论著·基础医学

高寒环境通过诱导骨骼肌萎缩与纤维化协同加重骨关节炎病理进程

藤培煜,李 松,龙尘宇,黄俊兰,杨 鹏,苏 楠,罗小庆,杨 京,张若彬,谢杨丽,陈 林 陆军军医大学大坪医院战伤组织修复与康复医学研究室,重庆

[**摘要**] **目的** 探讨高寒环境对骨骼肌功能及骨关节炎病理进程的影响,旨在揭示寒冷条件下骨骼肌萎缩、纤维化与关节退变之间的相互作用机制,为高寒地区官兵运动系统健康防护提供理论依据。**方法** 40只11周龄C57BL/6雄性小鼠按内侧半月板失稳术(destabilization of the medial meniscus,DMM)术后8、12周2个时间点分层,每个时间点下使用随机数字表法设4组(n=5):22 ℃假手术(22 ℃ Sham)组、4 ℃假手术(4 ℃ Sham)组、22 ℃ DMM组和4 ℃ DMM组。DMM术后2周,4 ℃ Sham与4 ℃ DMM组每日置于湿度(50±5)%、4 ℃低温舱暴露12 h,持续至相应终点;22 ℃ Sham与22 ℃ DMM组常规常温环境饲养。在干预8、12周时进行以下评估:①行为学测试:采用CatWalk系统量化步态参数,双足平衡测试评估肢体承重能力,旷场实验记录自发活动距离与时间,并在体测定股四头肌单收缩力(twitch)、强直收缩力(tetanus)及力-频率曲线(force-frequency curve)。②组织病理学分析:取股四头肌与膝关节组织,经石蜡包埋、切片后行HE染色和番红O-固绿染色,评估滑膜炎症细胞浸润、软骨表面完整性及国际骨关节炎研究学会(osteoarthritis research society international, OARSI)评分,同时通过Masson三色染色观察肌纤维胶原沉积。③分子检测:采用免疫荧光技术以Dystrophin抗体标记肌纤维边界并计算横截面积,免疫组化法检测滑膜组织中IL-1β、TNF-α的阳性表达水平。**结果** ①小鼠行为学表现异常。与22 ℃ DMM组相比,4 ℃ DMM组在8、12周2个时间点均呈现显著加重的功能障碍:a. 步态协调性丧失,8周时右后肢相对站立相时间降低0.113(P<0.001)、足迹面积降低0.102(P<0.05)、摆动相时间增加0.115(P<0.05)、单肢站立时间降低0.146(P<0.01);至12周上述异常持续存在,足迹面积差异扩大至0.154(P<0.05),摆动相时间仍维持0.113的升高幅度(P<0.05)。b. 承重能力衰退,8周时右足承重占比降低2.777%(P<0.001),12周时降低程度进一步扩大至5.156%(P<0.000 1)。c. 自发活动抑制,8周时总活动距离减少1 069 cm(P<0.000 1),12周时仍减少429.3 cm(P<0.05)。②关节组织病理损伤加剧。寒冷暴露协同DMM手术显著加重滑膜炎症与软骨破坏:a. 滑膜病变,4 ℃ DMM组相较22 ℃ DMM组在8周时滑膜病理评分增加2.133分(P<0.01),12周时增至2.833分(P<0.001),提示炎症反应持续升级。b. 软骨退变,4 ℃ DMM组相较22 ℃ DMM组在8周时OARSI最大评分升高1.000分(P<0.05)、总评分升高2.000分(P<0.01);12周时最大评分仍有0.750分的升高趋势,总评分维持2.000分的差异趋势。c. 促炎因子表达上调,4 ℃ DMM组相较22 ℃ DMM组,滑膜IL-1β相对表达面积在8周和12周分别增加1.047%(P<0.05)和1.892%(P<0.05);TNF-α表达面积较同期分别增加3.850%(P<0.000 1)和3.806%(P<0.0001)。③骨骼肌结构与收缩功能复合性损伤。寒冷干预导致股四头肌出现肌肉萎缩、力学性能衰退及纤维化重塑三重病理改变:a. 肌力储备耗竭,Twitch在8周和12周分别降低34.77 mN·m/kg(P<0.01)和52.87 mN·m/kg(P<0.05);Tetanus同期分别降低115.0 mN·m/kg(P<0.05)和138.3 mN·m/kg(P<0.000 1),Force-frequency curve下移。b. 肌萎缩,股四头肌质量比在8周和12周

[**基金项目**] 国家自然科学基金重大项目(82394444);重庆市科卫联合项目(2024DBXM008);后勤科研重点项目(BLJ22J014)

[**通信作者**] 陈 林,E-mail:linchen70@163.com
谢杨丽,E-mail:xieyangli841015@163.com

2097-0927/Copyright © 2026, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

引用格式:藤培煜,李松,龙尘宇,等. 高寒环境通过诱导骨骼肌萎缩与纤维化协同加重骨关节炎病理进程[J]. 陆军军医大学学报,2026,48(01):42-53. DOI:10.16016/j.2097-0927.202511078.

Citation:TENG P Y,LI S,LONG C Y,*et al*. Cold exposure exacerbates osteoarthritis *via* synergistic muscle atrophy and fibrosis[J]. J Army Med Univ,2026,48(01):42-53. DOI:10.16016/j.2097-0927.202511078.

分别降低0.076%(P<0.05)和0.102%(P<0.000 1);肌纤维横截面积(cross-sectional area,CSA)同期分别减少261.3 μm²(P<0.05)和233.5 μm²(P<0.01),小直径肌纤维比例增高。c.纤维化沉积,肌组织胶原纤维相对面积在8周和12周分别增加4.072%(P<0.01)和2.238%(P<0.05),提示细胞外基质异常重构。**结论** 高寒环境不仅可直接加剧骨关节炎的滑膜炎症与软骨退变,还能通过诱导股四头肌萎缩、肌力下降及纤维化等,进一步加剧关节结构与功能的恶化。

[**关键词**] 军事医学;高寒环境;骨关节炎;骨骼肌;肌肉萎缩;滑膜炎症

[**中图法分类号**] R322.74;R339.55;R684.3 [**文献标志码**] A

Cold exposure exacerbates osteoarthritis *via* synergistic muscle atrophy and fibrosis

TENG Peiyu, LI Song, LONG Chenyu, HUANG Junlan, YANG Peng, SU Nan, LUO Xiaoqing, YANG Jing, ZHANG Ruobin, XIE Yangli, CHEN Lin Department of War Wound Tissue Repair and Rehabilitation Medicine, Daping Hospital, Army Medical University, Chongqing, China

[**Abstract**] Objective To investigate the impact of a high-altitude and cold environment on skeletal muscle function and the pathological processes of osteoarthritis (OA), to elucidate the interaction mechanisms between skeletal muscle atrophy, fibrosis, and joint degeneration under cold condition, aiming to found a theoretical basis for the health protection of the musculoskeletal system in military personnel stationed in high-altitude cold regions. Methods Destabilization of the medial meniscus (DMM) was established on C57BL/6 mice (11 weeks old) by cutting the attaching point at the anterior intercondylar region where anterior cruciate ligament blends with the medial meniscus. Forty male C57BL/6 mice (11 weeks old) were stratified by 2 postoperative time points (8 and 12 weeks). At each time point, the mice were divided randomly divided into 4 groups (n=5):22 ℃ sham operation (22 ℃ Sham),4 ℃ sham operation (4 ℃ Sham),22 ℃ DMM,and 4 ℃ DMM. From 2 weeks after DMM modelling, the 4 ℃ Sham and 4 ℃ DMM groups were placed in a cold chamber [4 ℃, humidity (50±5)%] for 12 h per day until the respective endpoint, meanwhile, the 22 ℃ Sham and 22 ℃ DMM groups were kept at room temperature. At 8 and 12 weeks after intervention, the following assessments were carried out: ① Behavioral tests: Gait parameters were quantified using the CatWalk system; Limb load-bearing capacity was evaluated with bipedal balance test; Spontaneous activity distance and time were recorded in the open field test; Twitch force and tetanic force in the quadriceps were measured, and the force-frequency curve was plotted. ② Histopathological analysis: Quadriceps and knee joint tissues were harvested, embedded in paraffin, sectioned and stained with HE and safranin O-fast green to assess synovial inflammatory cell infiltration, cartilage surface integrity, and OARSI score from Osteoarthritis Research Society International System. Additionally, Masson's trichrome staining was applied to observe collagen deposition in muscle fibers. ③ Molecular detection: Immunofluorescence assay for dystrophin antibody was used to label muscle fiber boundaries and calculate cross-sectional area; Immunohistochemistry assay was employed to determine the expression levels of IL-1β and TNF-α in synovial tissue. Results ① Progressive deterioration of behavioral function: Compared with the 22 ℃ DMM group, the 4 ℃ DMM group exhibited significantly exacerbated functional impairments at both 8 and 12 weeks after intervention, in a time-dependent worsening trend. a. Loss of gait coordination: At 8 weeks, the relative stance phase time of the right hindlimb was shorten by 0.113 (P<0.001), print area was reduced by 0.102 (P<0.05), swing phase time was extended by 0.115 (P<0.05), and single-limb stand time was prolonged by 0.146 (P<0.01). These abnormalities still existed at 12 weeks, with the difference of print area expanding to 0.154 (P<0.05) and that of swing phase time maintaining an elevated magnitude of 0.113 (P<0.05). b. Decline in weight-bearing capacity: Percentage of right paw weight-bearing was decreased by 2.777% at 8 weeks (P<0.001), with the deficit further expanding to 5.156% at 12 weeks (P<0.000 1). c. Suppression of spontaneous activity: Total locomotor distance was decreased by 1 069 cm at 8 weeks (P<0.000 1) and remained reduced by 429.3 cm at 12 weeks (P<0.05). ② Exacerbation of joint histopathological damage: Cold exposure combined with DMM surgery significantly aggravated synovial inflammation and cartilage destruction. a. Synovial pathology: The 4 ℃ DMM group displayed increased synovial pathological score of 2.133 at 8 weeks (P<0.01) and then 2.833 at 12 weeks (P<0.001) relative to the 22 ℃ DMM group, indicating a sustained inflammatory response.

