

PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬在骨关节炎中的研究进展

金壮壮¹, 徐硕妍², 杨岳¹, 魏迎亮¹, 白伦浩¹

1. 中国医科大学附属盛京医院骨科, 辽宁 沈阳 110000;
2. 中国医科大学附属第一医院核医学科, 辽宁 沈阳 110000

摘要: 骨关节炎(OA)是最常见的慢性退行性骨关节疾病,流行病学调查表明 OA 与慢性非创伤性残障密切相关。线粒体是真核细胞重要供能与调节生理活动的细胞器,而受损线粒体非但不能有效供能,反而导致大量有害物质在细胞中积累。线粒体自噬是细胞清除受损、衰老线粒体的方式,也是线粒体质量控制的重要环节。OA 软骨细胞中存在受损线粒体,线粒体自噬与 OA 的发病和治疗有紧密联系。线粒体自噬缺陷的软骨细胞表现出如凋亡、胞外基质丢失等 OA 退行性改变的病理特点。PINK1/Parkin 是线粒体自噬研究中最深入的经典通路。本文就 PINK1/Parkin 分子结构、启动线粒体自噬的机制以及在 OA 中的作用等进行综述。

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

中图分类号: R684.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-8182(2021)02-0258-04

骨关节炎(Osteoarthritis, OA)是一种以关节软骨退变、软骨下骨再生失衡为特点的退行性骨关节疾病,受累部位包括髋、膝、肩等关节。关节疼痛、僵硬、骨赘增生、软骨丢失是 OA 的主要临床表现,症状呈持续性加重,严重者可表现为关节畸形甚至功能丧失。OA 是引起中老年人口慢性、非创伤性残障的重要原因^[1]。线粒体自噬是一种选择性自噬,也是线粒体质量控制的重要调节机制^[2]。受损线粒体非但不能有效供能,还过量产生、累积活性氧(ROS),加重内源性或外源性因子对细胞的损害^[2]。OA 软骨细胞中的线粒体形态和功能发生明显变化,导致诸如软骨细胞凋亡和胞外基质降解等病理改变^[2]。增强线粒体自噬可作为一些 OA 保守治疗方案的原理解释^[2-3],线粒体自噬可能作为治疗 OA 的靶点。PINK1/Parkin 途径是激活线粒体自噬的经典方法。然而,关于 PINK1/Parkin 诱导的 OA 软骨细胞线粒体自噬的信息很少。本文阐述 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬在 OA 中的研究进展。

1 自噬和线粒体自噬概述

最早于 20 世纪 60 年代发现部分胞内物质会被双膜囊泡隔离,随后被运输专门负责回收“单间”(现被称为溶酶体)中。自噬的主要形式是巨自噬,也是目前研究最广泛的自噬类型。除非另有说明,文献中的术语“自噬”通常指“巨自噬”。当细胞应对如氧化应激、创伤、饥饿、缺氧、衰老等内外环境压力时,自噬作为自我保护机制被激活。过度激活的自噬会导致必需的细胞成分过度自消化和降解,从而引发非凋亡的程序性细胞死亡;而自噬水平过低时,大量变性蛋白和受损细胞器不能及时降解,也会导致细胞死亡^[4]。

线粒体是细胞进行物质-能量转化的场所。此外,线粒体通过参与中间物质的合成来整合细胞代谢、Ca²⁺稳态、产生 ROS、调节细胞凋亡等特殊功能。线粒体发挥正常功能需要多达 1 000 余种蛋白质及大量底物,并不断与细胞核进行信息交换以实现精准调控^[5]。线粒体功能障碍与肿瘤^[6]、糖尿病^[7]、年龄相关退行性疾病等有关^[8]。

