

大鼠颞下颌关节骨关节炎模型中线粒体肌酸激酶 2 表达及在炎症进展中的作用

尼格阿依·艾合麦提^{1,2}, 伊丽丹娜·地里夏提^{1,2}, 安玮^{1,2}, 买买提吐逊·吐尔地^{1,2}<https://doi.org/10.12307/2025.921>

投稿日期: 2024-10-14

采用日期: 2024-11-26

修回日期: 2025-02-16

在线日期: 2025-02-28

中图分类号:

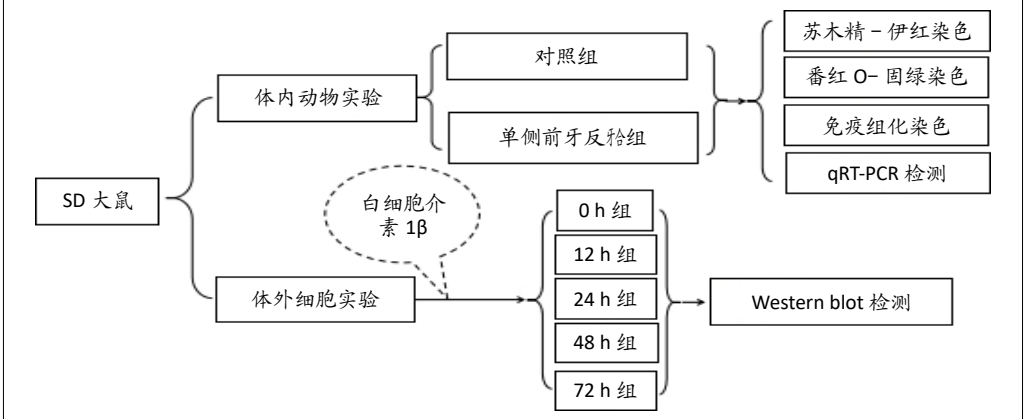
R459.9; R319; R782.6

文章编号:

2095-4344(2025)32-06877-08

文献标识码: A

文章快速阅读: 线粒体肌酸激酶 2 在颞下颌关节骨关节炎中的作用



文题释义:

颞下颌关节骨关节炎: 是一种病因复杂、发病机制不明的口腔颌面部常见疾病, 属于颞下颌关节紊乱病的重症类型, 病理特征是进行性软骨降解、软骨下骨重塑以及滑膜组织的慢性炎症。

线粒体肌酸激酶2: 又称为肌节型肌酸激酶, 是肌酸激酶同工酶之一。线粒体肌酸激酶2基因位于人类第5号染色体正链上, 包含11个外显子, 序列长度超过37 kb, 在 ATP合成及细胞内能量转运过程中发挥重要作用。

摘要

背景: 颞下颌关节骨关节炎的病因不明, 尚无特效根治手段, 治疗以缓解症状为主, 因此, 找到有效的早期分子诊断标志物或潜在的治疗靶点意义重大。

目的: 探讨大鼠颞下颌关节骨关节炎中线粒体肌酸激酶2表达变化及其在炎症进展中的作用。

方法: ①动物实验: 采用随机数字表法将20只SD大鼠随机分为对照组和单侧前牙反颌组($n=10$), 单侧前牙反颌组构建左侧颞下颌关节骨关节炎模型, 造模4周后, 通过苏木精-伊红染色、番红O-固绿染色观察下颌髁突软骨与软骨下骨病理变化, 免疫组化染色、qRT-PCR检测白细胞介素1 β 、基质金属蛋白酶13、II型胶原、蛋白聚糖、线粒体肌酸激酶2的蛋白与mRNA表达。②细胞实验: 将第3代大鼠下颌髁突软骨细胞分2组培养, 对照组常规培养, 模型组加入白细胞介素1 β 处理诱导炎症细胞模型, 白细胞介素1 β 处理24 h, Western blot检测基质金属蛋白酶13、II型胶原蛋白表达; 白细胞介素1 β 处理0, 12, 24, 48, 72 h, Western blot检测模型组细胞中线粒体肌酸激酶2蛋白表达。

结果与结论: ①动物实验: 苏木精-伊红染色结果显示, 单侧前牙反颌组髁突软骨纤维层崩解、细胞排列无序, 增殖层细胞密集, 细胞簇集明显, 软骨下骨有炎症细胞浸润; 番红O-固绿染色结果显示, 单侧前牙反颌组软骨基质红染范围变小、颜色变浅, 潮线不连续。单侧前牙反颌组髁突软骨中白细胞介素1 β 、基质金属蛋白酶13的mRNA与蛋白表达均高于对照组($P < 0.05$), II型胶原、蛋白聚糖、线粒体肌酸激酶2的mRNA与蛋白表达均低于对照组($P < 0.05$)。②细胞实验: 模型组髁突软骨细胞中基质金属蛋白酶13蛋白表达高于对照组($P < 0.05$), II型胶原蛋白表达低于对照组($P < 0.05$)。随着白细胞介素1 β 处理时间的延长, 模型组髁突软骨细胞中线粒体肌酸激酶2蛋白表达逐渐降低。③结果表明: 大鼠颞下颌关节骨关节炎中线粒体肌酸激酶2的相对表达量与软骨细胞炎症程度呈负相关关系, 推测线粒体肌酸激酶2可能是评估颞下颌关节骨关节炎炎症进展状态的重要指标。

关键词: 颞下颌关节; 骨关节炎; 线粒体肌酸激酶2; 髁突软骨; 白细胞介素1 β ; 工程化组织构建

Expression of mitochondrial creatine kinase 2 in a rat model of temporomandibular joint osteoarthritis and its role in inflammation progression

Nigeayi · Aihemaiti^{1,2}, Yilidanna · Dilixiati^{1,2}, An Wei^{1,2}, Maimaituxun · Tuerdi^{1,2}

¹Department of Oral and Maxillofacial Trauma and Orthognathic Surgery, the First Affiliated Hospital (Affiliated Stomatological Hospital) of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; ²Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Stomatology, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

¹新疆医科大学第一附属医院(附属口腔医院)口腔颌面创伤正颌外科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054; ²新疆维吾尔自治区口腔医学研究所, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

第一作者: 尼格阿依·艾合麦提, 女, 1994年生, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市人, 维吾尔族, 在读硕士, 主要从事颌面创伤外科研究。

通讯作者: 买买提吐逊·吐尔地, 博士, 主任医师, 新疆医科大学第一附属医院(附属口腔医院)口腔颌面创伤正颌外科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054; 新疆维吾尔自治区口腔医学研究所, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

<https://orcid.org/0009-0008-7326-6973> (尼格阿依·艾合麦提)

基金资助: 国家自然科学基金项目(8236030005), 项目名称: 线粒体内关键基因CKMT2的氧化修饰介导P53/MAPK信号通路促进颞下颌关节骨关节炎髁突软骨细胞凋亡的分子机制研究, 项目负责人: 买买提吐逊·吐尔地

引用本文: 尼格阿依·艾合麦提, 伊丽丹娜·地里夏提, 安玮, 买买提吐逊·吐尔地. 大鼠颞下颌关节骨关节炎模型中线粒体肌酸激酶 2 表达及在炎症进展中的作用 [J]. 中国组织工程研究, 2025, 29(32):6877-6884.



