),以 GAPDH 为内部参考。

1.6 Western blot 检测蛋白表达 将软骨细胞在 RIPA 裂解缓冲液(美国 Sigma 公司)中裂解 15 min,通过 BCA 蛋白浓度检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)检测细胞裂解物中的总蛋白浓度。然后通过 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离总蛋白,然后转移到 PVDF 膜上,并在室温下用 5% 脱脂乳封闭 1 h。将膜与一级抗体在 4 ℃下孵育过夜,然后将膜与山羊抗兔 HRP 抗体(美国 Sigma 公司)孵育。OPA1(1∶100,# ab42364)、P62(1∶1 000,# ab56416)抗体购自美国 Abcam 公司,B 细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)(1∶10 000,# 3498)、Bcl-2 关联 X 蛋白单克隆抗体(monoclonal antibody to Bcl-2 associated X protein, BAX)(1∶1 000,# 2772)和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Cysteinyl aspartate specific proteinase 3, Caspase-3)(1∶100 000,# 9661)购自美国 CST 公司。胶原Ⅱ(1∶1 000,# sc-52658)、基质金属蛋白酶 13(Matrix metalloproteinase 13, MMP-13)(1∶1 000;# sc-515284)和 GAPDH(1∶1 000和# sc-47724)购自美国 Santa Cruz 公司。

1.7 软骨细胞中活性氧(Reactive oxygen species, ROS)水平、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GPX)和超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)活性的检测 使用相应的商业试剂盒(BioSite,法国)检测 ROS 表达水平及 GPX、SOD 的活性。具体实验步骤按照制造商的说明进行。

1.8 线粒体膜电位 ΔΨM 用 JC1-1 线粒体膜电位测定试剂盒(科明生物,中国)进行检测。用不同质粒转染的 C28/I2 细胞用 IL-1β(5 ng/mL)处理 24 h,然后将细胞与 JC-1(5 μM)在 37 ℃的条件中孵育 20 min,并用 PBS 洗涤。通过流式细胞仪(BD Biosciences, San Jose 公司,美国)分析线粒体膜电位。

1.9 ATP 含量测定 根据制造商的说明,使用 ATP 测定试剂盒(KA0806, Sigma 公司)检测细胞中的 ATP 含量,使用紫外-可见分光光度计(UV-1700,日本)测定 570 nm 处 ATP 的吸光度水平。

1.10 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,所有数据以($\bar{x}\pm s$)表示。两组之间的差异采用 t 检验,单因子方差分析用于评估多组之间的差异。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OPA1 过表达对 IL-1β 诱导的软骨细胞凋亡和 ECM 降解的影响 为研究 OPA1 对 IL-1β 诱导的软骨细胞中细胞 OPA1 蛋白表达的影响,分别用 OPA1 腺病毒(Ad-OPA1)、含有空质粒的腺病毒(Ad-null)、siRNA 和 OPA1 siRNA(si-OPA1)转染。Western blot 结果显示,IL-1β 处理后,Ad-OPA1 升高 OPA1 蛋白的表达,而 si-OPA1 抑制 OPA1 蛋白的表达(图 1A、1B)。MTT 检测结果显示,OPA1 的过表达增加了细胞活力,而 OPA1 的沉默降低了细胞活力(图 1C)。流式细胞仪检测结果提示,Ad-OPA1 转染抑制了 IL-1β 处理的软骨细胞的凋亡率,而 si-OPA1 增加细胞凋亡率(图 1D)。Western blot 结果显示,OPA1 过表达显著降低了 CAS-3 和 BAX 的蛋白水平,并上调了 IL-1β 诱导的软骨细胞中 Bcl-2 的表达,而 si-OPA1 作用相反(图 1E)。此外,在被 IL-1β 处理的细胞中,作为 ECM 形成指标的 Collagen Ⅱ和 Aggrecan 的表达被 Ad-OPA1 升高,而 IL-1β 诱导的细胞中 ECM 降解标记物 MMP-13 的上调因 OPA1 过表达而减少,si-OPA1 作用则相反(图 1F)。