线粒体自噬是指受损、衰老或多余的线粒体通过自噬途径被清除的过程,是选择性自噬的一种^[9]。线粒体自噬中有两个关键的环节:自噬途径启动、标记被清除的线粒体^[10]。对于后者的研究,目前学术界普遍认为,PINK1/Parkin(PTEN-induced putative kinase1/Parkin)、Nix(Bcl-2/E1B 19 kDa interacting protein 3-like)/Bnip3、FUNDC1 是启动线粒体自噬的关键信号通路^[11-13],其中 PINK1/Parkin 是线粒体自噬的研究中最深入的信号通路。

2 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬

及时、恰当的启动线粒体自噬对维持线粒体稳态,保证细胞存活十分重要^[14]。PINK1 是重要的“开关”分子,分子结构上的磷酸位点是维持激酶活性的关键,一旦被抑制或降解就无法有效的启动线粒体自噬。Parkin 分子是该通路上的“放大器”,拥有多个结构域,对催化位点的遮掩或暴露是 Parkin 活性抑制或激活的深层原因。对 PINK1/Parkin 结构和功能上的深入研究为未来指导药物作用靶点的设计提供了理论基础。

2.1 PINK1/Parkin 的分子结构

2.1.1 PINK1 的分子结构 PINK1,又称为 PARK6,编码基因上有超过 1 800 对碱基对,PINK1 蛋白由 581 个氨基酸构成,它的 N 端 34 个氨基酸构成了线粒体靶标结构域;35~155 位

构成一段疏水跨膜结构域,是内膜转移信号终止区;156~509位构成高度保守的 Ser/Thr 蛋白激酶结构域;510~581位构成线粒体膜外滞留结构域^[15]。生理情况下胞质中的 PINK1 通过线粒体的转位酶(translocase of the outer membrane, TOM)持续运输至线粒体膜间隙中^[16]。随后在线粒体内膜转运酶(translocase of inner membrane, TIM)的作用下 PINK1 进入线粒体基质,并迅速被附着在内膜上的早老素相关菱状蛋白(presenilin-associated rhomboid-like protein, PARL)降解。PINK1 的生理含量极低,在正常情况下无法检测。敲除 PINK1 的细胞或动物疾病模型表明,PINK1 与氧化磷酸化水平、线粒体质量控制等有关^[17-18]。而 PINK1 研究最深的作用之一是自噬性清除损伤线粒体。线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)是指横跨线粒体内膜的质子化学势能梯度,内膜基质侧电位为负,外侧电位为正。 $\Delta\psi_m$ 是反映线粒体损伤状态的极佳指标,生理情况下线粒体具有较高水平的 $\Delta\psi_m$ 。一旦线粒体受到损伤,线粒体内膜两侧电位差消失,即线粒体去极化。去极化的线粒体抑制 PINK1 的降解途径,并引发 PINK1 在线粒体外膜上的自身磷酸化。目前已经发现 4 个自身磷酸化位点:Ser-228、Thr-257、Ser402 和 Thr313。Ser-228 磷酸位点仅在体外具有调节 PINK1 和底物磷酸化的能力。无论在体外还是细胞内,Thr-257 磷酸位点对 PINK1 活性无任何意义。Ser-402 磷酸位点在体外和细胞中均可参与 PINK1 自我磷酸化和底物磷酸化。Thr-313 是 PINK1 发挥活性的必需磷酸化位点,但 Thr-313 的突变不影响 PINK1 的自身磷酸化过程^[19]。总之,PINK1 蛋白具有多个磷酸位点,但只有 Ser-402 和 Thr-313 是 PINK1 活性所必需的,可用于指导未来药物的治疗靶标设计。