Nigeayi · Aihemaiti, Master candidate, Department of Oral and Maxillofacial Trauma and Orthognathic Surgery, the First Affiliated Hospital (Affiliated Stomatological Hospital) of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Stomatology, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Corresponding author: Maimaitituxun · Tuerdi, PhD, Chief physician, Department of Oral and Maxillofacial Trauma and Orthognathic Surgery, the First Affiliated Hospital (Affiliated Stomatological Hospital) of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Stomatology, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Abstract

BACKGROUND: Due to its unknown etiology and the lack of definitive curative treatments, management of temporomandibular joint osteoarthritis primarily focuses on symptom relief. Therefore, the identification of effective early molecular diagnostic biomarkers or potential therapeutic targets holds great significance.

OBJECTIVE: To investigate the expression of mitochondrial creatine kinase 2 in temporomandibular joint osteoarthritis in rats and its role in the progression of inflammation.

METHODS: (1) Animal experiment: Twenty Sprague-Dawley rats were randomly divided into control and unilateral anterior crossbite groups ($n=10$). A rat model of temporomandibular joint osteoarthritis was made in the unilateral anterior crossbite group. Four weeks after modeling, histological evaluations, including hematoxylin-eosin and Safranin O-fast green staining, were performed to assess pathological changes in the cartilage and subchondral bone of the mandibular condyle. Quantitative real-time PCR and immunohistochemical staining were utilized to detect the mRNA and protein expression levels of interleukin-1 β , matrix metalloproteinase 13, type II collagen, aggrecan, and mitochondrial creatine kinase 2 in condylar cartilage. (2) Cell experiment: Passage 3 condylar cartilage cells from Sprague-Dawley rats were divided into control group and model group. Cells in the control group were routinely cultured, while an inflammation model of condylar cartilage cells was established with interleukin 1 β in the model group were treated with interleukin-1 β to induce inflammatory cell models. After 24 hours of interleukin-1 β treatment, western blot was used to evaluate the expression of matrix metalloproteinase 13, type II collagen proteins in chondrocytes. Western blot was also used to detect the protein expression of mitochondrial creatine kinase 2 in the model group at 0, 12, 24, 48, and 72 hours after treatment with interleukin-1 β .

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Animal experiment: The results of hematoxylin-eosin staining showed that the unilateral anterior crossbite group exhibited disintegration of the fibrous layer in the cartilage of the mandibular condyle, disorganization of chondrocyte hierarchy, dense cellularity of the proliferative layer, obvious cell clustering, and infiltration of inflammatory cells in the subchondral bone. The results of Safranin O-fast green staining showed that in the cartilage matrix in the unilateral anterior crossbite group, the red stain became less extensive and lighter in color, and the tidal line was discontinuous. The mRNA and protein expression levels of interleukin-1 β and matrix metalloproteinase 13 were elevated in the unilateral anterior crossbite group compared with the control group ($P < 0.05$). Conversely, the relative expression of type II collagen, aggrecan, and mitochondrial creatine kinase 2 mRNA and protein decreased ($P < 0.05$). (2) Cell experiment: Compared with the control group, the protein expression of matrix metalloproteinase 13 in the experimental group was significantly increased ($P < 0.05$), while the protein expression of type II collagen was decreased ($P < 0.05$). With prolonged interleukin-1 β treatment, the protein expression of mitochondrial creatine kinase 2 in condylar chondrocytes of the model group gradually decreased. All the results indicate that the relative expression level of mitochondrial creatine kinase 2 was negatively correlated with the degree of chondrocyte inflammation in the rat model of temporomandibular joint osteoarthritis. Therefore, it is reasonable to infer that mitochondrial creatine kinase 2 is an important indicator for assessing the progression of inflammation in temporomandibular joint osteoarthritis.

Key words: temporomandibular joint; osteoarthritis; mitochondrial creatine kinase 2; condylar cartilage; interleukin-1 β ; engineered tissue construction

Funding: National Natural Science Foundation of China, No. 8236030005 (to MT)

How to cite this article: AIHEMAITI N, DILIXIATI Y, AN W, TUERDI M. Expression of mitochondrial creatine kinase 2 in a rat model of temporomandibular joint osteoarthritis and its role in inflammation progression. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2025;29(32):6877-6884.

0 引言 Introduction

颞下颌关节是颌面部唯一的运动关节，参与咀嚼、吞咽、言语等重要的生理功能活动，如有病损会对患者的生活质量造成严重的影响^[1]。颞下颌关节紊乱病干预不及时会引发颞下颌关节骨关节炎，颞下颌关节骨关节炎和骨关节炎都以滑膜炎、关节软骨退变、软骨下骨改建为病理特征^[2-3]。在骨关节炎中，异常负荷会引发关节小血管破裂，当大量血红蛋白释放到滑液后，产生的活性氧超出抗氧化防御“界限”而诱发氧化应激反应，导致脂质和蛋白质受损，破坏关节的正常功能^[4-6]；炎症细胞因子通过细胞内信号传导途径影响细胞因子和酶的产生，从而加重病情的进展^[7-8]。其中，白细胞介素 1 β 表达水平与关节炎严重程度呈显著正相关，白细胞介素 1 β 在模拟骨关节炎的状态中发挥着重要作用^[9-10]。研究表明，白细胞介素 1 β 促进基质金属蛋白酶在骨关节炎软骨中的表达，尤其是随着基质金属蛋白酶 13 表达的升高导致细胞外基质成分（如 II 型胶原和蛋白聚糖）的紊乱，使得细胞外基质处于非正常的合成和分解状态，最终破坏关节软骨^[11-13]。因此，颞下颌关节骨关节炎主要的致病因素中包括异常咬合对颞下颌关节施加的异常应力和炎症因子^[14-16]。

线粒体肌酸激酶 2 又称为肌节型肌酸激酶，是肌酸激酶同工酶之一，与 ATP 合成密切相关，在能量代谢中扮演着关键角色^[17]。通过 UCSC 数据库对线粒体肌酸激酶 2 的分析结果显示，该基因位于人类第 5 号染色体正链上 (chr5:81, 233, 320-81, 266, 398)，包含 11 个外显子，序列长度超过 37 kb。虽然线粒体肌酸激酶 2 主要表达于横纹肌组织，位于线粒体内膜外侧，但现在有很多研究发现它也在其他组织中表达，并且在不同组织中的表达水平存在差异^[18]。线粒体肌酸激酶 2 在癌症、2 型糖尿病以及肿瘤免疫中都扮演着关键角色，其表达水平和功能的变化与疾病的发生、发展和治疗结果密切相关^[19-20]。研究发现，线粒体肌酸激酶 2 与组织相容性复合体基因、免疫激活基因、免疫抑制基因、趋化因子基因和趋化因子受体基因的表达均呈正相关，提示线粒体肌酸激酶 2 可能通过调节这些基因的表达间接参与炎症反应和免疫调节过程^[21]。线粒体肌酸激酶 2 参与细胞内能量转运和细胞修饰氨基酸生物合成等过程^[22]，并在线粒体生物发生期间的激活过程中发挥关键作用^[23]。活性氧是氧源性自由基和非自由基的总称，可通过调节下游通路参与疾病的发生发展。线粒体在呼吸过程中产生的过量活性氧导

