针刀改善冻结肩模型大鼠关节囊纤维化的作用机制*

李佳琳，刘建民，邱苏

湖北中医药大学针灸骨伤学院，湖北 武汉 430000

摘要：目的：探讨针刀改善冻结肩（frozen shoulder，FS）大鼠肩关节囊纤维化的作用机制。方法：从 40 只 SD 大鼠中随机选取 10 只作为空白组，其余大鼠采用机械劳损联合冰敷的方法制备 FS 模型。将造模成功的大鼠随机分为模型组、针刀组及假针刀组，每组 10 只。针刀组大鼠实施 C 形针刀松解术，每周 1 次，持续 4 周。采用旷场实验评价大鼠的运动能力，HE 染色法观察大鼠右肩关节囊病理形态，免疫组化法检测大鼠右肩关节囊转化生长因子－β1（transforming growth factor－β1，TGF－β1）表达情况，Western blot 和 RT－PCR 法检测大鼠肩关节囊骨形态发生蛋白－7（bone morphogenetic protein－7，BMP－7）、α－平滑肌肌动蛋白（α－smooth muscle actin，α－SMA）与基因表达水平。结果：与空白组比较，模型组大鼠的活动总路程减少（$P<0.05$）；与模型组、假针刀组比较，针刀组大鼠的活动总路程增加（$P<0.05$）。HE 染色显示，空白组大鼠肩关节囊病理形态未见明显异常。模型组大鼠肩关节囊滑膜结构较致密，毛细血管增多，肌纤维排列不整齐。针刀组大鼠肩关节囊滑膜结构疏松，可见少量毛细血管，肌纤维排列较整齐。与空白组比较，模型组大鼠肩关节囊中 TGF－β1 阳性表达率升高（$P<0.05$）；与模型组、假针刀组比较，针刀组大鼠肩关节囊中 TGF－β1 阳性表达率降低（$P<0.05$）。与空白组比较，模型组大鼠肩关节囊中 BMP－7 蛋白表达水平降低、α－SMA 蛋白表达水平升高（$P<0.05$）；与模型组、假针刀组比较，针刀组大鼠肩关节囊中 BMP－7 蛋白表达水平升高、α－SMA 蛋白表达水平降低（$P<0.05$）。与空白组比较，模型组大鼠肩关节囊中 *BMP－7* mRNA 水平降低、*α－SMA* mRNA 水平升高（$P<0.05$）；与模型组比较，针刀组大鼠肩关节囊中 *BMP－7* mRNA 水平升高、*α－SMA* mRNA 水平降低（$P<0.05$）。结论：针刀可改善 FS 大鼠肩关节囊纤维化，其作用机制可能与抑制 TGF－β1、α－SMA 表达，促进 BMP－7 表达有关。

关键词：针刀；冻结肩；关节囊纤维化；TGF－β1；α－SMA；BMP－7；大鼠

DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2025.11.382

中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999(2025)11－2437－08

Mechanism of Acupotomy in Improving Joint Capsule Fibrosis in a Frozen Shoulder Rat Model

LI Jialin，LIU Jianmin，QIU Su

School of Acupuncture and Orthopedics，Hubei University of Chinese Medicine，Wuhan Hubei China 430000

Abstract：Objective：To explore the mechanism by which acupotomy improves shoulder joint capsule fibrosis in a frozen shoulder（FS）rat model. Methods：Forty SD rats were randomly selected，with 10 rats assigned to a blank group，while the remaining rats were subjected to mechanical trauma combined with ice application to establish the FS model. Rats successfully modeled were randomly divided into a model group，an acupotomy group，and a sham acupotomy group，with 10 rats in each group. Rats in the acupotomy group received C－shaped acupotomy release surgery once a week for 4 weeks. Open field tests were used to evaluate the rats′ motor abilities，HE staining was performed to observe the pathological morphology of the right shoulder joint capsule，immunohistochemistry was used to detect the expression of transforming growth factor－β1（TGF－β1）in the right shoulder joint capsule，and Western blot and RT－PCR assays were conducted to measure protein and gene expression levels of BMP－7 and α－SMA in the shoulder joint capsule. Results：Compared