2.1.2 Parkin 的分子结构 Parkin,也称为 PARK2,是一种由 PARK2 基因编码的 E3 泛素连接酶。最重要的功能是使线粒体外膜上的蛋白质发生泛素化,完成受损线粒体的标记,以便通过自噬途径清除^[20]。Parkin 蛋白的主要结构是 Ubl 结构域的 N 端通过接头蛋白与 4 个 Zn²⁺ 结合结构域(RING0、RING1、RING2、IBR)连接。RING2 上的半胱氨酸位点具有催化活性,可以接收来自 E2 的泛素分子。Ubl 是 Parkin 重要的结构域,可以调节 Parkin 水平和活性的,其 Ser65 是 PINK1 的作用位点。RING0 和 IBR 则与 Parkin 活性的自身抑制有关。Parkin 的活化会启动线粒体自噬过程,所以正常生理情况下, Parkin 以低活性的形式存在于胞质中。Parkin 通过以下方式维持自身被抑制的状态:(1)Ubl 和 REP 接头蛋白生理情况下遮挡 RING1 结构域中的 E2 泛素缀合酶结合位点;(2)RING0 将 RING1 的催化位点遮蔽;(3)IBR 和 RING2 的一段 α 螺旋掩盖 RING1 的 E2 泛素缀合酶结合位点^[21]。

2.2 PINK1/Parkin 信号通路在线粒体自噬中的机制 在正常情况下,PINK1 不断转运至线粒体并被降解,Parkin 结构决定了其活性位点被掩盖并处于自我抑制状态。然而,当细胞处于生存压力下时,作为一种高度敏感的细胞器,线粒体被破坏并失去其正常的膜电位。 $\Delta\psi_m$ 下降,线粒体发生去极化,导致 PINK1 向线粒体基质的转运过程被打断,使得 PINK1 稳定结合在线粒体外膜上。PINK1 磷酸化自身 Ser402 等相关位点

进行活化。P-PINK1 对邻近区域的泛素(Ubiquitin, Ub)进行磷酸化,磷酸化泛素(pUb)与低活性的 Parkin 结合,使 Parkin 蛋白中 Ubl 与 RING1 发生解离,Parkin 暴露 Ubl 的磷酸化位点并接受 PINK1 的磷酸化修饰。但此时在其他抑制机制的共同作用下,Parkin 仍不具备活性。磷酸化的 Ubl 与 RING0 结合,引起 RING2 和衔接蛋白 REP 的释放。RING2 将具有催化作用的活性基团暴露后,通过与 E2 泛素缀合酶对接,催化 pUb 从 E2 泛素缀合酶转位到 RING2 上。至此 Parkin 蛋白被完全激活并形成了多元复合物:pUb + E2 酶 UbcH7 + 磷酸化的 Parkin^[22]。随后 Parkin 通过级联泛素化反应,将 pUb 转移到线粒体外膜蛋白上,如 Mfn1/2^[23]、Drp1^[24]。接头蛋白 p62 的一端与泛素化的外膜蛋白相互识别,另一端则与 LC3 蛋白家族衔接,使得受损线粒体被自噬小体包裹、清除。

在敲除 Parkin 的细胞实验中发现,活化的 PINK1 仅诱导低水平的线粒体自噬,并非无法观察到线粒体自噬现象^[25]。Parkin 敲除情况下的肿瘤细胞中有一种新的 E3 泛素连接酶参与了 PINK1 依赖的线粒体自噬途径,进一步鉴定为 ARIH1/HHARI^[26]。这提示 Parkin 在该通路中起到了放大的效果,可明显增强 PINK1 的诱导效果。但 Parkin 不是 PINK1 的唯一下游因子,即使没有 Parkin 的参与,PINK1 也可以激活其他的 E3 泛素链激酶诱导低水平的线粒体自噬。然而具体细节尚不明确,是否真的存在旁路通路需要进一步实验验证。PINK1 也不是启动 Parkin 线粒体自噬通路的唯一上游因子。在非哺乳动物例如果蝇中,PINK1 突变体的线粒体自噬水平很低,过表达 Parkin 可以逆转这一现象^[27]。然而,在哺乳动物细胞中,PINK1 对于线粒体自噬的启动则十分重要,PINK1 敲除后则无法观察线粒体自噬现象^[28]。不同真核细胞间的线粒体自噬途径存在差异,体外实验应尽量选取哺乳动物细胞,以避免由于线粒体自噬途径的差异导致的实验误差。