致氧化应激,进而损伤蛋白质、脂质和 DNA。氧化应激可以通过激活免疫细胞和促进促炎细胞因子的释放来引发炎症^[24]。线粒体肌酸激酶 2 活性与氧化能力相关,能够增加 ADP 依赖性呼吸功能的可用性,从而调节活性氧的形成;线粒体肌酸激酶 2 对活性氧的损伤具有高敏感性^[25],氧化应激会破坏线粒体肌酸激酶 2 稳定性,进而导致细胞凋亡^[26]。这些研究揭示了线粒体功能与炎症因子表达之间的潜在联系,为进一步研究线粒体肌酸激酶 2 在炎症中的作用提供了背景。对现有文献的梳理和总结发现,线粒体肌酸激酶 2 的研究主要集中在骨骼肌领域,而对于其与颞下颌关节骨关节炎之间联系的专门研究相对较少。此次研究基于单侧前牙反颌法构建大鼠颞下颌关节骨关节炎模型,利用白细胞介素 1 β 诱导髌突软骨细胞致炎,重点研究线粒体肌酸激酶 2 在大鼠颞下颌关节骨关节炎髌突软骨中的表达变化,旨在为临床治疗颞下颌关节骨关节炎提供新思路 and 方向,做出力所能及的贡献。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验,体外照细胞学实验,两组比较采用独立 t 检验、LSD-t 检验,多组比较采用单因素方差分析。

1.2 时间及地点 实验于 2024 年 3-9 月在新疆医科大学动物实验中心及新疆医科大学临床医学研究院完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 动物实验选取雄性 SD 大鼠 20 只,SPF 级,8 周龄,体质量 200-240 g;软骨髌突细胞提取选取雄性 SD 大鼠 5 只,SPF 级,6 周龄,体质量 120-160 g。25 只 SD 大鼠由新疆医科大学动物实验中心提供,许可证号:SCXK(新)2020-0002。实验前所有大鼠在饲养室(室温 21-25 °C,光照和黑暗各 12 h)适应性喂养 1 周。实验过程中严格遵循《关于善待实验动物的指导性意见》,尽一切努力最大限度地减少 SD 大鼠痛苦和死亡。实验已通过新疆医科大学第一附属医院动物伦理委员会批准(审批号:A230307-34)。

1.3.2 试剂与仪器 大鼠白细胞介素 1 β 重组蛋白(MCE,美国);玻璃离子水门汀(而至富士 I,日本);TRIzol Reagent(Invitrogen,美国);PrimeScript IV 1st strand cDNA Synthesis Mix 试剂盒(TaKaRa,日本);TB Green® Premix Ex Taq™ 试剂盒(TaKaRa,日本);白细胞介素 1 β 一抗(Affinity, AF5103);基质金属蛋白酶 13 一抗(Abcam, AB39012);II 型胶原一抗(Servicebio, GB150010);aggrecan 一抗(Affinity, DF7561);线粒体肌酸激酶 2 一抗(Affinity, DF3104);GAPDH 抗体(Servicebio, A1800);高糖 DMEM 培养基(普诺赛,中国);胎牛血清(Cytiva,美国);胰蛋白酶(Gibco,美国);II 型胶原酶(Worthington,

美国);多聚甲醛(Solarbio, P1110);Triton X-100(Solarbio, T8200);DAPI(Solarbio, C0060);CoraLite488-conjugated Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)(Solarbio, SA00013-2);Fluoromount-G 荧光封固剂(SouthernBiotech, 0100-01);微量紫外分光光度计(Merinton, 中国);Real-time 检测仪(ABI, 美国);显微系统(Leica, 德国)。

1.4 方法

1.4.1 动物实验

实验分组:采用随机数字表法将 20 只 SD 大鼠随机分为对照组($n=10$)与单侧前牙反颌组($n=10$)。

构建颞下颌关节骨关节炎模型:利用金属材质和低速手机的相互配合,使用 20 号牛通乳针(3 mm)作为大鼠左上前牙的金属套筒冠,使用持针器将 20 号牛通乳针(8 mm)一端弯制成与通乳针长轴呈 135° 唇向倾斜、3.5 mm 长的平面导板,预留 4.5 mm 通乳针作为大鼠左下前牙的金属套筒冠。单侧前牙反颌组腹腔注射 0.3% 戊巴比妥钠(10 mL/kg)麻醉大鼠后,使用已调制的玻璃离子水门汀分别于大鼠的左上前牙、左下前牙黏结金属套筒冠,建立 SD 大鼠颞下颌关节骨关节炎模型。对照组除不黏结金属套筒冠外,其余处理同单侧前牙反颌组。每天检查金属套筒冠的黏合状态,避免金属套筒冠出现脱落。造模 4 周后,通过髌突软骨苏木精-伊红染色、番红 O-固绿染色证明造模是否成功。

组织工程实验动物造模过程中的相关问题

造模目的	建立颞下颌关节骨关节炎动物模型
选择动物的条件	雄性, SPF 级大鼠, 8 周龄, 体质量 200-240 g
模型与所研究疾病的关系	单侧前牙反颌模型是研究颞下颌关节骨关节炎的一个重要的造模方法,它能够模拟异常咬合对颞下颌关节的影响,并有不少研究能够证明它能够揭示颞下颌关节骨关节炎的进展机制
动物来源及品系	SD 大鼠, 由新疆医科大学动物实验中心提供
造模技术描述	利用金属材质和低速手机的相互配合,使用 20 号牛通乳针(3 mm)作为大鼠左上前牙的金属套筒冠,使用持针器将 20 号牛通乳针(8 mm)一端弯制成与通乳针长轴呈 135° 唇向倾斜、3.5 mm 长的平面导板,预留 4.5 mm 通乳针作为大鼠左下前牙的金属套筒冠。使用已调制的玻璃离子水门汀分别于单侧前牙反颌组左上前牙、左下前牙黏结金属套筒冠,建立 SD 大鼠颞下颌关节骨关节炎模型
动物数量及分组方法	采用随机数字表法将 20 只 SD 大鼠随机分为对照组($n=10$)与单侧前牙反颌组($n=10$)
造模成功评价指标	造模 4 周后,通过髌突软骨苏木精-伊红染色、番红 O-固绿染色证明造模是否成功
造模后观察指标	造模 4 周后,通过苏木精-伊红染色、番红 O-固绿染色观察下颌髌突软骨与软骨下骨病理变化,免疫组化染色、qRT-PCR 检测白细胞介素 1 β 、基质金属蛋白酶 13、II 型胶原、蛋白聚糖、线粒体肌酸激酶 2 的蛋白与 mRNA 表达
造模后动物处理	造模 4 周后,腹腔注射过量戊巴比妥钠处死大鼠后取材,进行相关检测
伦理委员会批准	实验已通过新疆医科大学第一附属医院动物伦理委员会批准(审批号:A230307-34)

取材：造模 4 周后，腹腔注射过量戊巴比妥钠处死大鼠，两组各取 4 只大鼠，剥离头部皮肤，待脱钙完成后切取左侧颞下颌关节，进行组织学检测；两组剩余的 6 只大鼠，在解剖分离左侧髁突后暂存于液氮中，以备后续进行 qRT-PCR 检测。

苏木精 - 伊红与番红 O- 固绿染色：大鼠头部分别置于 40 g/L 多聚甲醛中固定 24 h、15% 乙二胺四乙酸脱钙 6 周，经脱钙脱水处理后切取左侧颞下颌关节，用适量的石蜡包埋成组织块，顺矢状向连续切片，片厚 4 μm，分别进行苏木精 - 伊红与番红 O- 固绿染色。由 3 名独立的观察者按照改良 Mankin 评分系统对染色结果进行评分，苏木精 - 伊红染色按软骨结构和软骨细胞 2 个部分评分，番红 O- 固绿染色按软骨结构、软骨细胞、潮线及番红 O- 固绿染色 4 个部分评分，见表 1。