b. Cartilage degeneration:The 4 ℃ DMM group showed the maximum score of OARSI elevated by 1.000 ($P<0.05$) and total score by 2.000 ($P<0.01$) at 8 weeks,while,at 12 weeks,the maximum score remained elevated by 0.750,and the total score maintained a differential trend of 2.000. c. Upregulation of pro-inflammatory factors:The synovial expression area of IL-1β in the 4 ℃ DMM group was increased by 1.047% ($P<0.05$) and 1.892% ($P<0.05$) at 8 and 12 weeks,respectively,and that of TNF-α expression was increased by 3.850% ($P<0.000\ 1$) and 3.806% ($P<0.000\ 1$),separately at the same time points. ③ Composite impairment of skeletal muscle structure and contractile function:Cold intervention induced triple pathological changes in quadriceps encompassing atrophy,mechanical performance decline,and fibrotic remodeling. a. Depletion of muscular force reserve:Twitch force was decreased by 34.77 mN·m/kg ($P<0.01$) and 52.87 mN·m/kg ($P<0.05$) at 8 and 12 weeks,respectively;Tetanus force was reduced by 115.0 mN·m/kg ($P<0.05$) and 138.3 mN·m/kg ($P<0.000\ 1$) at the same time points,with a downward shift of the force-frequency curve. b. Muscle atrophy:The mass ratio of quadriceps was decreased by 0.076% ($P<0.05$) and 0.102% ($P<0.000\ 1$),and the muscle fiber cross-sectional area (CSA) was reduced by 261.3 μm^2 ($P<0.05$) and 233.5 μm^2 ($P<0.01$) at 8 and 12 weeks, respectively, accompanied with an increased proportion of small-diameter fibers. c. Fibrotic deposition: Relative collagen fiber area in muscle tissue was increased by 4.072% ($P<0.01$) and 2.238% ($P<0.05$) at 8 and 12 weeks,respectively,suggesting abnormal extracellular matrix remodeling. **Conclusion** High-altitude cold environment not only directly aggravates synovial inflammation and cartilage degeneration in OA but also further compromises joint structure and function by inducing quadriceps atrophy, reduced muscle strength, and fibrosis.

[**Key words**] military medicine; cold environment; osteoarthritis; skeletal muscle; muscle atrophy; synovial inflammation

Supported by the Major Program of National Natural Science Foundation of China (82394444), the Joint Project of Chongqing Science and Technology Commission and Chongqing Health Commission (2024DBXM008), and the Key Logistics Research Project (BLJ22J014). Corresponding authors: CHEN Lin, E-mail:linchen70@163.com;XIE Yangli,E-mail:xieyangli841015@163.com

我国高寒地区面积广阔,约占国土总面积的43.5%,长期或反复暴露于此类极端环境,对驻守官兵的运动系统健康构成严峻挑战,是导致其军事作业能力非战斗减员的关键因素之一[1-2]。运动系统的正常功能高度依赖于骨骼肌的健康状态[3]。大量研究表明,低温作为一种特殊环境刺激,能够显著影响骨骼肌的功能[4]。具体而言,低温会直接导致肌肉黏度增加、神经传导速度减慢,从而降低肌肉的爆发力、耐力与协调性[5]。更为重要的是,慢性寒冷暴露可激活多种蛋白质降解通路,如泛素-蛋白酶体系统和自噬-溶酶体系统,进而促进肌肉萎缩,进一步削弱机体的运动能力与降低疲劳恢复速度[6]。此外,高寒环境也可促进官兵骨关节炎(osteoarthritis,OA)发生发展,是骨关节炎发生发展的重要因素[7-8]。流行病学调查发现,居住在低温高湿地区的人群中膝关节OA的患病率显著高于温暖地区,且寒冷季节患者报告的疼痛强度和功能受限程度均有明显上升[7]。动物模型表明,持续的冷刺激诱导关节组织中IL-1β、TNF-α等炎性因子水平升高,并伴随瞬时受体电位通道A1(transient receptor potential ankyrin 1,TRPA1)、四氢生物蝶呤(tetrahydrobiopterin,BH4)等疼痛感受相关分子表达上调,进一步加剧疼痛感受和软骨破坏程度[9]。因此,深入探索高寒环境下骨骼肌功能与骨关节炎的关系对维持官兵军事作业能力具有重要意义。

肌肉作为关节最重要的动态稳定结构,其萎缩与功能减退在OA的病程中具有重要作用。课题组前期研究发现,在常温条件下,衰老巨噬细胞在OA关节周围肌肉中大量积聚,并通过诱导骨骼肌发生铁死亡造成肌肉萎缩,进而加速OA发生发展。补充辅酶Q10能够有效抑制铁死亡、改善肌肉功能,并减少OA关节的病理损伤[10]。尽管我们已经初步揭示了常温下"巨噬细胞-铁死亡-肌萎缩-OA"这一调控轴的作用,然而高寒地区OA患者关节功能恶化加重是否与骨骼肌功能异常有关仍有待探索。因此,本研究拟验证高寒环境是否通过加剧股四头肌萎缩与纤维化导致关节功能加速衰退,为高寒地区OA的精准防治提供肌肉保护新策略,并为高寒地区官兵的运动系统健康维护与军事作业能力保障提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

低温模拟舱(优胜达);Masson三色染色试剂盒(Solarbio,货号G1340);Dystrophin一抗(Proteintech,货号12715-1-AP);荧光二抗(Alexa Fluor 488,Invitrogen,

货号A21206);IL-1β一抗(Proteintech,货号16806-1-AP);TNF-α一抗(Proteintech,货号60291-1-Ig);兔二步法检测试剂盒(中杉金桥,货号PV-9001);鼠二步法检测试剂盒(中杉金桥,货号PV-9002);小鼠步态分析系统(CatWalk XT 10.6,Noldus,荷兰);1300A型整体动物肌力测试系统(Aurora Scientific,加拿大);双足平衡测痛仪(BIO-SWB-TOUCH-R,法国);旷场实验箱(50 cm×50 cm×30 cm, Noldus,荷兰);正置荧光显微镜(BX51)及数码成像系统(DP74)。

1.2 实验动物及分组

11周龄SPF级C57BL/6雄性小鼠40只,体质量(23.5±1.2)g,购自四川维通利华实验动物技术有限公司。所有小鼠按随机数字表法分组,按照内侧半月板失稳术(destabilization of the medial meniscus,DMM)后8、12周2个时间点分层,每层设4组(n=5):22 ℃假手术(22 ℃ Sham)组、4 ℃假手术(4 ℃ Sham)组、22 ℃ DMM组和4 ℃ DMM组。DMM术后2周起,4 ℃ Sham与4 ℃ DMM组每日暴露于湿度(50±5)%、4 ℃环境12 h,持续至相应终点,22 ℃ Sham组和22 ℃ DMM组全程饲养于(22±1)℃中。

所有小鼠饲养于陆军特色医学中心SPF级实验动物中心,环境温度(22±1)℃、相对湿度(50±5)%,12 h/12 h光暗循环,自由摄食标准饲料及无菌水,每周更换笼具2次以保持清洁。实验结束后,使用戊巴比妥对小鼠进行麻醉,再采用颈椎脱臼法处死小鼠。操作时,右手固定鼠尾,左手拇指与食指按压头颈部,快速向后上方牵引,使颈椎脱臼、脊髓与脑干离断。实验设计、过程及动物处死方法经陆军军医大学实验动物福利伦理委员会批准(AMUWEC20237408)。