2.2 OPA1 过表达对软骨细胞氧化应激和线粒体功能障碍的影响 检测结果表明,IL-1β 显著增加了 ROS在软骨细胞中的表达,而在OPA1过表达后,ROS 的增加减少(图 2A)。与 Ad-null 相比,Ad-

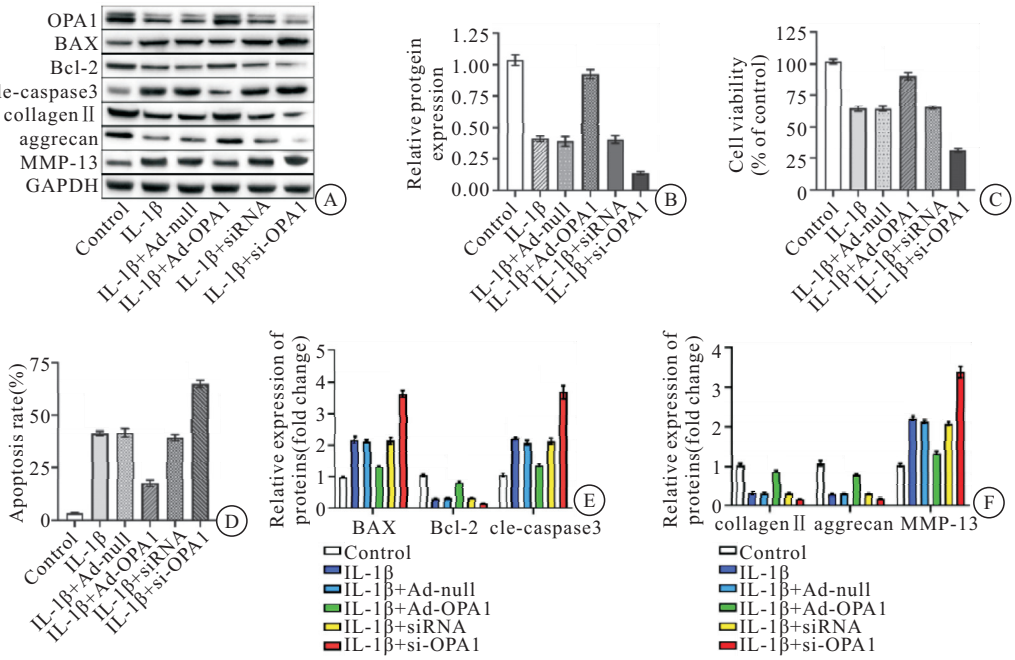

图 1　OPA1 过表达对 IL-1β 诱导的软骨细胞凋亡和 ECM 降解的影响

Figure 1　Effect of OPA1 overexpression on IL-1β-induced chondrocyte apoptosis and ECM degradation

OPA1 显著增加了 IL-1β 处理的细胞中 GPX 和 SOD 的活性(图 2B、2C)。此外,OPA1 的过表达增强了被 IL-1β 减少的 ΔΨM(图 2D),同时增加了因 IL-1β 减少的 ATP 含量(图 2E)。OPA1 在软骨细胞中过表达后,由 IL-1β 下调的 PGC-1α 的 mRNA 表达升高。而 IL-1β 降低细胞中 MFN1 的 mRNA 表达,上调 Drp1 的表达,这可被 OPA1 过表达所逆转,表明 OPA1 改善了 IL-1β 受损的线粒体动力学(图 2F)。