表 1 | 颞下颌关节改良 Mankin 评分

Table 1 | Modified Mankin's scoring scale of the temporomandibular joint

软骨结构	评分	软骨细胞	评分	潮线	评分	番红 O- 固绿染色	评分
结构正常，表面光滑平整	0 分	软骨细胞表现正常	0 分	完整连续的潮线	0 分	染色正常	0 分
层次基本完整，表面凹凸不平	1 分	细胞数量明显增多	1 分	连续性中断或难以辨认	1 分	红染轻度减轻	1 分
各层次结构紊乱	2 分	细胞聚集成团	2 分			红染中度减轻	2 分
结构明显裂隙达增殖层	3 分	细胞数量显著减少	3 分			红染重度减轻	3 分
裂隙深达肥大层	4 分					红染完全消失	4 分
裂隙深达钙化层	5 分						
结构层次完全紊乱，无法分清	6 分						

qRT-PCR 检测：使用 TRIzol Reagent 从髁突软骨提取 RNA 后用无酶水溶解，微量紫外分光光度计测定浓度。使用 PrimeScript IV 1st strand cDNA Synthesis Mix 试剂盒将总 RNA 反转录成 cDNA。使用 TB Green® Premix Ex Taq™ 试剂盒扩增 cDNA，利用 Real-time 检测仪检测白细胞介素 1β、基质金属蛋白酶 13、II 型胶原、蛋白聚糖、线粒体肌酸激酶 2 的 mRNA 相对表达。引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成，见表 2。

表 2 | qRT-PCR 检测引物序列

Table 1 | Primer sequences for quantitative real-time PCR

基因	引物序列 (5'-3')	产物长度 (bp)
白细胞介素 1β	F: GTG CTG TCT GAC CCA TGT GA	145
	R: GAT TCT TCC CCT TGA GGC CC	
基质金属蛋白酶 13	F: ACC AAG AGT TGG AGT GCC TG	175
	R: CAG AGG TGT CAC ATC AGA CCA	
II 型胶原	F: TCC AGG TCC TGC TGG AAA AC	141
	R: CCT CTG TGA CCC TTG ACA CC	
蛋白聚糖	F: CCA TGC ACT CTG TGA CCA CT	194
	R: GAT TTC CAA GGT GGC ATC GC	
线粒体肌酸激酶 2	F: TGC TCT CGG GCA GAA AGA AG	220
	R: GCC AGA TTC CTC TGG CAT CA	
GAPDH	F: GTC CAT GCC ATC ACT GCC ACT C	132
	R: GAT GAC CTT GCC CAC AGC CTT G	

免疫组化染色：对切片进行脱蜡、复水处理后，置于抗原修复液及体积分数 3% H₂O₂ 溶液中处理 10 min，添加兔抗鼠白细胞介素 1β(1 : 200)、基质金属蛋白酶 13(1 : 200)、II 型胶原(1 : 100)、蛋白聚糖(1 : 200)、线粒体肌酸激酶 2 抗体(1 : 200)于 4 °C 孵育过夜，添加羊抗兔二抗于室温下用孵育 50 min，经 DAB 染色、苏木精复染、脱水、透明后进行封固处理，使用显微系统拍照，借助 Image J 软件计算免疫组化染色阳性细胞率。

1.4.2 细胞实验

分离提取髁突软骨细胞：取 5 只 SD 大鼠，腹腔注射 0.3% 戊巴比妥钠(10 mL/kg) 麻醉后处死，分离双侧下颌髁突，剪切髁突表面软骨，用 PBS 冲洗；用细小剪刀剪切成 1.0 mm³ 大小的组织碎片，置于培养皿中，用 PBS 冲洗 3 次；加入 0.25% 胰蛋白酶 3 mL 消化 15 min，1 000 r/min 离心 5 min，弃掉上清液；加入 3 mL 0.25% II 型胶原酶在 37 °C 恒温培养箱中消化 2 h，1 000 r/min 离心 5 min；弃掉上清液，加入完全培养基(含 10% 胎牛血清、1% 青霉素 - 链霉素的高糖 DMEM 培养基)，吹打均匀将其移植至培养瓶内，置于 37 °C 恒温培养箱中培养。每 3 d 换液 1 次。观察细胞生长融合至 80% 时传代。

II 型胶原免疫荧光染色鉴定软骨细胞：将第 2 代软骨细胞接种于 24 孔板中，每孔 2 000 个细胞，置于培养箱中静置过夜；细胞爬片后弃完全培养基，用 PBS 清洗 1 次，置于 40 g/L 多聚甲醛中固定 30 min，用 PBS 清洗 3 次，置于在 4 °C 恒温冰箱中静置过夜；用玻片封闭液(PBS 和 0.5% Triton X-100 按体积比 1 : 1 混合，再加体积分数 10% 血清)封闭 2 h；破膜封闭后，取 50 μL II 型胶原一抗(1 : 100)滴在玻片上，将玻片平放于湿盒中于 4 °C 冰箱过夜；室温避光孵育二抗(1 : 500)2 h，用 PBS 清洗 3 次；滴加 DAPI(1 : 1 000)染色 5 min，用 PBS 清洗 3 次；滴 1 滴 Fluoromount-G 在玻片上，盖上有细胞的面，置于荧光显微镜下观察。

实验分组：将第 3 代髁突软骨细胞接种于 T25 细胞培养瓶内，细胞密度为 3×10⁵/瓶，分 2 组培养：对照组不进行任何处理，模型组加入 10 ng/mL 白细胞介素建立炎症细胞模型^[27]。白细胞介素 1β 处理 24 h，Western blot 检测两组细胞内基质金属蛋白酶 13、II 型胶原蛋白表达；白细胞介素 1β 处理 0, 12, 24, 48, 72 h，Western blot 检测模型组细胞中线粒体肌酸激酶 2 蛋白表达。

Western blot 检测：收集各组细胞，加入 200 μL 裂解液完全裂解，12 000 r/min 离 10 min 后取上清，采用 BCA 法检测蛋白表达。进行 SDS-PAGE 电泳，80 V 和 120 V 分别用于浓缩胶和分离胶；300 mA 转膜 80 min；在 37 °C 恒温、5% 牛血清白蛋白中封闭 PVDF 膜 2 h；加白细胞介素 1β(1 : 1 000)、基质金属蛋白酶 13(1 : 1 000)、II 型胶原(1 :

1 000)、aggrecan(1 : 500)、线粒体肌酸激酶 2(1 : 1 000)、GAPDH(1 : 3 000) 抗体, 于 4 °C 冰箱静置过夜; 常规 TBST 漂洗, 加二抗 (1 : 5 000) 于室温下孵育 2 h, 常规 TBST 漂洗, 使用 ECL 显影试剂盒显影, 使用 Image J 软件分析条带灰度值。