1.3 实验操作

1.3.1 DMM手术 术前1 d适应性观察小鼠活动状态,排除运动障碍个体。手术操作如下:0.8%戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉,待小鼠角膜反射消失后,右后肢膝关节术区剃毛,碘伏消毒3次。沿膝关节正中做0.5 cm纵切口,分离皮下组织及股四头肌筋膜,用镊子将髌骨向外侧脱位,显露前交叉韧带(anterior cruciate ligament,ACL)及内侧半月板前角;以显微剪刀锐性切断内侧半月板胫骨附着点,确认半月板失稳后,生理盐水冲洗切口。7-0缝合线缝合筋膜,5-0缝合皮肤,单笼饲养3 d,每日观察切口愈合情况及小鼠自主活动能力,术后1周恢复群养。Sham组仅暴露膝关节后直接缝合,其余操作同DMM组。

1.3.2 寒冷刺激 DMM术后2周开始实验:4 ℃ Sham组及4 ℃ DMM组小鼠置于湿度(50±5)%、4 ℃低温模拟舱,每日持续暴露12 h(21:00~9:00);22 ℃ Sham组及22 ℃ DMM组置于室温(22±1)℃环境,其余饲养条件一致。实验期间每周监测小鼠体质量变化及活动状态,实验周期共12周,分别于实验8、12周进行指标检测及取材处理。

1.4 小鼠行为学检测

所有检测在安静、避光环境下进行,检测前让小鼠适应环境30 min,每只小鼠单次检测时间不超过30 min。

1.4.1 步态检测(CatWalk XT) 小鼠在通道内自由通过,连续采集无停顿、无折返且四肢均完整接触通道的有效步态数据3次,用于后续分析。通过系统软件量化以下步态参数(检测时间点:刺激后第8、12周),站立相时间百分比(duty cycle):步态周期中患侧后肢与通道接触的时间占比(%),反映肢体承重能力。足迹面积(print area):患侧后肢在通道上的投影面积(mm^2),反映着地接触范围。摆动相时间(swing):患侧后肢从抬离通道至再次接触的时间(ms),反映运动灵活性。单肢站立时间(single stance):仅患侧后肢单独支撑身体的时间(ms),反映独立支撑稳定性。

1.4.2 双足平衡测试 检测前启动双足平衡测痛仪,进行压力零点校准,确保测试平台压力传感误差<0.5%,将小鼠双足置于测试平台中央高精度传感器上,待小鼠保持双足站立姿势时采集双足压力,得到患侧承重能力(右足/左足),每只小鼠测量3次,取承重能力平均值,检测时间同步态分析。

1.4.3 旷场实验 旷场箱通过2×2透明亚克力隔板(高30 cm)划分为4个25 cm×25 cm独立方格,每个方格中心5 cm×5 cm区域定义为“中央区域”。同时将4只小鼠(每组1~2只,避免同组聚集)分别置于4个方格的角落(背向实验者),适应1 min后,用TM-300系统同步记录5 min内每只小鼠的总运动路程、中央区域停留时间及跨区域尝试次数(触碰隔板次数)。检测后用75%乙醇彻底擦拭每个方格内壁及底部,待乙醇完全挥发(约1 min)后进行下一批测试。

1.4.4 肌力测试 研究采用非侵入性、可重复的小鼠股四头肌肌力测试方法,以评估其在体最大等长强直扭矩(peak isometric tetanic torque)。实验使用商用肌肉功能测试系统(Aurora Scientific,809C型双模杠杆系统与305C-FP电机),配合定制塑料支架固定小鼠下肢,确保膝关节屈曲角度为90°,以标准化测试姿势。

小鼠经0.8%戊巴比妥麻醉后,取仰卧位固定于恒温平台(37 ℃),通过皮下针电极刺激股四头肌运动点,采用瞬时刺激(instant stimulation)功能优化电极位置,确保仅激活伸膝肌群,避免拮抗肌参与。随后进行渐进电流刺激实验,从10 mA起始,逐级递增至扭矩平台或下降,确定最低有效刺激电流后,开始进行

单收缩(twitch)、强直(tetanus)及力-频率曲线(force-frequency curve)测量。Twitch实验采用1 Hz刺激,间隔30 s,刺激3次。Tetanus实验采用150 Hz刺激,间隔1 min,刺激3次。Force-frequency curve实验频率设置为25~200 Hz,500 ms刺激,间隔1 min。所有扭矩数据经基线校正后,统一以体质量标准化(mN·m/kg),用于不同个体间的功能比较。

1.5 组织学检测

术后8、12周将小鼠麻醉后行心脏灌注,剥离右后肢股四头肌及膝关节组织。

1.5.1 样本制备 取小鼠膝关节,经4%多聚甲醛固定24 h后,置于15%EDTA脱钙液(pH=7.4)中脱钙14~21 d,其间每3天更换脱钙液1次。脱钙完成后,组织经PBS漂洗过夜,随后进行脱水、透明及浸蜡处理:依次经50%、75%、85%、95%乙醇各30 min,100%乙醇2次(每次30 min),二甲苯透明20 min,随后于65 ℃石蜡中浸蜡30 min及4 h。最后进行石蜡包埋,沿矢状面连续切片,切片厚度为5 μm,用于后续染色。另取部分组织于30%蔗糖溶液中脱水24 h,OCT包埋后制备矢状面连续冰冻切片,切片厚度为10 μm。

1.5.2 HE染色与滑膜炎评估 石蜡切片经二甲苯Ⅰ、Ⅱ各处理30 min脱蜡,随后依次经100%乙醇(2次)、95%乙醇、70%乙醇各5 min复水。苏木精染色1~3 min,流水冲洗返蓝5 min,伊红复染15 s至3 min。染色后切片采用中性树胶封片。使用正置光学显微镜及图像采集系统观察并拍摄关节软骨及滑膜组织。重点观察软骨层次结构与软骨细胞排列形态。采用滑膜炎评分标准(滑膜增生0~3分、滑膜基质细胞数0~3分、炎细胞浸润0~3分)评估滑膜炎症程度,每只小鼠切片随机选取5个高倍视野(×400)评分。

1.5.3 番红O-固绿染色 脱蜡复水后,0.1%番红O染液染色3~5 min,清水快速洗去浮色,0.5%固绿染液染色3~30 s,1%冰醋酸分化1~5 s,95%乙醇分色,蒸馏水冲洗后中性树胶封片。用正置显微镜及数码成像系统观察并拍照:关节软骨退变情况(根据磨损深度及波及范围,评价0~6分不等),每只小鼠取3个高倍视野计算国际骨关节炎研究学会(osteoarthritis research society international, OARSI)评分(最高分及总分)。

1.5.4 Masson染色 脱蜡复水后,Weigert铁苏木素染液染色5~10 min,酸性分化液5~15 s,Masson液返蓝3~5 min,丽春红品红染色液染色5~10 min,磷钼酸溶液处理1~2 min,苯胺蓝染色液染色1~2 min,1%冰醋酸洗去浮色,中性树胶封片。观察关节腔胶原纤维分布(蓝色区域为胶原纤维),Image J软件计算胶原纤维面积占比,每只小鼠取5个高倍视野统计。

1.6 分子水平检测

1.6.1 免疫荧光染色(dystrophin) 冰冻切片复水,免疫染色通透液37 ℃通透15 min,免疫染色封闭液37 ℃封闭1 h,滴加Dystrophin一抗(1∶100),4 ℃孵育过夜;次日复温30 min,滴加荧光二抗(1∶500)室温避光孵育1 h, DAPI染核5 min,抗荧光淬灭剂封片。荧光显微镜观察,Image J软件定量股四头肌肌纤维横截面积(每只小鼠取3个高倍视野,计算平均横截面积)。

1.6.2 免疫组化染色 石蜡切片脱蜡复水,3%H_2O_2室温孵育10 min。封闭内源性过氧化物酶,山羊血清室温封闭30 min,滴加IL-1β、TNF-α一抗(1∶200),4 ℃孵育过夜;复温后滴加二抗(1∶200)室温孵育30 min,DAB显色5 min(镜下控制显色强度,避免过染),中性树胶封片。每张切片随机选5个高倍视野,计算滑膜中IL-1β、TNF-α阳性面积占比(阳性面积占比=阳性面积/总面积×100%)。