3 Pink1/Parkin 介导的线粒体自噬在 OA 中的作用

关节软骨细胞生存所需要的氧气和营养由软骨表面渗透的关节液提供。线粒体对于软骨细胞耐受低氧微环境十分重要^[29]。OA 是多因素联合作用下发生的慢性退行性疾病,OA 软骨细胞的线粒体相较于正常细胞被暴露在诸多损伤因素下。受损的线粒体不能有效地为软骨细胞供能,还进一步破坏氧化-抗氧化稳态,细胞内外 Ca²⁺ 稳态等,加重 OA 进展。近年来,已经发现许多干预方式可以通过增强线粒体自噬缓解 OA 进展,深入研究发现,对 PINK1/Parkin 通路的上游 AMPK, SIRT3 等的调节是众多干预方式的机制。特别是来自 AMPK 的调控体现在线粒体自噬的诸多方面。

3.1 OA 软骨细胞中的线粒体 OA 软骨细胞中的线粒体受到不同程度的损伤,主要体现在以下几个方面:第一,线粒体在软骨细胞中维持细胞内外 Ca²⁺ 稳态,同时也参与了软骨基质的钙化。当胞内 Ca²⁺ 水平上升时,线粒体膜上的 Ca²⁺ 通道开放, Ca²⁺ 被储存在线粒体中。线粒体不但作为 Ca²⁺ 的储备库,也是 Ca²⁺ 释放的来源之一。胞内钙水平持续上升打破了钙稳态而导致自噬水平降低^[30],加剧细胞凋亡;第二,线粒体

通过呼吸链提供细胞生命活动所需要的 ATP, ROS 等副产物也在这一过程中产生。正常线粒体具有完整的膜结构和适当的膜电位, 配合细胞的抗氧化机制, 可以有效对抗 ROS 带来的氧化压力。OA 软骨细胞的线粒体供能水平下降, 细胞代偿性增加线粒体数量以保证正常能量供应, 但也造成了 ROS 水平大幅上升^[31]。过量的 ROS 打破了氧化与抗氧化之间的平衡, 导致氧化应激。氧化应激的压力进一步损害线粒体功能, 形成恶性循环; 第三, mtDNA 是独立于核 DNA 的存在, 是线粒体自身独有的遗传物质。mtDNA 对 OA 的诸多危险因子如 IL-1 β 、ROS 等敏感, 容易发生突变。与此同时 OA 软骨细胞修复和清除 mtDNA 的能力也有下降, 这导致损伤的 mtDNA 过度累积, 导致部分线粒体蛋白表达异常, 影响线粒体正常生理功能^[32]。近期研究发现抑制软骨细胞线粒体自噬可提高金属基质蛋白酶家族表达水平, 降解胞外基质, 引起软骨退变^[33]。Wang 等^[5]发现二甲双胍对 OA 的治疗机制可以通过上调 PINK1/Parkin 依赖的线粒体自噬来解释。类似的机制也可以阐明锌对 OA 软骨细胞的治疗机制^[34]。总而言之, OA 软骨细胞的线粒体功能受到抑制, 及时将受损线粒体清除并回收利用, 降低线粒体源性 Ca²⁺ 的胞内释放和 ROS 的过度累积, 重建细胞氧化-抗氧化平衡, 防止突变 mtDNA 的负面作用, 延缓 OA 的病理进展等方面具有极高意义。