1.5 主要观察指标 对照组与单侧前牙反骀组大鼠髌突软骨苏木精-伊红染色、番红 O-固绿染色、免疫组化染色与 qRT-PCR 检测结果, 对照组与模型组髌突软骨细胞中基质金属蛋白酶 13、II 型胶原蛋白表达, 模型组髌突软骨细胞中线粒体肌酸激酶 2 蛋白表达。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 26.0 软件统计分析研究数据, 选用 GraphPad Prism 9.0 软件绘制图形。以 $\bar{x} \pm s$ 表示计量资料, 两组比较采用独立 *t* 检验, 多组比较采用单因素方差分析及 LSD-*t* 检验进行两两比较, 检验水准 $\alpha=0.05$, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。文章统计学方法已经新疆医科大学统计学专家审核。

2 结果 Results

2.1 动物实验结果

2.1.1 实验动物数量分析 20 只 SD 大鼠全部进入结果分析。

2.1.2 两组大鼠髌突软骨炎症情况 苏木精-伊红染色结果显示, 对照组髌突软骨表面平整, 不存在裂隙, 分为纤维层、增殖层、肥大层、钙化软骨层 4 层; 单侧前牙反骀组髌突软骨纤维层崩解、细胞排列无序, 增殖层细胞密集, 细胞簇集明显, 软骨下骨有炎症细胞浸润, 见图 1。番红 O-固绿染色结果显示, 相对于对照组, 单侧前牙反骀组软骨基质红染范围变小、颜色变浅, 潮线不连续, 见图 1。单侧前牙反骀组髌突软骨苏木精-伊红染色与番红 O-固绿染色 Mankin 评分均高于对照组 ($P < 0.000 1$), 见图 1。

2.1.3 两组大鼠髌突软骨中炎症基因及骨分解代谢基因表达比较 qRT-PCR 检测结果显示, 与对照组比较, 单侧前牙反骀组大鼠髌突软骨中白细胞介素 1 β 、基质金属蛋白酶 13 mRNA 表达升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), II 型胶原、蛋白聚糖 mRNA 表达降低 ($P < 0.001$, $P < 0.05$), 见图 2。免疫组化染色结果显示, 与对照组比较, 单侧前牙反骀组大鼠髌突软骨中白细胞介素 1 β 、基质金属蛋白酶 13 染色明显变深, II 型胶原、蛋白聚糖染色明显变浅, 定量分析结果显示单侧前牙反骀组髌突软骨中白细胞介素 1 β 、基质金属蛋白酶 13 阳性细胞率均高于对照组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), II 型胶原、蛋白聚糖阳性细胞率均低于对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见图 3。

2.1.4 两组大鼠髌突软骨中线粒体肌酸激酶 2 表达比较 qRT-PCR 检测结果显示, 单侧前牙反骀组大鼠髌突软骨中线粒体肌酸激酶 2 mRNA 表达低于对照组 ($P < 0.01$), 见图

2。免疫组化染色结果显示, 单侧前牙反骀组大鼠髌突软骨中肥大浅层的线粒体肌酸激酶 2 着色不如对照组, 定量分析结果显示单侧前牙反骀组大鼠髌突软骨中线粒体肌酸激酶 2 阳性细胞率低于对照组 ($P < 0.05$), 见图 3。

2.2 细胞实验结果

2.2.1 髌突软骨细胞的鉴定 经过四五天培养后, 髌突软骨细胞进入对数生长期, 待培养至第 2 代时细胞多呈圆形、多边形或星形, 像铺路石样结构, 细胞之间接触紧密, 与正常的髌突软骨细胞形态相同。免疫荧光染色结果显示, 超 90% 的细胞 II 型胶原免疫荧光染色呈阳性 (图 4)。

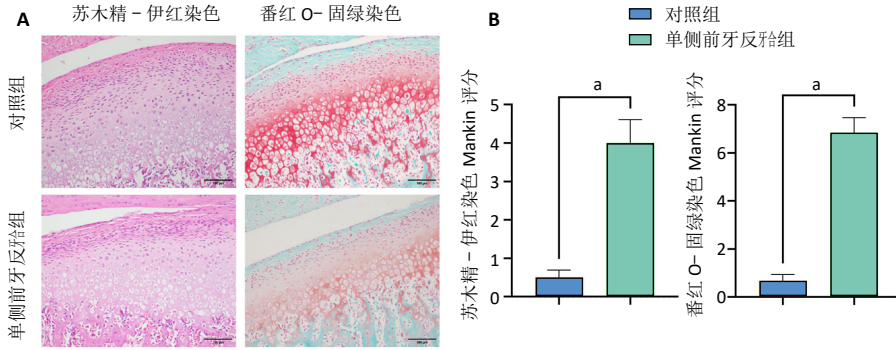
2.2.2 髌突软骨细胞炎症模型鉴定 Western blot 检测结果显示, 模型组软骨细胞中基质金属蛋白酶 13 蛋白表达高于对照组 ($P < 0.05$), II 型胶原蛋白表达低于对照组 ($P < 0.01$), 见图 5A。由此确定软骨细胞炎症模型建立成功。

2.2.3 模型组髌突软骨细胞中线粒体肌酸激酶 2 蛋白表达变化 Western blot 检测结果显示, 随着白细胞介素 1 β 处理时间的延长, 髌突软骨细胞中线粒体肌酸激酶 2 蛋白表达逐渐降低, 与处理 0 h 比较, 处理 24, 48, 72 h 的线粒体肌酸激酶 2 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.001$, $P < 0.000 1$); 与处理 12 h 比较, 处理 24, 48, 72 h 的线粒体肌酸激酶 2 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.001$); 与处理 24 h 比较, 处理 48, 72 h 的线粒体肌酸激酶 2 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与处理 48 h 比较, 处理 72 h 的线粒体肌酸激酶 2 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 见图 5B。

3 讨论 Discussion

在颞下颌关节骨关节炎的早期阶段, 特征表现为细胞外基质的破坏及软骨细胞的凋亡^[28]。单侧前牙反骀模型是借助异常力学刺激建构的错骀模型, 该模型建模方法简单且结构稳定。众多实证研究已经证实, 单侧前牙反骀模型能够有效诱发颞下颌关节骨关节炎病变^[29]。研究发现, 在大鼠单侧前牙反骀模型建立 2 周时基质金属蛋白酶 13 表达量降低、蛋白聚糖表达量增加, 这是因为软骨细胞在早期阶段试图弥补蛋白多糖损失的一种反应; 在 4, 8 周时, 白细胞介素 1 β 、基质金属蛋白酶 13 的表达量增加, 软骨细胞数量减少, 胶原基质和蛋白多糖遭到破坏^[30-32]。因此, 此次研究动物实验中采用单侧前牙反骀模型, 在造模 4 周后通过组织学检查以及免疫组化、qRT-PCR 检测白细胞介素 1 β 、基质金属蛋白酶 13、II 型胶原和蛋白聚糖的表达, 证实大鼠颞下颌关节骨关节炎模型成功建立。