1.7 统计学分析

实验所得符合正态分布的计量资料(如肌力数值、病理评分、面积百分比等)均以$\bar{x}\pm s$表示。采用GraphPad Prism 9.0.0软件进行统计处理。由于涉及2个独立变量(温度与手术因素)的多组间比较,行为学评分、病理组织学评分及免疫组化阳性面积百分比等计量资料,经正态性检验符合正态分布后,采用两因素方差分析(Two-way ANOVA),并进一步采用LSD-t检验进行多重比较;$P<0.05$为差异具有统计学意义。

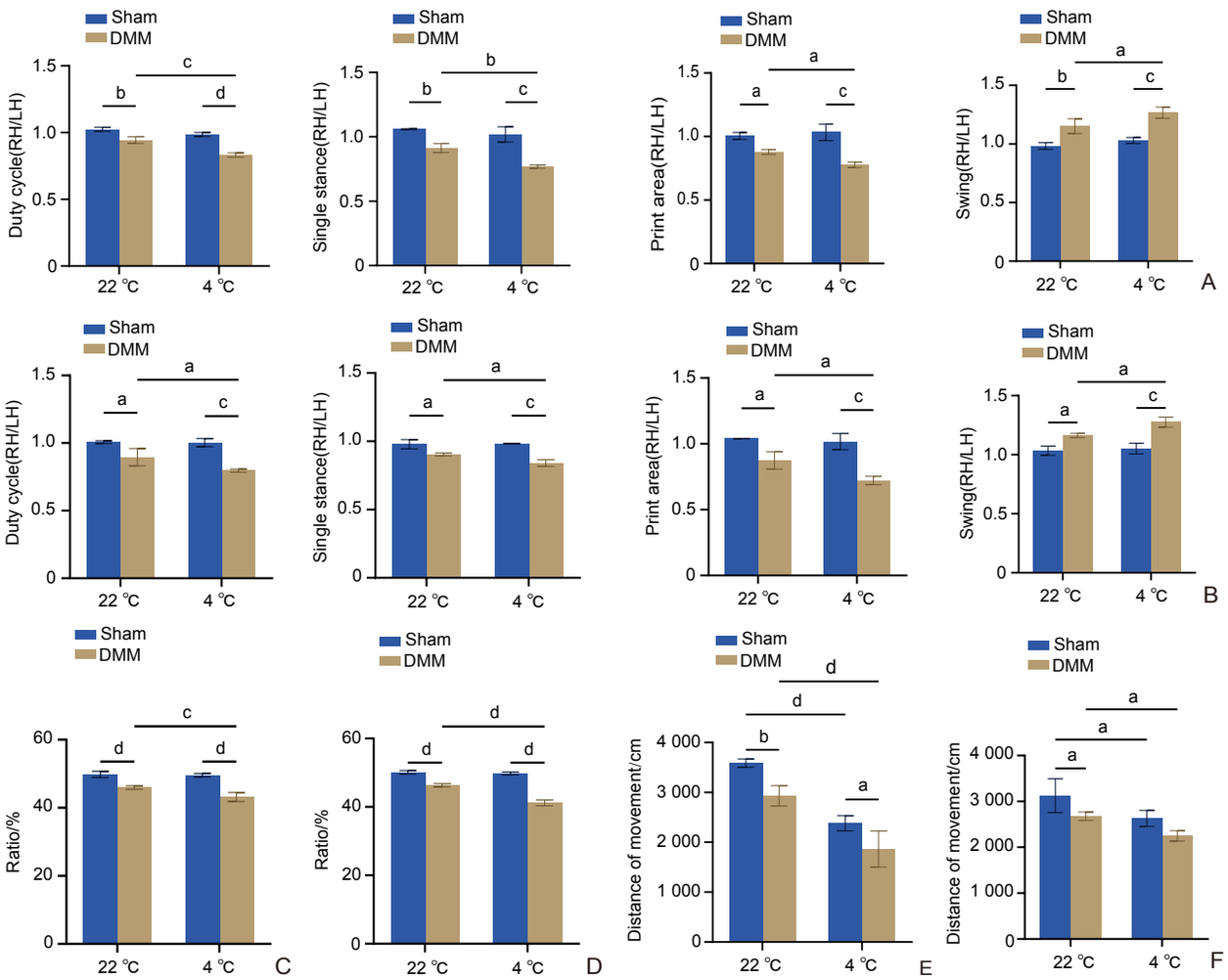
2 结果

2.1 高寒环境加重骨关节炎小鼠步态异常及疼痛反应

CatWalk系统评估表明:寒冷刺激8周后,与22 ℃组相比,4 ℃ Sham组未出现明显差异,而4 ℃ DMM组步态出现显著改变,其中站立相时间百分比($P<0.001$)、单肢站立时间($P<0.01$)和足迹面积($P<0.05$)均显著降低,而摆动相时间明显延长($P<0.05$),表明寒冷刺激进一步损害了DMM小鼠的步态稳定性和运动协调性(图1A)。至寒冷刺激12周时,4 ℃ DMM组表现出更为显著的步态异常(图1B)。

双足平衡测试仪评估造模侧(右后肢)重力分布情况结果表明:寒冷刺激8周后,4 ℃与22 ℃相比,在Sham组未出现明显差异,而DMM组小鼠右肢承重能力显著下降($P<0.001$,图1C);至12周时,4 ℃ DMM组承重能力进一步减退,与22 ℃ DMM组相比差异明显增加($P<0.000\,1$,图1D)。

旷场实验结果显示:在8周寒冷刺激后,与22 ℃组相比,4 ℃ Sham、4 ℃ DMM组小鼠活动能力出现下



A,B: Results of CatWalk gait analysis at 8 (A) and 12 weeks (B); C,D: Results of bilateral balance pain test at 8 (C) and 12 weeks (D); E,F: Results of open field test at 8 (E) and 12 weeks (F). a:P<0.05,b:P<0.01,c:P<0.001,d:P<0.000 1

图1 高寒环境加重骨关节炎小鼠步态异常及疼痛反应(n=5,$\bar{x}\pm s$)

Figure 1 High-altitude cold environment exacerbates gait abnormalities and pain responses in osteoarthritis mice(n=5,$\bar{x}\pm s$)

降,但DMM组小鼠下降程度更显著(图1E);至12周时,4 ℃ DMM组活动能力仍呈下降趋势(图1F)。

综上所述,高寒环境可显著加剧骨关节炎小鼠的行为学异常,从而促进其相关症状的发生发展。

2.2 高寒环境加重小鼠骨性关节炎滑膜炎症和软骨退变

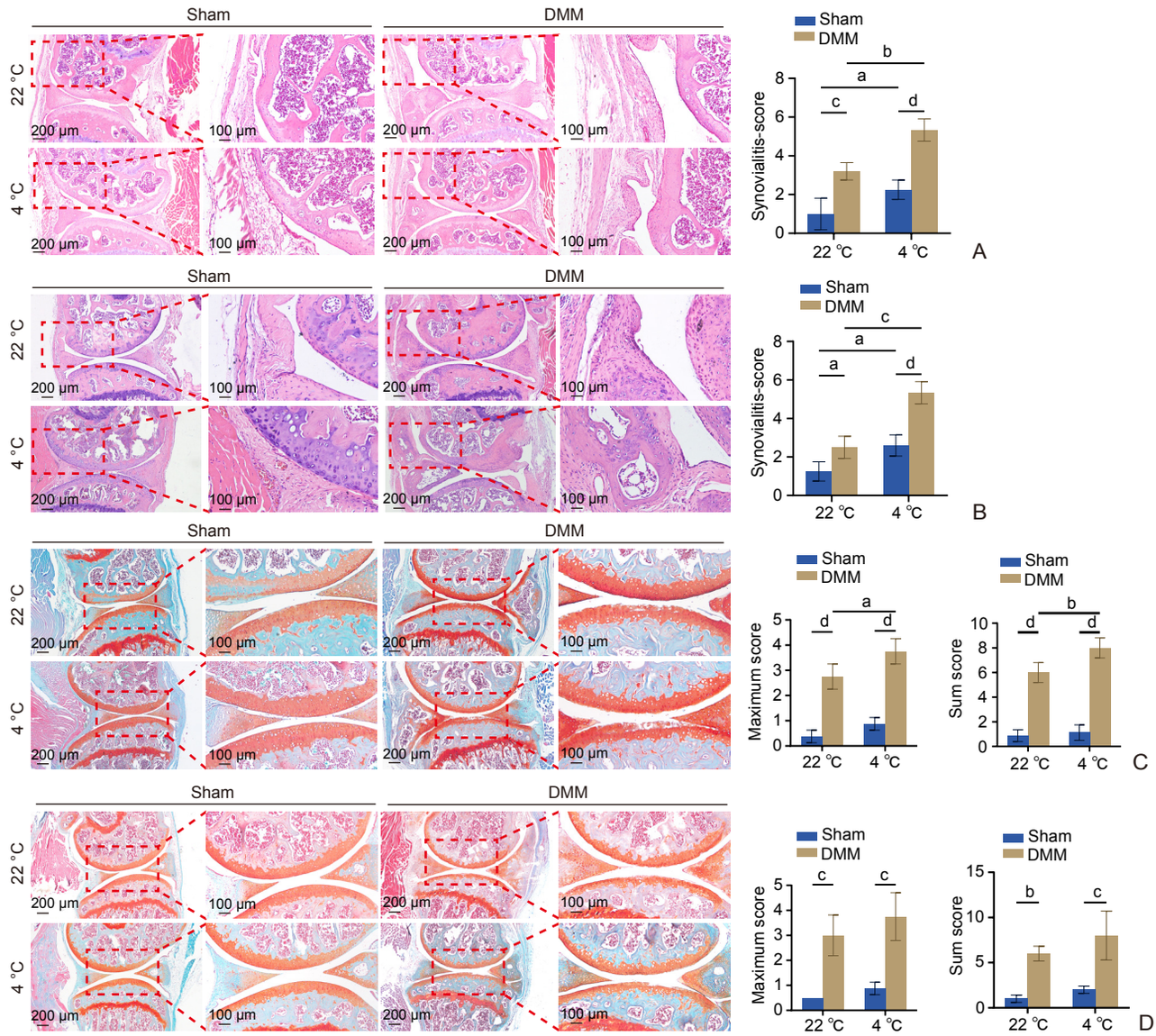
小鼠滑膜组织HE染色显示:寒冷刺激8周时,与22 ℃相比,4 ℃ Sham组滑膜评分显著提升(P<0.05),但4 ℃ DMM组小鼠滑膜衬里层增厚更显著,滑膜间质细胞密度显著升高,且衬里下层炎症细胞浸润明显增多,滑膜炎评分增加(P<0.01,图2A);寒冷刺激12周时,4 ℃ DMM组滑膜炎评分仍然高于22 ℃ DMM组,增厚状态持续存在(P<0.001,图2B),表明高寒环境持续加重OA的滑膜炎症。