3.2 AMPK 与线粒体自噬

AMP 依赖的蛋白激酶 (Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK) 是细胞内能量状态监管者。作为真核细胞中对能量变化敏感的磷酸激酶, 任何使得细胞处于低能量状态的因素都可以激活 AMPK, 如运动、应激、饥饿、机械应力等, 这些因素可以使得细胞内 AMP/ATP 比值上升。AMPK 已经被证实参与了真核细胞自噬调控。一方面 AMPK 可以磷酸化 mTOR 的上游 TSC2^[35] 和 mTORC1 的 Raptor 亚基^[36], 这种磷酸化作用可降低 mTOR 的活性, 减轻 mTOR 对 ULK1 的抑制性磷酸化, 从而启动自噬。另一方面 AMPK 也可以直接作用于 ULK1, 这是 AMPK 与自噬途径建立直接联系的方式。一个有趣的发现是, 在 ULK1 不能被 AMPK 磷酸化的细胞株中, 细胞内部的损伤线粒体水平明显增多^[37]。AMPK 对于自噬的激活是众所周知的, 而增强自噬水平本身也可以促进受损线粒体的清除, 所以 AMPK 是否还能直接参与对线粒体自噬的调节仍存在争议。近年的一项研究发现 AMPK 的 $\alpha 2$ 亚基可以通过磷酸化 PINK1 的 Ser495 启动线粒体自噬^[38]。这与以往对于 AMPK 的靶因子的认识并不相符, PINK1 蛋白上也存在着尚未鉴定的磷酸化位点, 这些磷酸化位点可能是 PINK1 接受上游分子控制的靶点。未来研究中关于 AMPK 增强线粒体自噬的研究务必要分析自噬整体水平的改变。一定强度运动如慢跑、游泳等是 OA 的保守治疗措施, 而运动对 AMPK 有着明显的激动效果, 可以推测一定强度运动通过 AMPK 增强线粒体自噬来缓解 OA 症状。相关研究信息较少, 具体机制需要深入。

3.3 SIRT3 与线粒体自噬

Sirtuin 3 (SIRT3) 是位于线粒体中的蛋白去乙酰化酶, 调节线粒体中多种酶的活性^[39]。SIRT3 接受人软骨细胞中 AMPK 调节, 减少 mtDNA4977 缺失并改善

了线粒体功能^[40]。随着 OA 的进展, SIRT3 在软骨细胞的表达水平逐渐降低, 通过二甲双胍增强 SIRT3 的表达后, PINK1/Parkin 的水平随之提高, OA 相关炎症指标降低^[5]。进一步研究表明 SIRT3 与 Parkin 的去乙酰化有关, 当 OA 软骨细胞中 SIRT3 表达降低时, Parkin 的乙酰化水平被增强, PINK1 在无级联放大的效果下只能诱发低水平的线粒体自噬^[41]。继而线粒体源性 ROS 增加, 氧化与抗氧化失平衡, 软骨细胞活性受到影响, 最终导致软骨退变。SIRT3 作为对抗年龄相关退行性疾病的明星分子, 在逆转 OA 退变中被给予厚望。目前尚未找到直接的激活 SIRT3 的途径和药物, 但通过 AMPK 调节 SIRT3 以达到增强线粒体自噬方式值得考虑。

4 结语

PINK1/Parkin 诱导的线粒体自噬是保证线粒体质量的重要方式。PINK1 和 Parkin 的蛋白结构复杂, 活化过程涉及磷酸化暴露活性基团的复杂环节。PINK1 是该途径的关键启动因子, 活化的 PINK1 将胞质中的 Parkin 募集在线粒体外膜上。Parkin 作为一种 E3 泛素连接酶, 放大 PINK1 信号诱发线粒体自噬。PINK1/Parkin 通路受到胞内多种途径的调控, 可精准调控细胞的线粒体质量, 但也不能否认细胞中存在着非 PINK1 依赖的 Parkin 活化途径。提高线粒体自噬水平, 清除 OA 软骨细胞中的受损线粒体, 对于胞内钙稳态、降低氧化应激压力、避免 mtDNA 突变引起的负面影响有着重要意义。AMPK 线粒体自噬的控制体现在自噬水平, PINK1 磷酸化水平和通过 SIRT3 调节 Parkin 的去乙酰化水平等多个方面。AMPK 是 OA 众多保守治疗方案的核心蛋白, 而 AMPK 对 PINK1/Parkin 的调节机制尚未完全确定。进一步研究可为 OA 的保守治疗方案提供新思路。