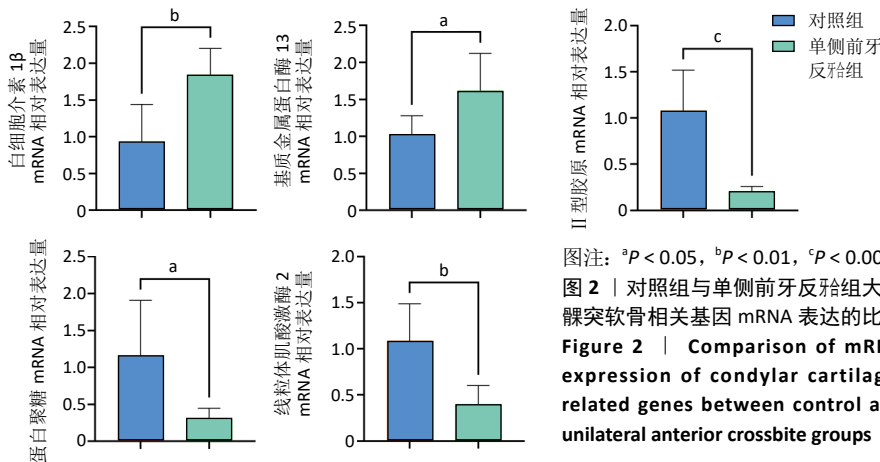
同时, 此次研究还进行了体外细胞实验。切取大鼠髌突软骨后在适宜环境中分离培养传代, 借助形态学观察、免疫荧光等方法鉴定了这些细胞为髌突软骨细胞。髌突软骨细胞显示出强烈的活性和高纯度的特征, 胞浆



图注：图 A 为两组髁突软骨苏木精-伊红、番红 O-固绿染色图像，单侧前牙反颌组颌髁突软骨纤维层崩解、细胞排列无序，软骨下骨有炎症细胞浸润，软骨基质红染范围变小、颜色变浅，潮线不连续，比例尺 =100 μm；B 为苏木精-伊红与番红 O-固绿染色 Mankin 评分，^a $P < 0.0001$ 。

图 1 | 对照组与单侧前牙反颌组大鼠髁突软骨苏木精-伊红、番红 O-固绿染色结果

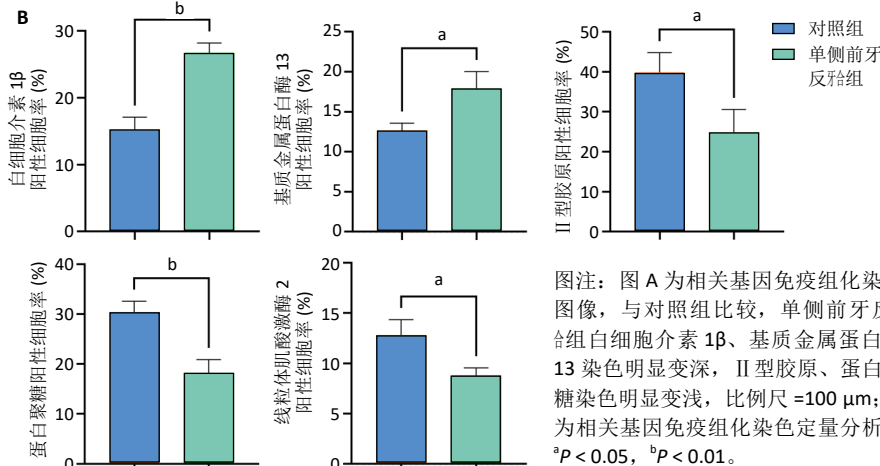
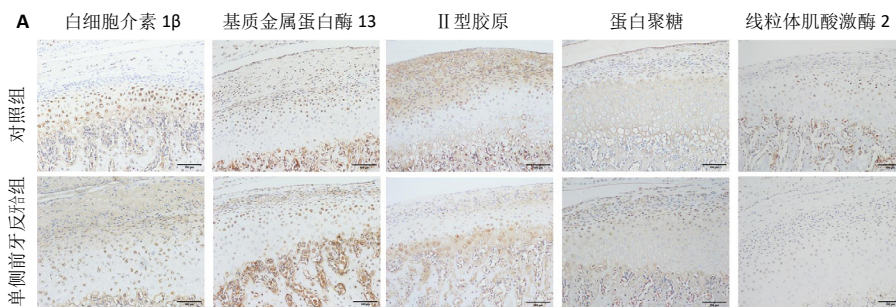
Figure 1 | Hematoxylin-eosin and Safranin O-fast green staining of the condylar cartilage in the control and unilateral anterior crossbite groups



图注：^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$ 。

图 2 | 对照组与单侧前牙反颌组大鼠髁突软骨相关基因 mRNA 表达的比较

Figure 2 | Comparison of mRNA expression of condylar cartilage-related genes between control and unilateral anterior crossbite groups



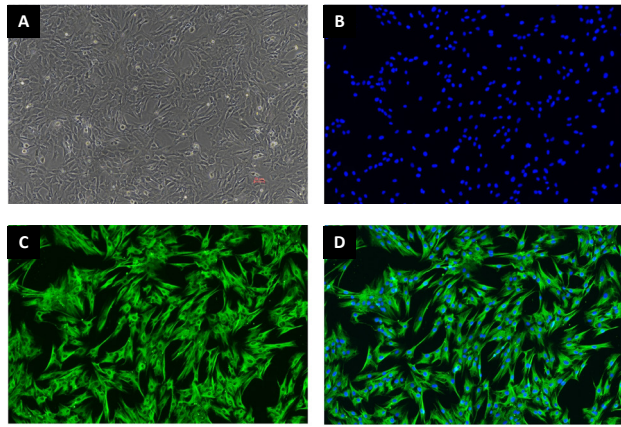
图注：图 A 为相关基因免疫组化染色图像，与对照组比较，单侧前牙反颌组白细胞介素 1β、基质金属蛋白酶 13 染色明显变深，II 型胶原、蛋白聚糖染色明显变浅，比例尺 =100 μm；B 为相关基因免疫组化染色定量分析，^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

图 3 | 对照组与单侧前牙反颌组大鼠髁突软骨相关基因免疫组化染色分析结果

Figure 3 | Immunohistochemical staining of condylar cartilage-related genes in control and unilateral anterior crossbite groups

中含有丰富的 II 型胶原，表明它们适合进行体外分离、培养和传代^[33]。研究证实，白细胞介素 1β 能在体外诱导多种软骨细胞产生炎症反应，破坏细胞^[34-35]，因而，此次实验通过白细胞介素 1β 诱导大鼠髁突软骨细胞模拟体外致炎环境，利用 Western blot 检测基质金属蛋白酶 13 和 II 型胶原的表达，结果表明髁突软骨细胞炎症模型成功建立。