小鼠软骨番红固绿染色显示:寒冷刺激8周时,4 ℃ DMM组小鼠软骨潮线断裂更明显,软骨缺损面积更大,且OARSI评分显著高于22 ℃ DMM组(P<0.05,图2C);寒冷刺激12周时,2组小鼠软骨缺损均持续进展,但4 ℃ DMM组与22 ℃ DMM组的OARSI评分及软骨缺损程度差异无统计学意义(图2D),提示高寒环境可在早期促进骨关节炎软骨退变,但随着骨关节炎进展加剧,其软骨在晚期退变程度与常温环境无明显差异。

综上所述,高寒环境可显著加重小鼠骨性关节炎滑膜炎症及软骨退变,但随着时间延长,对软骨退变影响减弱。

2.3 高寒环境通过促进炎症因子的表达加重小鼠的滑膜炎症

滑膜炎症相关因子的高表达是骨关节炎持续进展的重要因素[11]。因此我们检测了滑膜炎症核心促炎因子IL-1β、TNF-α的表达情况。结果显示:寒冷刺



A, B: HE staining showing the sagittal tissue of the knee joint at 8 (A) and 12 weeks (B), with corresponding synovial pathological scores on the right; C, D: Safranin O/Fast Green staining at 8 (C) and 12 weeks(D). a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, c: $P<0.001$, d: $P<0.0001$

图2 高寒环境加重小鼠骨性关节炎滑膜炎症和软骨退变($n=5, \bar{x}\pm s$)

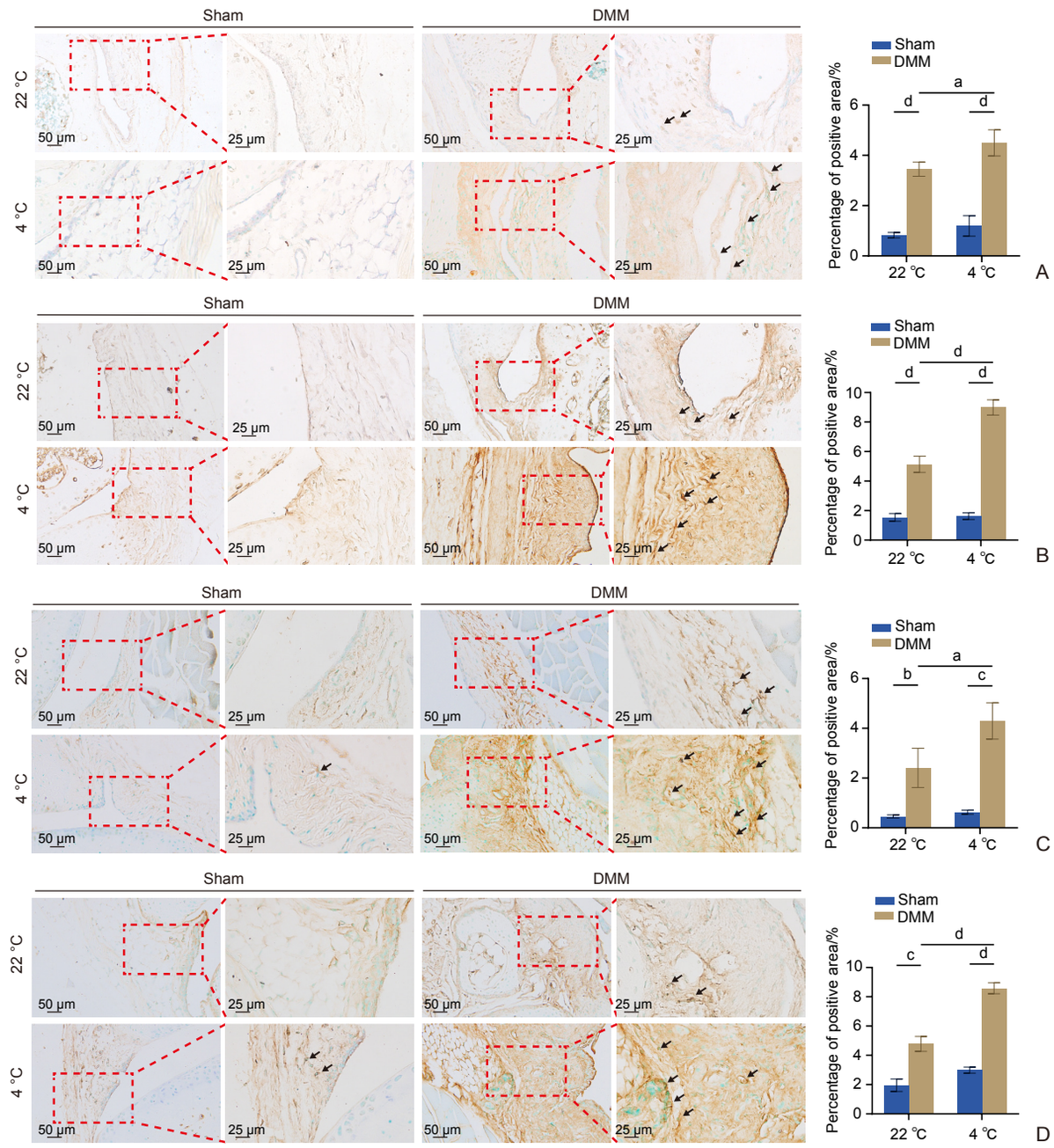
Figure 2 High-altitude cold environment exacerbates synovial inflammation and cartilage degeneration in murine osteoarthritis ($n=5, \bar{x}\pm s$)

激8周时,与同期22 ℃ Sham组相比,4 ℃ Sham组IL-1β及TNF-α表达均无显著变化;与22 ℃ DMM组相比,4 ℃ DMM组滑膜中IL-1β、TNF-α的表达水平进一步显著升高(IL-1β: $P<0.05$, TNF-α: $P<0.0001$, 图3A、B)。寒冷刺激12周时,高寒环境对Sham组(即4 ℃ Sham *vs* 22 ℃ Sham)滑膜IL-1β、TNF-α表达无显著影响(4 ℃ Sham组与同期22 ℃ Sham组相比均 $P>0.05$);而4 ℃ DMM组与22 ℃ DMM组滑膜炎症因子仍持续高表达,且4 ℃ DMM组IL-1β、TNF-α表达水平仍显著高于同期22 ℃ DMM组(IL-1β: $P<0.05$, TNF-α: $P<0.0001$, 图3C、D)。