参考文献

- [1] Global Burden of Disease Study 2013 Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 [J]. *Lancet*, 2015, 386 (9995): 743-800.
- [2] Wang CZ, Yang Y, Zhang YQ, 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.
- [3] Zhao X, Li Y, Lin XW, et al. Ozone induces autophagy in rat chondrocytes stimulated with IL-1 β through the AMPK/mTOR signaling pathway [J]. *J Pain Res*, 2018, 11: 3003-3017.
- [4] Li XF, Hu XR, Wang JC, et al. Inhibition of autophagy via activation of PI3K/Akt/mTOR pathway contributes to the protection of hesperidin against myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42 (4): 1917-1924.
- [5] Calvo SE, Clauser KR, Mootha VK. MitoCarta2.0: an updated inventory of mammalian mitochondrial proteins [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44 (D1): D1251-D1257.

- [6] Srinivasan S, Guha MT, Kashina A, et al. Mitochondrial dysfunction and mitochondrial dynamics-The cancer connection [J]. *Biochim et Biophys Acta BBA-Bioenerg*, 2017, 1858(8):602-614.
- [7] Chow J, Rahman J, Achermann JC, et al. Mitochondrial disease and endocrine dysfunction [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2017, 13(2):92.
- [8] Blanco FJ, Rego-Pérez I. Mitochondria and mitophagy: biosensors for cartilage degradation and osteoarthritis [J]. *Osteoarthr Cartil*, 2018, 26(8):989-991.
- [9] Hamon MP, Bulteau AL, Friguet B. Mitochondrial proteases and protein quality control in ageing and longevity [J]. *Ageing Res Rev*, 2015, 23:56-66.
- [10] Karbowski M, Youle RJ. Regulating mitochondrial outer membrane proteins by ubiquitination and proteasomal degradation [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2011, 23(4):476-482.
- [11] Pernas L, Scorrano L. Mito-morphosis: mitochondrial fusion, fission, and cristae remodeling as key mediators of cellular function [J]. *Annu Rev Physiol*, 2016, 78(1):505-531.
- [12] Deus CM, Yambire KF, Oliveira PJ, et al. Mitochondria-lysosome crosstalk: from physiology to neurodegeneration [J]. *Trends Mol Med*, 2020, 26(1):71-88.
- [13] Hamacher-Brady A, Brady NR. Mitophagy programs; mechanisms and physiological implications of mitochondrial targeting by autophagy [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(4):775-795.
- [14] Eiyama A, Okamoto K. PINK1/Parkin-mediated mitophagy in mammalian cells [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2015, 33:95-101.
- [15] Valente EM. Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1 [J]. *Science*, 2004, 304(5674):1158-1160.
- [16] Chin LS, Li L. Ubiquitin phosphorylation in Parkinson's disease: Implications for pathogenesis and treatment [J]. *Transl Neurodegener*, 2016, 5:1.
- [17] Clark IE, Dodson MW, Jiang CG, et al. *Drosophila pink1* is required for mitochondrial function and interacts genetically with parkin [J]. *Nature*, 2006, 441(7097):1162-1166.
- [18] Ma P, Yun JN, Deng HS, et al. Atg1-mediated autophagy suppresses tissue degeneration in pink1/parkin mutants by promoting mitochondrial fission in *Drosophila* [J]. *MBoC*, 2018, 29(26):3082-3092.
- [19] Aerts L, Craessaerts K, De Strooper B, et al. PINK1 kinase catalytic activity is regulated by phosphorylation on serines 228 and 402 [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(5):2798-2811.
- [20] Shires SE, Kitsis RN, Gustafsson ÅB. Beyond mitophagy: the diversity and complexity of parkin function [J]. *Circ Res*, 2017, 120(8):1234.
- [21] Sauvé V, Sung G, Soya N, et al. Mechanism of parkin activation by phosphorylation [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2018, 25(7):623-630.