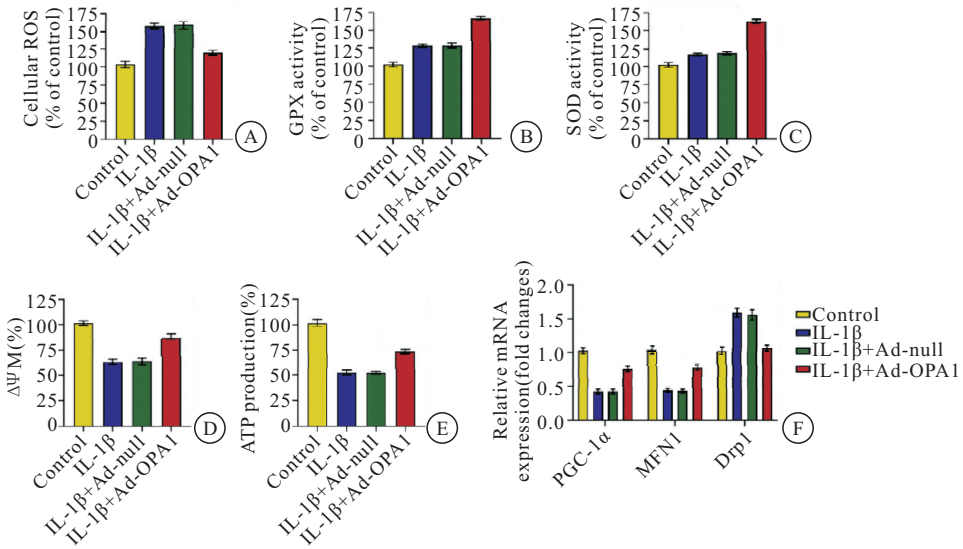

图 2　OPA1 的过表达减轻了 IL-1β 诱导的软骨细胞氧化应激和线粒体功能障碍

Figure 2　Overexpression of OPA1 alleviated IL-1β-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in chondrocytes

2.3　OPA1 过表达对 IL-1β 处理的软骨细胞线粒体自噬的影响　为研究 OPA1 在 IL-1β 诱导的氧化应激和线粒体功能障碍中的机制,我们研究了 OPA1 和线粒体自噬在这一过程中的作用。结果证实,自噬底物 P62 的表达被 IL-1β 上调,在 OPA1 过表达后降低(图 3A 和 3B)。自噬形成的标志物 LC3BI 表达/LC3BII 表达的比率被 IL-1β 处理下调,而 OPA1 过表达可显著提高(图 3C)。结果显示,IL-1β 降低了线粒体自噬指标 Beclin-1、LAMP1、PINK1 和 Parkin 的蛋白表达,同时提高了 USP30 的表达,这些作用均可被 OPA1 过表达不同程度逆转了(图 3D-H)。此外,线粒体自噬抑制剂 bafilomycin 可显著减弱了 OPA1 过

表达对 IL-1β 诱导的软骨细胞的影响，雷帕霉素显著激活了 IL-1β 引起的线粒体自噬抑制（图 3）。这些结果表明，OPA1 通过介导线粒体自噬来调节 IL-1β 刺激的软骨细胞损伤。