上述结果提示:在OA(DMM模型)背景下,高寒环境可通过上调滑膜组织IL-1β、TNF-α的表达加剧滑膜炎症,促进OA的发生发展。

2.4 高寒环境加重骨关节炎小鼠股四头肌质量和肌力下降

股四头肌的萎缩程度与骨关节炎的发生发展密切相关[12-13]。研究表明,股四头肌发生萎缩后可加重骨关节炎的滑膜炎症及软骨破坏程度[10]。为探究高寒环境对骨关节炎的影响机制,我们使用Aurora Scientific



A, B: Representative image of immunohistochemistry assay of IL-1β (A) and TNF-α (B) at 8 weeks, with corresponding quantification of positive area percentage on the right; C, D: Representative image of immunohistochemistry assay of IL-1β (C) and TNF-α (D) at 12 weeks, with corresponding quantification of positive area percentage presented on the right. a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, c: $P<0.001$, d: $P<0.0001$; Blue arraws: the positive cells

图3 高寒环境上调骨关节炎小鼠滑膜促炎因子表达($n=5, \bar{x}\pm s$)

Figure 3 High-altitude cold environment up-regulates the expression of pro-inflammatory factors in the synovium of osteoarthritis mice ($n=5, \bar{x}\pm s$)

公司1300A型整体动物肌力测试系统,对小鼠股四头肌进行活体肌力测定。结果显示:寒冷刺激8周时,与22 ℃ DMM组相比,4 ℃ DMM组小鼠股四头肌的单收缩力($P<0.01$)、强直收缩力($P<0.05$)均显著降低,且肌力-频率曲线整体下移,提示肌力储备下降(图4A);寒冷刺激12周时,上述肌力指标的组间差异进一步扩大,4 ℃ DMM组的肌力下降更为明显(图4B),提示寒冷加速骨关节炎股四头肌萎缩。为了量化小鼠股四头肌萎缩程度,采用电子秤测定小鼠体质量及股四头肌湿质量,计算股四头肌质量比(股四头肌湿质量/小鼠体质量)。结果显示:寒冷刺激8周时,4 ℃ DMM组小鼠股四头肌质量比显著低于22 ℃ DMM组($P<0.05$,

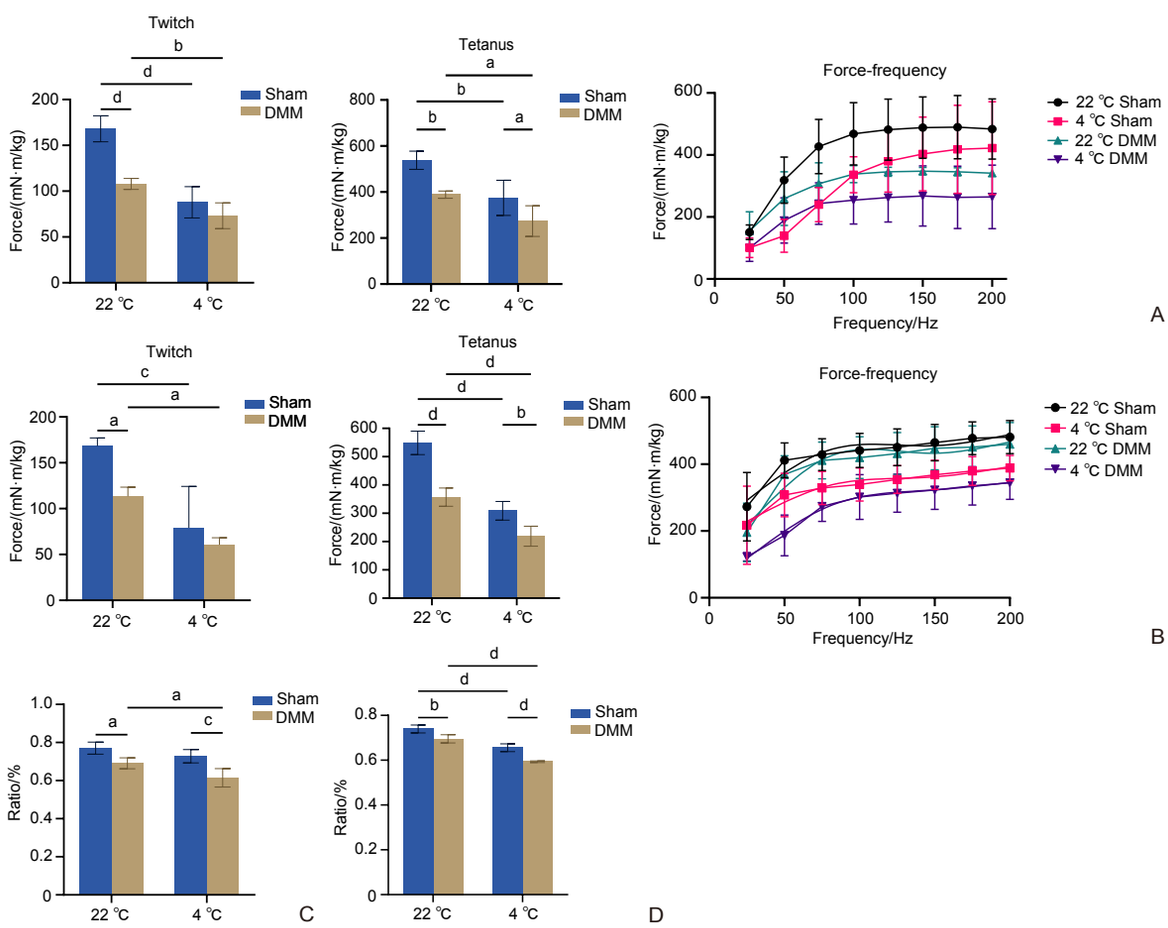
图4C);随着寒冷刺激延长至12周,2组间该指标的差异进一步加剧,4 ℃ DMM组的股四头肌质量进一步降低(P<0.000 1,图4D)。

综上所述,高寒环境可加速骨关节炎小鼠股四头肌肌力下降,主要表现为单收缩力、强直收缩力降低及肌力-频率曲线下移,并加剧股四头肌质量流失,且上述影响随寒冷刺激延长而增强。

2.5 高寒环境通过减少肌纤维横截面积与加剧纤维化,促进骨关节炎小鼠的股四头肌萎缩

为了更为准确评估小鼠股四头肌肌肉萎缩情况,我们以肌膜特异性标志物Dystrophin为靶点进行免疫荧光染色,观察股四头肌肌纤维横截面积变化。结果显示:寒冷刺激8周时,22 ℃ DMM组、4 ℃ DMM组及4 ℃ Sham组小鼠股四头肌均出现肌纤维间隙增宽、肌纤维平均CSA降低,这与前期文献报道一致[10]。其中,与22 ℃ DMM组相比,4 ℃ DMM组肌纤维平均CSA下降更显著(P<0.05),且肌纤维尺寸分布曲线明显左移,提示小直径肌纤维比例升高,肌萎缩更严重(图5A、C)。寒冷刺激12周时,4 ℃ DMM组肌纤维平均CSA进一步降低(P<0.01,图5B、D),肌纤维尺寸分布曲线持续左移,肌萎缩程度进一步加剧。既往研究表明,肌肉纤维化是造成肌肉肌力下降的重要原因[14],因此我们采用Masson三色染色评估股四头肌纤维化程度,结果显示:寒冷刺激8周时,4 ℃ DMM组股四头肌肌间隙内胶原纤维沉积量显著高于22 ℃ DMM组(P<0.01,图5E、F);寒冷刺激12周时,22 ℃ DMM组胶原纤维沉积量增加(纤维化加重),而4 ℃ DMM组纤维化程度未进一步加重,但仍显著高于同期22 ℃ DMM组(P<0.05,图5G、H)。