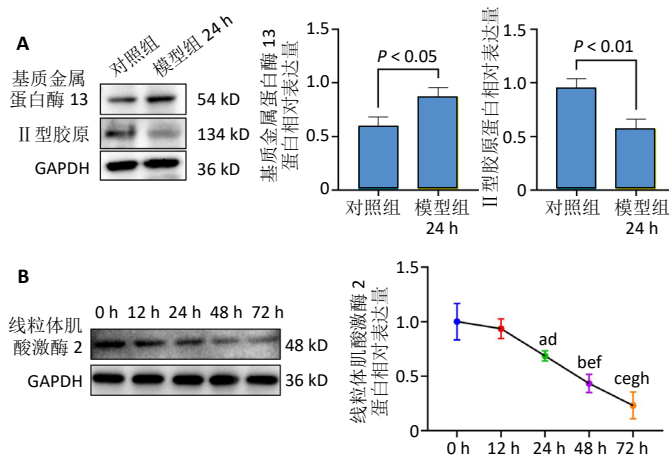
线粒体作为细胞内的核心细胞器，不仅通过氧化磷酸化过程产生 ATP 以供应细胞能量，还调控着多种细胞活动，包括维持钙离子平衡和活性氧的生成等^[36]。线粒体功能障碍与骨关节炎的发生和发展有着密切的关系^[37-38]。在软骨细胞中，线粒体稳态失衡会导致氧化应激、活性氧堆积、炎症因子的分泌增加，进而引起软骨细胞凋亡^[39]。另外，线粒体能量代谢紊乱被认为是促进关节软骨退化的重要因素之一。线粒体相关基因线粒体肌酸激酶 2 参与线粒体中 ATP 的合成，在能量代谢活动中扮演者重要角色^[21]。线粒体肌酸激酶 2 基因水平的降低或突变可能影响能量稳态、活性氧的产生和组织寿命，从而导致组织功能障碍和疾病。因此，可以推断线粒体肌酸激酶 2 的活动对于维持软骨细胞的能量平衡至关重要^[36, 40]。此次研究免疫组化染色结果显示，与对照组相比，单侧前牙反颌组大鼠髁突软骨组织中线粒体肌酸激酶 2 的染色减弱，这一结果表明线粒体肌酸激酶 2 与白细胞介素 1β、基质金属蛋白酶 13 的表达呈负相关，而与 II 型胶原、蛋白聚糖的表达呈正相关。体外细胞实验结果也显示，模型组线粒体肌酸激酶 2 蛋白表达随炎症因子白细胞介素 1β 干预时间的延长而减少，表明随着颞下颌关节骨关节炎的进展，线粒体肌酸激酶 2 的表达逐渐降低。综合以上研究结果，线粒体肌酸激酶 2 的低表达很可能是颞下颌关节骨关节炎的不利因素。



图注：图 A 为第 2 代髁突软骨细胞；B 为蓝染的细胞核；C 为绿染的 II 型胶原；D 为重叠图。

图 4 | 大鼠髁突软骨细胞的鉴定 (×100)

Figure 4 | Identification of condylar chondrocytes in rats (×100)



图注：图 A 为对照组与模型组髁突软骨细胞中基质金属蛋白酶 13、II 型胶原蛋白表达的比较；B 为对照组 (0 h) 与模型组 (12, 24, 48, 72 h) 髁突软骨细胞中线粒体基质金属蛋白酶 2 蛋白表达的比较。与处理 0 h 比较，^aP < 0.05, ^bP < 0.001, ^cP < 0.0001；与处理 12 h 比较，^dP < 0.05, ^eP < 0.001；与处理 24 h 比较，^fP < 0.05, ^gP < 0.01；与处理 48 h 比较，^hP < 0.05。

图 5 | 对照组与模型组髁突软骨细胞中相关蛋白表达的比较

Figure 5 | Comparison of condylar cartilage-related proteins in control and model groups

此次研究在探讨线粒体基质金属蛋白酶 2 表达量降低的深层机制方面存在局限，未能深入揭示其背后的原因。线粒体在生命活动中至关重要，它们在 ATP 生成等关键生物合成过程中的作用，当线粒体功能受损时，可能会导致软骨细胞凋亡^[41]。调节线粒体呼吸链的活性能够控制骨关节炎软骨细胞的行为^[42]。BLANCO 等^[43]的研究指出，在白细胞介素 1β 和肿瘤坏死因子 α 的影响下，线粒体 DNA 功能受损，无法有效产生能量。线粒体基质金属蛋白酶 2 在线粒体生物发生期间的协调激活过程中扮演着关键角色，与线粒体的能量代谢和免疫调节功能紧密相关^[17]，线粒体基质金属蛋白酶 2 的表达可能对软骨细胞凋亡产生影响。未来，课题组将计划深入研究线粒体基质金属蛋白酶 2 表达与软骨细

胞凋亡之间的内在联系。此次研究初步探讨了线粒体基质金属蛋白酶 2 与特定炎症因子的相互关系，未来的研究将进一步探讨这些因子与其他炎症递质的相互作用及与线粒体基质金属蛋白酶 2 的关系，以期构建一个更完整的炎症反应模型。

综上所述，线粒体基质金属蛋白酶 2 的表达量与软骨细胞炎症程度呈负相关，因此推断线粒体基质金属蛋白酶 2 可能是评估颞下颌关节骨关节炎炎症进展的一个重要指标。

作者贡献：买买提吐逊·吐尔地和尼格阿依·艾合麦提进行实验设计，实验实施为尼格阿依·艾合麦提、伊丽丹娜·地里夏提、安玮，实验评估为买买提吐逊·吐尔地，资料收集为尼格阿依·艾合麦提、伊丽丹娜·地里夏提，数据统计为安玮，文章撰写为尼格阿依·艾合麦提，审校为买买提吐逊·吐尔地。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让：文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范：该文撰写遵守了国际医学期刊编辑委员会《学术研究与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发表宗旨。

4 参考文献 References

- TRINDADE D, CORDEIRO R, JOSÉ HC, et al. Biological Treatments for Temporomandibular Joint Disc Disorders: Strategies in Tissue Engineering. *Biomolecules*. 2021;11(7):933.
- CARDONEANU A, MACOVEI LA, BURLUI AM, et al. Temporomandibular Joint Osteoarthritis: Pathogenic Mechanisms Involving the Cartilage and Subchondral Bone, and Potential Therapeutic Strategies for Joint Regeneration. *Int J Mol Sci*. 2022;24(1):171.
- MÉLOU C, PELLEN-MUSSI P, JEANNE S, et al. Osteoarthritis of the Temporomandibular Joint: A Narrative Overview. *Medicina*. 2022;59(1):8.
- WANG GW, WANG MQ, WANG XJ, et al. Changes in the expression of MMP-3, MMP-9, TIMP-1 and aggrecan in the condylar cartilage of rats induced by experimentally created disordered occlusion. *Arch Oral Biol*. 2010;55(11):887-895.
- CHU M, CHEN G, CHEN K, et al. Heme oxygenase 1 linked to inactivation of subchondral osteoclasts in osteoarthritis. *Zhejiang Univ Sci B*. 2024;25(6):513-528.
- BRAZ MA, FREITAS PORTELLA F, SEEHABER KA, et al. Association between oxidative stress and temporomandibular joint dysfunction: A narrative review. *J Oral Rehabil*. 2020;47(4):536-546.
- MA T, WU CB, SHEN QX, et al. TRIM52 knockdown inhibits proliferation, inflammatory responses and oxidative stress in IL-1β-induced synovial fibroblasts to alleviate temporomandibular joint osteoarthritis. *J Cell Mol Med*. 2024;28(8):e18244.
- CHEN BY, PATHAK JL, LIN HY, et al. Inflammation Triggers Chondrocyte Ferroptosis in TMJOA via HIF-1α/TFRC. *J Dent Res*. 2024;103(7):712-722.