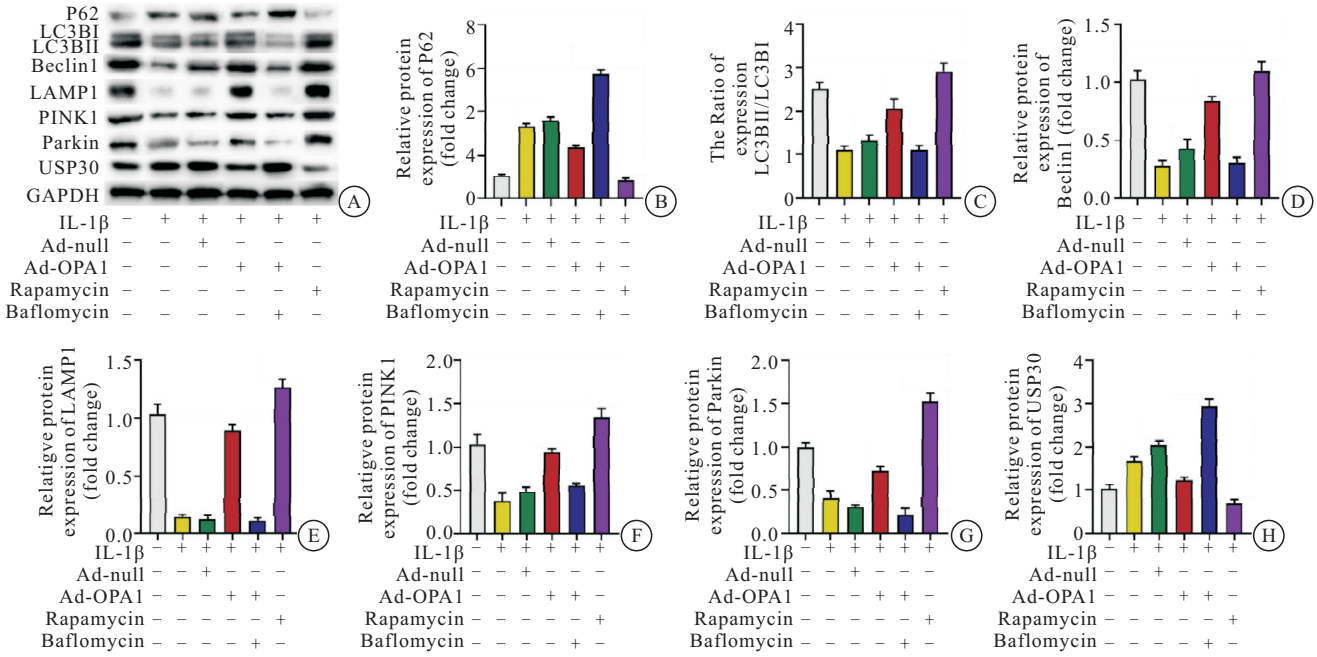

图 3　OPA1 的过表达对 IL-1β 处理的软骨细胞的线粒体自噬

Figure 3　Overexpression of OPA1 enhances mitochondrial autophagy in chondrocytes treated with IL-1β

2.4　Parkin 介导的线粒体自噬参与 OPA1 对 IL-1β 诱导的软骨细胞损伤和 ECM 降解的抑制作用　为了阐明 OPA1 在线粒体自噬中的作用机制，我们研究了 OPA1 与 Parkin 信号传导通路之间的关系。结果表明，在 Parkin 沉默后，IL-1β 诱导的细胞中 ROS 的产生进一步显著积累，软骨细胞中的 SOD 活性和 ΔΨM 因 Parkin 的沉默而降低。同时，Parkin-siRNA 显著降低了细胞活力，并提高了软骨细胞的凋亡率。此外，Parkin 敲低上调了 Caspase3 和 MMP-13 的表达，并下调了胶原 II 和聚集蛋白聚糖的表达。重要的是，si-Parkin 可逆转 Ad-OPA1 的抑制作用。总之，结果表明，OPA1/USP30/Parkin 轴通过介导线粒体自噬过程调节 IL-1β 诱导的软骨细胞损伤。见图 4。

3　讨论

OPA1 在线粒体形状变化、线粒体自噬和细胞存活中起着至关重要的作用，OPA1 的蛋白水解裂解通过破坏线粒体融合和增强病理条件下细胞的凋亡敏感性而导致细胞损伤。然而，OPA1 在 OA 软骨细胞中的作用尚未得到研究。本研究发现 OA 患者软骨组织中 OPA1 的表达降低，进一步的研究发现，用 IL-1β 模拟 OA 微环境中的体外病理状态下，OPA1 在软骨细胞中的表达可被 IL-1β 下调。因此，推测 OPA1 可能会影响 IL-1β 诱导的 OA 软骨细胞功能异常。

OA 的主要病理特征是软骨退变，主要包括关节软骨细胞的异常代谢、凋亡及细胞外基质的降解。既往研究表明证实 OA 病情严重程度与软骨细胞凋亡密切相关，凋亡在 OA 进展中发挥了重要作用，OA 软骨细胞凋亡率明显增加[11]。本研究使用 IL-1β 在人 OA 软骨细胞中诱导炎症损伤，以模拟 OA 细胞模型。MTT 实验结果表明，OPA1 的过表达可增加细胞活力，沉默可降低细胞活力。流式细胞仪检测结果提示，OPA1 的过表达可抑制 IL-1β 处理的软骨细胞的凋亡率，这说明 OPA1 可通过抑制 IL-1β 诱导的软骨细胞凋亡，从而延缓 OA 的进展。

软骨细胞外基质退变是 OA 病理改变的核心环节，OA 典型特征是软骨 ECM 降解加速，这是由 ECM 的分解代谢和合成代谢的平衡调节失衡造成的[12]。在异常炎症介质刺激下，MMPs 被激活，最终导致Ⅱ型胶原与蛋白聚糖的降解增加，软骨发生退变。在本研究中，为了验证 OPA1 在体外 IL-1β 处理的软骨细胞模型中的作用，在 IL-1β 诱导的软骨细胞中进行了 OPA1 的过表达或沉默。本研究的结果表明，OPA1 可减轻 IL-1β 诱导的细胞凋亡和 ECM 代谢失衡，并通过增加抗氧化酶活性和降低 ROS 水平来减轻 IL-1β 诱导的氧化应激。