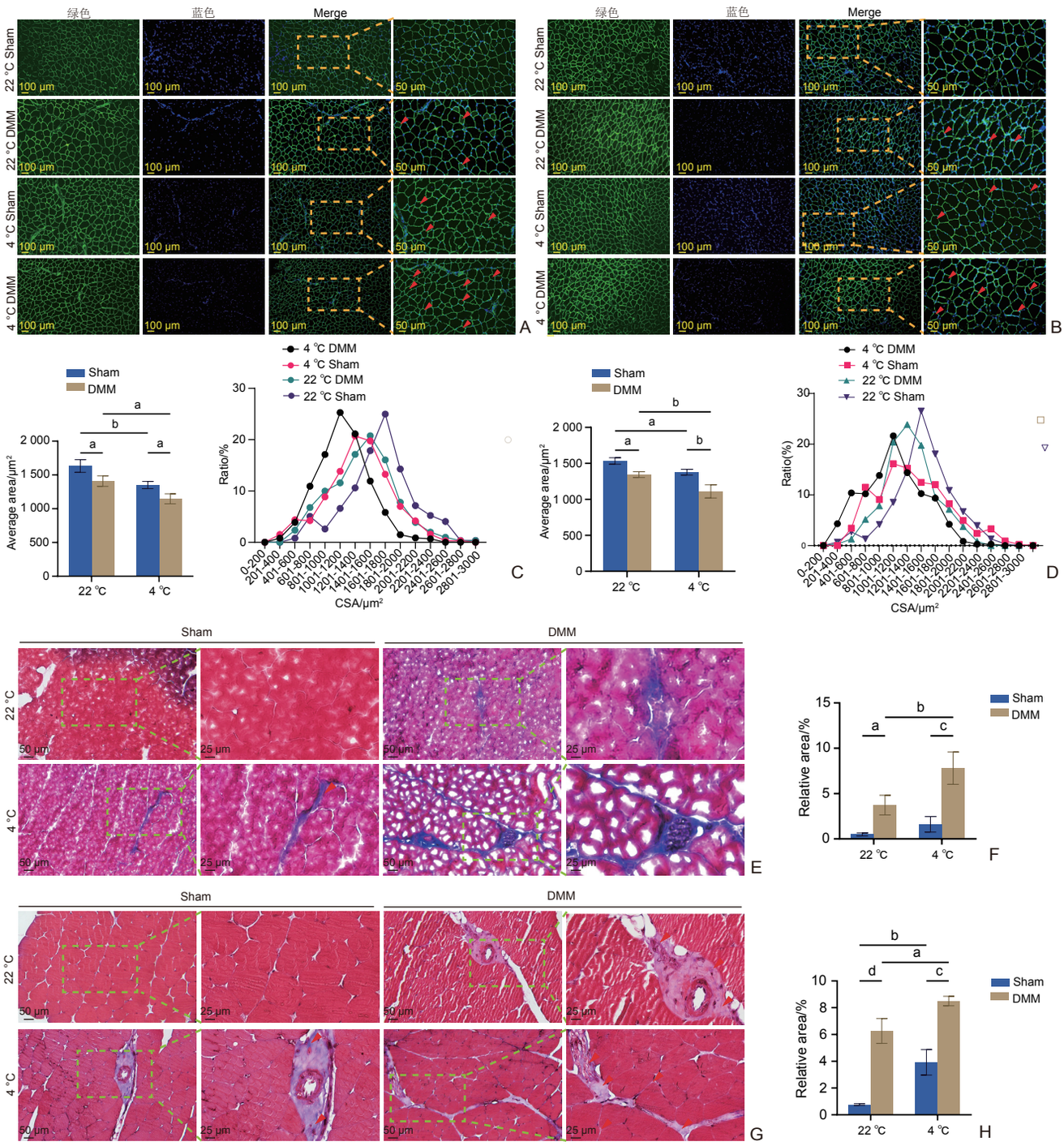
综上,高寒环境可促进骨关节炎小鼠股四头肌肌纤维萎缩(表现为平均CSA降低、小直径肌纤维比例升高)及胶原纤维沉积,这可能是导致高寒环境下促进骨关节炎发生发展的机制。



A,B:Twitch contraction,tetanus contraction,and force-frequency curve of quadriceps at 8(A) and 12 weeks (B);C,D:Muscle mass/body mass ratio of quadriceps at 8(C) and 12 weeks(D). a:P<0.05,b:P<0.01,c:P<0.001,d:P<0.000 1

图4 高寒环境加重骨关节炎小鼠股四头肌质量和肌力下降(n=5,$\bar{x}\pm s$)

Figure4 High-altitude cold environment exacerbates the declines in quadriceps muscle mass and strength in osteoarthritis mice (n=5,$\bar{x}\pm s$)



A, B: Anti-dystrophin immunofluorescence (green) images showing the outline of muscle fibers at 8 (A) and 12 weeks (B); C, D: Histogram of average cross-sectional area (CSA) of muscle fibers and distribution (≥300 fibers per sample) at 8 (C) and 12 weeks (D); E, G: Masson's trichrome collagen staining at 8 (E) and 12 weeks (G); F, H: Histogram of collagen positive area percentage corresponding to panels E (F) and G (H), respectively. a: P<0.05, b: P<0.01, c: P<0.001, d: P<0.000 1; red arrows: the shrunken muscle fibers

图5 高寒环境加重骨关节炎小鼠股四头肌纤维萎缩与纤维化(n=5, $\bar{x}\pm s$)

Figure 5 High-altitude cold environment exacerbates muscle fiber atrophy and fibrosis in the quadriceps of osteoarthritis mice (n=5, $\bar{x}\pm s$)

3 讨论

本研究的核心贡献在于阐明了肌肉状态是连接高寒环境与OA加速进展的关键中介。前期研究已证实衰老巨噬细胞通过铁死亡诱导肌肉萎缩并促进OA[10],而本研究通过构建小鼠DMM诱导的骨关节炎模型,并结合高寒环境干预,系统探讨了高寒环境下骨骼肌功能对OA进展的影响。结果表明,寒冷刺激不仅直接加剧了OA小鼠的滑膜炎症与软骨退变,更重要的是,其通过促进股四头肌质量流失、肌力下降以及肌纤维萎缩与纤维化,间接放大了关节的病理损伤。

3.1 肌肉萎缩是OA进展的主动驱动因素

肌肉作为关节重要的动态稳定结构,其萎缩与功能减退可直接导致改变关节负荷分布并降低稳定性[15-16]。课题组前期研究证实,在常温条件下,衰老巨噬细胞可在OA关节周围肌肉中积聚,并通过扰乱铁稳态诱发骨骼肌铁死亡,促进肌肉萎缩,从而加速OA进程;补充辅酶Q10可抑制铁死亡、改善肌肉功能并减轻关节病理损伤[10]。本研究进一步将该机制延伸至高寒环境中,证实寒冷暴露显著加剧DMM模型肌肉质量减轻、肌力下降及胶原沉积增加,同时伴随关节炎症反应加重和软骨结构破坏的进程加快与程度加深。

上述结果提示,肌肉萎缩并非OA发生后的被动结局,而是其病理进展的主动驱动因素。萎缩导致肌肉丧失其作为"动态稳定器"的关键生物力学功能。股四头肌等膝关节周围肌群功能减退,直接造成关节稳定性下降和力学负荷分布异常,使关节软骨在承重过程中承受异常应力,从而加速软骨基质磨损与结构破坏。同时,肌纤维化进一步恶化肌肉功能状态,降低其顺应性与收缩效率,增加疲劳易感性,形成"肌力下降→关节不稳→OA进展→疼痛→活动减少→肌力进一步下降"的恶性循环。

3.2 肌因子参与寒冷诱导OA的生物学调控

除生物力学机制外,肌肉作为重要的内分泌器官,其功能障碍还可能通过肌因子分泌谱系的变化参与OA的发生发展[17-18]。我们推测,寒冷诱导的肌肉萎缩不仅是一种局部组织退变过程,更伴随肌因子分泌的失调。具体而言,一方面,寒冷暴露与肌肉损伤可诱发局部炎症反应及蛋白质降解,促使肌细胞释放更多促炎性肌因子,如特定类型的IL-6及其他炎症相关肽类物质[19-21]。这些因子通过循环系统或局部旁分泌途径进入关节腔,进而增强滑膜组织中关键促炎因子(如IL-1β与TNF-α)的表达,从而加剧滑膜炎症[22-23]。另一方面,肌肉萎缩状态可能抑制保护性肌因子的分泌,例如胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor 1,IGF-1)或鸢尾素(irisin)[24-26]。IGF-1作为肌肉合成代谢和软骨细胞修复的关键调节因子,其分泌减少不仅意味着肌肉自身修复能力下降,也削弱了对软骨代谢与再生的保护性信号。

这种"促炎性肌因子上升-保护性肌因子下降"的双向失衡,形成了对关节软骨和滑膜的持续性生物学影响,其作用超越了单纯的力学机制。此外,寒冷应激还可直接引起局部血管收缩,导致血流减少及组织微环境缺氧[27]。这不仅加剧肌肉的分解代谢,也妨碍炎症介质及异常肌因子的清除,进而在关节周围形成高炎症负荷的恶性微循环,进一步促进骨关节炎的发生与发展。

3.3 研究局限性与未来展望

本研究仍存在以下不足。鉴于肌肉作为内分泌器官在OA发病中的潜在作用日益受到关注,本研究虽已初步揭示寒冷诱导的肌肉萎缩与滑膜炎症的关联,但对肌因子分泌谱系的变化及其在"寒冷-肌肉-OA"轴中的具体机制尚未深入探讨。为进一步建立更直接的生物学联系,后续研究应聚焦于在寒冷干预条件下,系统检测肌肉组织及血清中关键肌因子(如IL-6、Irisin、IGF-1等)的动态表达,并结合多点采样与分子生物学技术,分析这些因子在OA进展中的时序性规律。明确肌因子在肌肉-关节交互中的调控作用,不仅可验证"促炎性肌因子上升-保护性肌因子下降"的双向失衡假说,更有助于识别潜在的生物标志物或干预靶点,深化对OA多因素发病机制的理解。

综上所述,本研究发现高寒环境通过诱导肌肉萎缩与功能下降,进而从生物力学与生物学双重途径加速OA的结构与功能退变,提示在高寒环境下,肌肉状态是影响OA发生发展的重要因素。这一发现不仅深化了对环境-组织互作机制的理解,也为高寒地区驻守官兵运动系统健康的科学干预提供了新的理论依据。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] 陈仁升,康尔泗,吴立宗,等. 中国寒区分布探讨[J]. 冰川冻土,2005,27(4):469-475. DOI:10.3969/j.issn.1000-0240.2005.04.001.
CHEN R S, KANG E S, WU L Z, *et al*. Discussion on the distribution of cold regions in China[J]. J Glaciol Geocryol, 2005, 27(4): 469-475. DOI: 10.3969/j.issn.1000-0240.2005.04.001.