- [9] GE XP, GAN YH, ZHANG CG, et al. Requirement of the NF- κ B pathway for induction of Wnt-5A by interleukin-1 β in condylar chondrocytes of the temporomandibular joint: functional crosstalk between the Wnt-5A and NF- κ B signaling pathways. *Osteoarthritis Cartilage*. 2011; 19(1):111-117.
- [10] CHEN X, HE F, ZHANG H, et al. Syndecan-4 inhibition attenuates cartilage degeneration in temporomandibular joint osteoarthritis. *J Oral Rehabil*. 2024;51(11):2324-2335.
- [11] TABEIAN H, BETTI BF, DOS C, et al. IL-1 β Damages Fibrocartilage and Upregulates MMP-13 Expression in Fibrochondrocytes in the Condyle of the Temporomandibular Joint. *Int J Mol Sci*. 2019;20(9):2260.
- [12] YI H, ZHANG W, CUI ZM, et al. Resveratrol alleviates the interleukin-1 β -induced chondrocytes injury through the NF- κ B signaling pathway. *J Orthop Surg Res*. 2020;15(1):424.
- [13] JUAN Z, XING-TONG M, XU Z, et al. Potential pathological and molecular mechanisms of temporomandibular joint osteoarthritis. *J Dent Sci*. 2023;18(3):959-971.
- [14] ZHOU Y, LIN S, HUANG Z, et al. Receptor-interacting protein 1 inhibition prevents mechanical stress-induced temporomandibular joint osteoarthritis by regulating apoptosis and later-stage necroptosis of chondrocytes. *Arch Oral Biol*. 2023;147:105612
- [15] HE Y, ZHOU M, JIAN Z, et al. C-Reactive Protein Knockout Attenuates Temporomandibular Joint Inflammation in Rats. *J Immunol Res*. 2022; 2022(1):8613986.
- [16] 胡敏. 颞下颌关节骨关节炎：认识与挑战 [J]. *中华口腔医学杂志*, 2022,57(7):665-673.
- [17] LIANG Y, CHEN Y, TIAN T, et al. Molecular mechanism of the ESRRG-PER1-CKMT2 signal axis in ovariectomized female rats with OSAHS. *Transpl Immunol*. 2022;74:101631.
- [18] RICHARD I, DEVAUD C, CHERIF D, et al. The gene for creatine kinase, mitochondrial 2 (sarcomeric; CKMT2), maps to chromosome 5q13.3. *Genomics*. 1993;18(1):134-136.
- [19] ZHUANG B, NI X, MIN Z, et al. Long Non-Coding RNA CKMT2-AS1 Reduces the Viability of Colorectal Cancer Cells by Targeting AKT/mTOR Signaling Pathway. *Iran J Public Health*. 2022;51(2):327-335.
- [20] RIZO-ROCA D, GUIMARÃES DSPSF, PENDERGRAST LA, et al. Decreased mitochondrial creatine kinase 2 impairs skeletal muscle mitochondrial function independently of insulin in type 2 diabetes. *Sci Transl Med*. 2024;16(768):eado3022.
- [21] LIN W, ZHOU J, MA Y, et al. Prognostic value of mitochondrial CKMT2 in Pan-cancer and its tumor immune correlation analysis. *Sci Rep*. 2024;14(1):342.
- [22] 孙诗雨, 李金岚, 邢佳妮, 等. 简州大耳羊 CKMT2 基因克隆、生物信息学分析及时空表达研究 [J]. *中国畜牧兽医*, 2024,51(6): 2342-2353.
- [23] 刘金华, 于晟曼, 薛菲, 等. CKMT2 在结直肠癌中的表达及意义 [J]. *中国实验诊断学*, 2022,26(12):1811-1813.
- [24] STAAL J, BLANCO LP, PERL A. Editorial: Mitochondrial dysfunction in inflammation and autoimmunity. *Front Immunol*. 2023;14:1304315.
- [25] DOLDER M, WALZEL B, SPEER O, et al. Inhibition of the Mitochondrial Permeability Transition by Creatine Kinase Substrates: REQUIREMENT FOR MICROCOMPARTMENTATION. *J Biol Chem*. 2003;278(20): 17760-17766.
- [26] GRZYB K, SKORKOWSKI EF. Izoenzymy kinazy kreatynowej- charakterystyka i funkcje w komórce. *Postepy Biochem*. 2008;54(3): 274-283.
- [27] LIU S, WU C, ZHANG Y. Transcriptomics analyses of IL-1 β -stimulated rat chondrocytes in temporomandibular joint condyles and effect of platelet-rich plasma. *Heliyon*. 2024;10(4):e26739.
- [28] FUNATO S, YASUHARA R, YOSHIMURA K, et al. Extracellular matrix loss in chondrocytes after exposure to interleukin-1 β in NADPH oxidase-dependent manner. *Cell Tissue Res*. 2017;368(1):135-144.
- [29] ZHANG M, YANG H, LU L, et al. Matrix replenishing by BMSCs is beneficial for osteoarthritic temporomandibular joint cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*. 2017;25(9):1551-1562.
- [30] ZHANG HY, LIU YD, YANG HX, et al. Installing and thereafter removing an aberrant prosthesis elicited opposite remodelling responses in growing mouse temporomandibular joints. *J Oral Rehabil*. 2015;42(9):685-692.
- [31] MA S, ZHANG A, LI X, et al. MiR-21-5p regulates extracellular matrix degradation and angiogenesis in TMJOA by targeting Spry1. *Arthritis Res Ther*. 2020;22(1):99-116.
- [32] WANG YL, ZHANG J, ZHANG M, et al. Cartilage degradation in temporomandibular joint induced by unilateral anterior crossbite prosthesis. *Oral Dis*. 2014;20(3):301-306.
- [33] 基于网络药理学和分子对接研究高山金莲花素对颞下颌关节骨关节炎细胞模型的作用机制 [J]. *口腔疾病防治*, 2024,32(8):578-588.
- [34] ZHANG C, WANG P, JIANG P, et al. Upregulation of lncRNA HOTAIR contributes to IL-1 β -induced MMP overexpression and chondrocytes apoptosis in temporomandibular joint osteoarthritis. *Gene*. 2016; 586(2):248-253.
- [35] TUERXUN P, NG T, SUN J, et al. Lipoxin A4 modulates the PKA/CREB and NF- κ B signaling pathway to mitigate chondrocyte catabolism and apoptosis in temporomandibular joint osteoarthritis. *Exp Cell Res*. 2024;442(2):114249.
- [36] CHEUNG C, TU S, FENG Y, et al. Mitochondrial quality control dysfunction in osteoarthritis: Mechanisms, therapeutic strategies & future prospects. *Arch Gerontol Geriatr*. 2024;125:105522.
- [37] LI Q, GAO Z, CHEN Y, et al. The role of mitochondria in osteogenic, adipogenic and chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Protein Cell*. 2017;8(6):439-445.
- [38] ZHENG CX, SUI BD, QIU XY, et al. Mitochondrial Regulation of Stem Cells in Bone Homeostasis. *Trends Mol Med*. 2020;26(1):89-104.
- [39] CHEN Q, WU L, DAWA C, et al. [Research progress on the role of chondrocyte mitochondrial homeostasis imbalance in the pathogenesis of osteoarthritis]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2023; 37(6):748-757.
- [40] CAO H, ZHOU X, BOWEN XU, et al. Advances in the study of mitophagy in osteoarthritis. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2024;25(3):197-211.
- [41] PRIESNITZ C, BECKER T. Pathways to balance mitochondrial translation and protein import. *Genes Dev*. 2018;32(19-20):1285-1296.
- [42] RUIZ-ROMERO C, CALAMIA V, MATEOS J, et al. Mitochondrial dysregulation of osteoarthritic human articular chondrocytes analyzed by proteomics: a decrease in mitochondrial superoxide dismutase points to a redox imbalance. *Mol Cell Proteomics*. 2009;8(1):172-189.
- [43] BLANCO FJ, LÓPEZ-ARMADA MJ, MANEIRO E. Mitochondrial dysfunction in osteoarthritis. *Mitochondrion*. 2024;4(5-6):715-728.

(责任编辑: GW, ZN, WL, LCH)