正常的线粒体功能对维持细胞内氧化应激和细胞存活很重要。在OA的发展过程中，功能失调的线粒体会导致氧化应激，并进一步导致软骨细胞功能障

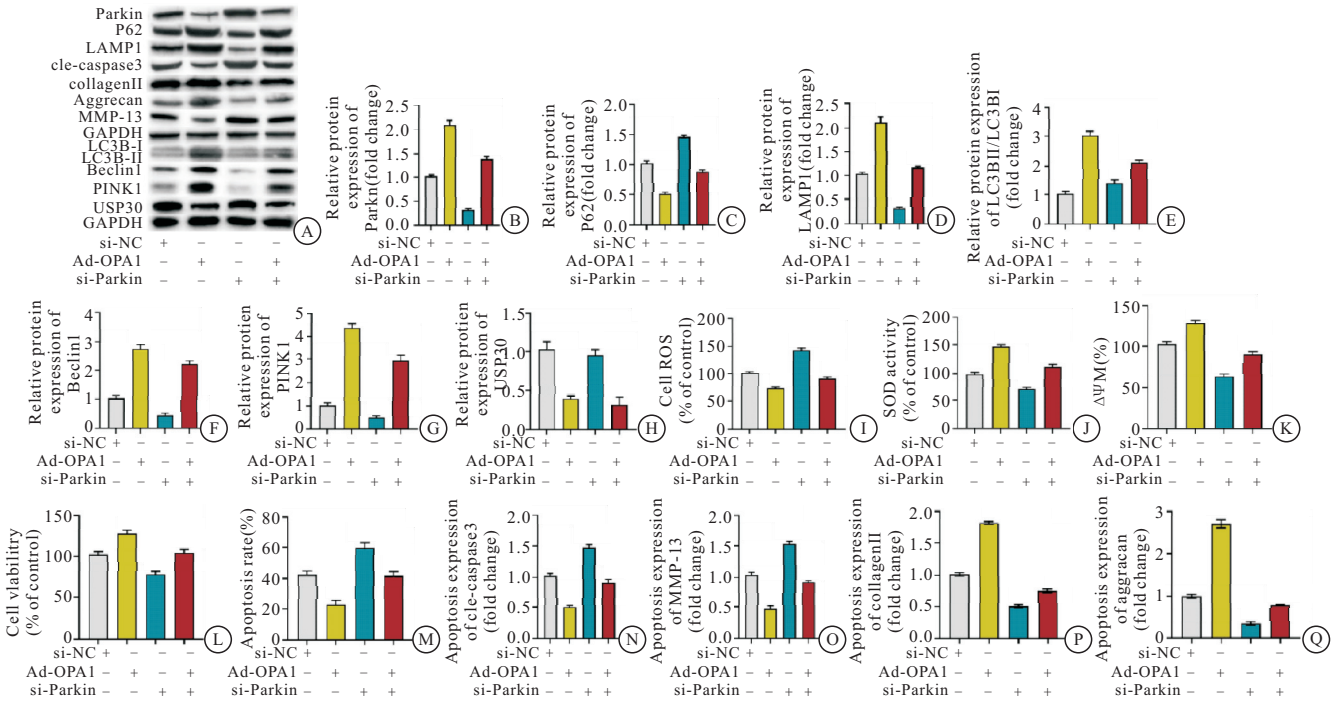

图 4 Parkin 介导的线粒体自噬参与 OPA1 对 IL-1β 诱导的软骨细胞氧化应激、线粒体功能障碍和细胞损伤的抑制作用

Figure 4 Parkin-mediated mitophagy participates in OPA1-suppressed oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and cell damage IL-1β-induced chondrocytes