[2] 张志清,崔博,马强,等. 驻寒区边防某部军事作业能力调查与分析[J]. 军事医学,2014,38(9):675-680,698. DOI:10.7644/j.issn.1674-9960.2014.09.006.
ZHANG Z Q, CUI B, MA Q, *et al*. Investigation and analysis of military operation ability of border guards in cold regions [J]. Mil Med Sci, 2014, 38(9): 675-680, 698. DOI: 10.7644/j.issn.1674-9960.2014.09.006.

[3] TIELAND M, TROUWBORST I, CLARK B C. Skeletal

muscle performance and ageing[J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle,2018,9(1):3-19. DOI:10.1002/jcsm.12238.

[4] FARBU E H, HÖPER A C, BRENN T, *et al*. Is working in a cold environment associated with musculoskeletal complaints 7-8 years later? A longitudinal analysis from the Tromso Study [J]. Int Arch Occup Environ Health, 2021, 94(4): 611-619. DOI:10.1007/s00420-020-01606-6.

[5] CASTELLANI J W, TIPTON M J. Cold stress effects on exposure tolerance and exercise performance [J]. Compr Physiol, 2015, 6(1): 443-469. DOI:10.1002/cphy.c140081.

[6] MANFREDI L H, ZANON N M, GARÓFALO M A, *et al*. Effect of short-term cold exposure on skeletal muscle protein breakdown in rats[J]. J Appl Physiol, 2013, 115(10): 1496-1505. DOI:10.1152/japplphysiol.00474.2013.

[7] PAN H L, SHEN Z L, CHEN Q, *et al*. Effect of cold on knee osteoarthritis: Recent research status[J]. Frigid Zone Med, 2022, 2(2): 76-81. DOI:10.2478/fzm-2022-0010.

[8] 李培杰,乔永杰,曹雅菲,等. 高原地区军人膝骨关节炎流行病学调查及相关危险因素分析[J]. 解放军医学杂志, 2025,50(11):1374-1381.
LI P J, QIAO Y J, CAO Y F, *et al*. Epidemiological survey of knee osteoarthritis and analysis of related risk factors among military personnel in plateau regions[J]. Med J Chin PLA, 2025,50(11):1374-1381.

[9] 刘杰,王晓黎,郭俊生. 冷应激引发小鼠骨关节炎模型的建立[J]. 环境与职业医学,2011,28(5):289-292.
LIU J, WANG X L, GUO J S. Establishment of mice osteoarthritis model induced by cold stress [J]. J Environ Occup Med, 2011, 28(5): 289-292.

[10] XIANG W, ZHANG T Y, LI B F, *et al*. Senescent macrophages induce ferroptosis in skeletal muscle and accelerate osteoarthritis-related muscle atrophy [J]. Nat Aging, 2025, 5(7): 1295-1316. DOI: 10.1038/s43587-025-00907-0.

[11] LIU-BRYAN R, TERKELTAUB R. Emerging regulators of the inflammatory process in osteoarthritis [J]. Nat Rev Rheumatol, 2015, 11 (1): 35-44. DOI: 10.1038/nrrheum.2014.162.

[12] SLEMENDA C, BRANDT K D, HEILMAN D K, *et al*. Quadriceps weakness and osteoarthritis of the knee[J]. Ann Intern Med, 1997, 127(2): 97-104. DOI: 10.7326/0003-4819-127-2-199707150-00001.

[13] SERRÃO P R M S, VASILCEAC F A, GRAMANI-SAY K, *et al*. Men with early degrees of knee osteoarthritis present functional and morphological impairments of the quadriceps femoris muscle[J]. Am J Phys Med Rehabil, 2015, 94(1): 70-81. DOI:10.1097/PHM.0000000000000143.

[14] KOK H J, FLETCHER D B, OSTER J C, *et al*. Transcriptomics reveals transient and dynamic muscle fibrosis and atrophy differences following spinal cord injury in rats[J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2024, 15(4): 1309-1323. DOI:10.1002/jcsm.13476.

[15] MARKS R. Quadriceps muscle mechanics and knee osteoarthritis - a 2022 update [J]. J Ortho Sci Res, 2022, 3(3): 1-21. DOI:10.46889/josr.2022.3307.

[16] HURLEY M V. The role of muscle weakness in the pathogenesis of osteoarthritis [J]. Rheum Dis Clin North Am, 1999, 25(2): 283-298, vi. DOI: 10.1016/s0889-857x(05)70068-5.

[17] SHIRVANI H, SHAMSODDINI A, BAZGIR B, *et al*. Metabolic crosstalk between skeletal muscle and cartilage tissue: insights into myokines in osteoarthritis[J]. Mol Biol Rep, 2025, 52(1): 957. DOI:10.1007/s11033-025-11072-3.

[18] TIMOFTE D V, TUDOR R C, MOCANU V, *et al*. Obesity, osteoarthritis, and myokines: balancing weight management strategies, myokine regulation, and muscle health [J]. Nutrients, 2024, 16(23): 4231. DOI:10.3390/nu16234231.

[19] PEAKE J M, ROBERTS L A, FIGUEIREDO V C, *et al*. The effects of cold water immersion and active recovery on inflammation and cell stress responses in human skeletal muscle after resistance exercise [J]. J Physiol, 2017, 595(3): 695-711. DOI:10.1113/JP272881.

[20] LIU Y, GUO Y F, LIU Z Y, *et al*. Augmented temperature fluctuation aggravates muscular atrophy through the gut microbiota [J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 3494. DOI: 10.1038/s41467-023-39171-4.

[21] BORNSTEIN M R, NEINAST M D, ZENG X F, *et al*. Comprehensive quantification of metabolic flux during acute cold stress in mice [J]. Cell Metab, 2023, 35(11): 2077-2092.e6. DOI:10.1016/j.cmet.2023.09.002.

[22] PEDERSEN B K. Muscles and their myokines [J]. J Exp Biol, 2011, 214(2): 337-346. DOI:10.1242/jeb.048074.

[23] ALVAREZ A M, DEOCESANO-PEREIRA C, TEIXEIRA C, *et al*. IL-1β and TNF-α modulation of proliferated and committed myoblasts: IL-6 and COX-2-derived prostaglandins as key actors in the mechanisms involved[J]. Cells, 2020, 9(9): 2005. DOI:10.3390/cells9092005.

[24] TIMMER L T, HOOGAARS W M H, JASPERS R T. The role of IGF-1 signaling in skeletal muscle atrophy[J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1088: 109-137. DOI:10.1007/978-981-13-1435-3_6.

[25] STITT T N, DRUJAN D, CLARKE B A, *et al*. The IGF-1/PI3K/Akt pathway prevents expression of muscle atrophy-induced ubiquitin ligases by inhibiting FOXO transcription factors[J]. Mol Cell, 2004, 14(3): 395-403. DOI:10.1016/s1097-2765(04)00211-4.

[26] LIU S Q, CUI F Q, NING K T, *et al*. Role of irisin in physiology and pathology[J]. Front Endocrinol, 2022, 13: 962968. DOI:10.3389/fendo.2022.962968.

[27] ALBA B K, CASTELLANI J W, CHARKOUDIAN N. Cold-induced cutaneous vasoconstriction in humans: Function, dysfunction and the distinctly counterproductive [J]. Exp Physiol, 2019, 104 (8): 1202-1214. DOI: 10.1113/EP087718.

(收稿:2025-10-25;修回:2025-11-30)
(编辑 栾 嘉)