- [22] Gladkova C, Maslen SL, Skehel JM, et al. Mechanism of parkin activation by PINK1 [J]. *Nature*, 2018, 559(7714):410-414.
- [23] Gong G, Song M, Csordas G, et al. Parkin-mediated mitophagy directs perinatal cardiac metabolic maturation in mice [J]. *Science*, 2015, 350(6265):aad2459.
- [24] Park YS, Choi SE, Koh HC. PGAM5 regulates PINK1/Parkin-mediated mitophagy via DRP1 in CCCP-induced mitochondrial dysfunction [J]. *Toxicol Lett*, 2018, 284:120-128.
- [25] Lazarou M, Sliter DA, Kane LA, et al. The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy [J]. *Nature*, 2015, 524(7565):309-314.
- [26] Villa E, Proïcs E, Rubio-Patiño C, et al. Parkin-independent mitophagy controls chemotherapeutic response in cancer cells [J]. *Cell Rep*, 2017, 20(12):2846-2859.
- [27] Park J, Lee SB, Lee S, et al. Mitochondrial dysfunction in *Drosophila* PINK1 mutants is complemented by parkin [J]. *Nature*, 2006, 441(7097):1157-1161.
- [28] Narendra DP, Jin SM, Tanaka A, et al. PINK1 is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate parkin [J]. *PLoS Biol*, 2010, 8(1):e1000298.
- [29] Milner PI, Fairfax TPA, Browning JA, et al. The effect of O₂ tension on pH homeostasis in equine articular chondrocytes [J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(11):3523-3532.
- [30] Wei YL, Wang YF, Wang YT, et al. Transient receptor potential vanilloid 5 mediates Ca²⁺ influx and inhibits chondrocyte autophagy in a rat osteoarthritis model [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(1):319-332.
- [31] Farnaghi S, Prasadam I, Cai GP, et al. Protective effects of mitochondria-targeted antioxidants and statins on cholesterol-induced osteoarthritis [J]. *FASEB J*, 2017, 31(1):356-367.
- [32] Blanco FJ, Valdes AM, Rego-Pérez I. Mitochondrial DNA variation and the pathogenesis of osteoarthritis phenotypes [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2018, 14(6):327-340.
- [33] 丁振飞. 抑制软骨细胞线粒体自噬对骨关节炎相关蛋白 MMP-1 和 MMP-13 表达的影响 [D]. 合肥:安徽医科大学, 2018.
- [34] Huang LW, Huang TC, Hu YC, et al. Zinc protects chondrocytes from monosodium iodoacetate-induced damage by enhancing ATP and mitophagy [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 521(1):50.
- [35] Inoki K, Zhu TQ, Guan KL. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival [J]. *Cell*, 2003, 115(5):577.
- [36] Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF, et al. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint [J]. *Mol Cell*, 2008, 30(2):214-226.
- [37] Egan DF, Shackelford DB, Mihaylova MM, et al. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy [J]. *Science*, 2011, 331(6016):456-461.
- [38] Wang B, Nie JL, Wu LJ, et al. AMPK α 2 protects against the development of heart failure by enhancing mitophagy via PINK1 phosphorylation [J]. *Circ Res*, 2018, 122(5):712-729.
- [39] Yang W, Nagasawa K, Münch C, et al. Mitochondrial sirtuin network reveals dynamic SIRT3-dependent deacetylation in response to membrane depolarization [J]. *Cell*, 2016, 167(4):985-1000. e21.
- [40] Chen LY, Wang Y, Terkeltaub R, et al. Activation of AMPK-SIRT3 signaling is chondroprotective by preserving mitochondrial DNA integrity and function [J]. *Osteoarthr Cartil*, 2018, 26(11):1539.
- [41] Caramés B, Taniguchi N, Otsuki S, et al. Autophagy is a protective mechanism in normal cartilage, and its aging-related loss is linked with cell death and osteoarthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(3):791-801.