碍，包括细胞凋亡和降解[13-14]。线粒体自噬抑制引发的损伤线粒体积聚是氧化应激的主要来源，会增加线粒体 ROS 和 MDA 的积累，同时抑制超氧化酶歧化物 SOD 将超氧化物歧化为过氧化氢的过程。在本研究中，为了验证 OPA1 在体外 IL-1β 处理的软骨细胞模型中的作用，在 IL-1β 诱导的软骨细胞中进行了 OPA1 的过表达或沉默。本研究结果表明，OPA1 减轻了 IL-1β 诱导的细胞凋亡和 ECM 代谢失衡。OPA1 过表达通过增加抗氧化酶活性和降低 ROS 水平来减轻 IL-1β 诱导的氧化应激。随后的实验表明，OPA1 通过增强 IL-1β 破坏的线粒体膜电位、ATP 产生、PGC-1α 和 MFN1 的表达以及减少 Drp1 的表达来改善线粒体功能障碍。已证明 PGC-1α、MFN1 和 Drp1 参与线粒体生物发生的调节[15]。因此，上述研究结果表明，OPA1 可改善线粒体功能障碍和氧化应激。

线粒体自噬已被证明在病理条件下影响线粒体的生物发生、氧化应激和细胞凋亡[16]。越来越多的证据表明，线粒体自噬的参与在 OA 的发病机制中起着至关重要的作用[17-18]。增强的线粒体自噬可以消除功能失调的线粒体，减少病理应激刺激的软骨细胞中的氧化应激，从而保护软骨细胞免受细胞凋亡和 ECM 降解[19-20]。本研究中，细胞中的自噬水平被 IL-1β 抑制，这与以往的研究一致[10,21]。为了探讨 OPA1 减轻软骨细胞功能障碍的机制，本研究探讨 OPA1 与 IL-1β 处理的软骨细胞自噬的关系，结果表明软骨细胞中 OPA1 的过表达通过提高线粒体自噬相关蛋白 LC3B、Parkin、LAMP1 和 Beclin-1 的表达来增强 IL-1β 抑制的线粒体自噬水平。

据报道，Parkin 依赖的线粒体自噬在 OA 发病过程中对线粒体功能障碍和细胞凋亡具有抑制作用[14,19]。当线粒体受损时，PINK1 会在受损线粒体的外膜上聚集，并激活 Parkin，后者通过泛素化修饰线粒体蛋白，为自噬体识别和降解受损线粒体提供标记。P62 识别泛素化标记后，借助与 LC3B 的结合，促进受损线粒体与自噬体的融合，进而实现受损线粒体的选择性降解。为了研究 Parkin 介导的线粒体自噬是否参与 OPA1 减轻软骨细胞功能障碍的机制，本研究用 Parkin-siRNA 转染软骨细胞。结果表明，敲除 Parkin 可加重线粒体功能障碍和氧化应激，并促进 IL-1β 诱导的软骨细胞凋亡和 ECM 降解。与此同时，OPA1 对 IL-1β 诱导的软骨细胞线粒体功能障碍、氧化应激、细胞凋亡和 ECM 降解的保护作用可被 Parkin 沉默所逆转。因此，本研究认为 OPA1 可通过激活 Parkin，Parkin 通过泛素化修饰线粒体蛋白，为自噬体识别和降解受损线粒体提供标记，Parkin 招募自噬受体蛋白 p62，p62 与自噬体上的 LC3 结合，以触发自噬溶酶体形成，最终吞噬并降解功能失调的线粒体。

4 结论

OPA1 通过增强 Parkin 介导的线粒体自噬，抑制 IL-1β 诱导的人软骨细胞凋亡，抑制细胞外基质降解，减轻了线粒体功能障碍和氧化应激，从而实现对 OA 关节软骨的保护作用。

【参考文献】

[1] CHENG S W, PENG L, XU B C, *et al*. Protective effects of hydrogen-rich water against cartilage damage in a rat model of osteoarthritis by inhibiting oxidative stress, matrix catabolism, and apoptosis[J]. Med Sci Monit, 2020, 26: e920211.

[2] GUIDOTTI S, MINGUZZI M, PLATANO D, *et al*. Glycogen synthase kinase-3β inhibition links mitochondrial dysfunction, extracellular matrix remodelling and terminal differentiation in chondrocytes[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 12059.

[3] ADAM M S, ZHUANG H M, REN X S, *et al*. The metabolic characteristics and changes of chondrocytes in vivo and in vitro in osteoarthritis[J]. Front Endocrinol, 2024, 15: 1393550.

[4] WEI Y X, GUO H, CHEN Z H, *et al*. Autologous costal chondral/osteochondral transplantation and costa-derived chondrocyte implantation for articular cartilage repair: basic science and clinical applications[J]. Orthop Surg, 2024, 16(3): 523-531.

[5] FAN D X, YANG X H, LI Y N, *et al*. 17β-estradiol on the expression of G-protein coupled estrogen receptor (GPER/GPR30) mitophagy, and the PI3K/Akt signaling pathway in ATDC5 chondrocytes in vitro[J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 1936-1947.

[6] MINGUZZI M, CETRULLO S, D'ADAMO S, *et al*. Emerging players at the intersection of chondrocyte loss of maturational arrest, oxidative stress, senescence and low-grade inflammation in osteoarthritis[J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2018: 3075293.

[7] LIU D, CAI Z J, YANG Y T, *et al*. Mitochondrial quality control in cartilage damage and osteoarthritis: new insights and potential therapeutic targets[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2022, 30(3): 395-405.

[8] JANG S, JAVADOV S. OPA1 regulates respiratory super complexes assembly: the role of mitochondrial swelling[J]. Mitochondrion, 2020, 51: 30-39.

[9] ROMANELLO V, SCALABRIN M, ALBIERO M, *et al*. Inhibition of the fission machinery mitigates OPA1 impairment in adult skeletal muscles[J]. Cells, 2019, 8(6): 597.

[10] MAIMAITIJUMA T, YU J H, REN Y L, *et al*. PHF23 negatively regulates the autophagy of chondrocytes in osteoarthritis [J]. Life Sci, 2020, 253: 117750.

[11] ZAMLI Z, SHARIF M. Chondrocyte apoptosis: a cause or consequence of osteoarthritis? [J]. Int J Rheum Dis, 2011, 14(2): 159-166.

[12] OKUBO M, OKADA Y. Destruction of the articular cartilage in osteoarthritis[J]. Clin Calcium, 2013, 23(12): 1705-1713.

[13] KREMER L S, REHLING P. Coordinating mitochondrial translation with assembly of the OXPHOS complexes[J]. Hum Mol Genet, 2024, 33(R1): R47-R52.

[14] ZHENG Z B, XIANG S, WANG Y J, *et al*. NR4A1 promotes TNF-α-induced chondrocyte death and migration injury via activating the AMPK/Drp1/mitochondrial fission pathway[J]. Int J Mol Med, 2020, 45(1): 151-161.

[15] JRAD A I S, TRAD M, BZEIH W, *et al*. Role of pro-inflammatory interleukins in osteoarthritis: a narrative review[J]. Connect Tissue Res, 2023, 64(3): 238-247.

[16] BAECHLER B L, BLOEMBERG D, QUADRILATERO J. Mitophagy regulates mitochondrial network signaling, oxidative stress, and apoptosis during myoblast differentiation[J]. Autophagy, 2019, 15(9): 1606-1619.

[17] BLANCO F J, FERNANDEZ-MORENO M. Mitochondrial biogenesis: a potential therapeutic target for osteoarthritis[J]. Osteoarthritis and Cartilage, 2020, 28(8): 1003-1006.

[18] WANG S, DENG Z T, MA Y C, *et al*. The role of autophagy and mitophagy in bone metabolic disorders[J]. Int J Biol Sci, 2020, 16(14): 2675-2691.

[19] CAO H, ZHOU X C, XU B W, *et al*. Advances in the study of mitophagy in osteoarthritis[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2024, 25 (3): 197-211.

[20] CHEN Y, LIN J, CHEN J, *et al*. Mfn2 is involved in intervertebral disc degeneration through autophagy modulation[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2020, 28(3): 363-374.

[21] WANG F S, KUO C W, KO J Y, *et al*. Irisin mitigates oxidative stress, chondrocyte dysfunction and osteoarthritis development through regulating mitochondrial integrity and autophagy [J]. Antioxidants, 2020, 9(9): 810.

（**收稿日期：2025-02-23；修回日期：2025-11-07；编辑：张翰林**）