* **基金项目**：湖北省自然科学基金项目（2022CFC043）

with the blank group, the total distance traveled by rats in the model group decreased ($P<0.05$); compared with the model group and sham acupotomy group, the total distance traveled by rats in the acupotomy group increased ($P<0.05$). HE staining showed that the pathological morphology of the shoulder joint capsule in the blank group rats was not significantly abnormal. In the model group, the synovial structure of the shoulder joint capsule was denser, with increased capillaries and irregular arrangement of muscle fibers. In the acupotomy group, the synovial structure of the shoulder joint capsule was loose, with a few capillaries, and muscle fibers were arranged more neatly. Compared with the blank group, the positive expression rate of TGF－β1 in the shoulder joint capsule of model group rats increased ($P<0.05$); compared with the model group and sham acupotomy group, the positive expression rate of TGF－β1 in the shoulder joint capsule of the acupotomy group decreased ($P<0.05$). Compared with the blank group, BMP－7 protein levels in the shoulder joint capsule of model group rats decreased, while α－SMA protein levels increased ($P<0.05$); compared with the model group and sham acupotomy group, BMP－7 protein levels in the shoulder joint capsule of the acupotomy group increased, and α－SMA protein levels decreased ($P<0.05$). Compared with the blank group, *BMP－7* mRNA levels in the shoulder joint capsule of model group rats decreased, while *α－SMA* mRNA levels increased ($P<0.05$); compared with the model group, *BMP－7* mRNA levels in the shoulder joint capsule of the needle－knife group increased, and *α－SMA* mRNA levels decreased ($P<0.05$). Conclusion: Acupotomy therapy can improve shoulder joint capsule fibrosis in FS rats, and its mechanism may be related to inhibition of TGF－β1 and α－SMA expression and promotion of BMP－7 expression.

Key words: acupotomy; frozen shoulder; joint capsule fibrosis; TGF－β1; α－SMA; BMP－7; rat

冻结肩(frozen shoulder, FS)是一种常见的肩部疾病,其特点是疼痛和活动范围受限,尤其在肩关节外旋时更为显著[1]。FS 好发于 50～60 岁的中老年人群,发病率为 2%～5%,且女性患者多于男性,双侧均发病者占患者总数的 20%～30%,而同侧复发的情况较为罕见[2]。FS 的自然病程分为 3 个阶段,即粘连前期、粘连期和缓解期[3]。在粘连期和缓解期,患者可出现各个方向关节活动的主动和被动受限。研究显示,FS 病程可能长达 10 年,患者需长期承受疼痛和关节僵硬,严重影响其工作和生活质量[4]。FS 的传统疗法以口服非甾体抗炎药和手术治疗为主,但存在一定的局限性。口服药物可能对肝肾功能造成损害,而手术治疗的满意度较低[5]。目前,针灸疗法可缓解 FS 患者疼痛,但对粘连的松解分离效果有限,导致部分患者疗效不佳,病程迁延[6]。

转化生长因子－β(transforming growth factor－β, TGF－β)作为一种重要的细胞因子,能调控正常成纤维细胞的表型变化,并在细胞的生长、增殖、分化、迁移和凋亡等多个生物学过程中发挥重要作用[7]。研究发现,FS 患者肩关节囊中 TGF－β 及其受体的表达水平升高,提示 TGF－β 可能参与 FS 关节囊纤维化的发生发展[8]。骨形态发生蛋白－7(bone morphogenetic protein－7, BMP－7)是一种从骨基质中提取的细胞因子,可诱导异位软骨及骨形态细胞分化,并在组织纤维化过程中发挥抑制作用[9]。α－平滑肌肌动蛋白(α－smooth muscle actin, α－SMA)作为一种细胞骨架蛋白,在调控组织纤维化过程中细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的合成和沉积方面起关键作用,是评估组织纤维化程度的常用指标[10]。

针刀是一种融合现代手术疗法与传统中医针灸疗法的创新方法,其外观与针灸针相似,但针头则呈现为类似“铲”状的刀刃结构。研究表明,针刀可直接作用于病变部位软组织,有效降低局部软组织的张力,显著抑制疼痛因子的表达,并提高疼痛阈值[11－13]。本研究通过建立 FS 大鼠模型,旨在深入探讨针刀干预 FS 活动受限的作用机制,以期为针刀治疗 FS 的临床研究提供理论依据。

1　材料

1.1　动物　8 月龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只,体质量(300±50) g,购自三峡大学实验中心,生产许可证号:SYXK(鄂)2022－0061,实验动物使用许可证号:SYXK(鄂)2022－0061。动物喂养于湖北中医药大学针灸研究所标准动物房,室温 23～25 ℃,相对湿度 40%～60%。本研究经湖北中医药大学实验动物伦理委员会审核批准,实验操作严格遵守《关于善待实验动物的指导性意见》等要求。

1.2　试剂　免疫组化抗原修复盒、HE 染液、BC004 免疫组化笔、DAB 显色试剂盒(20×)、RIPA 裂解液(强)、牛血清白蛋白(Biosharp 公司);柠檬酸钠抗原修复液(50×)(北京索莱宝科技有限公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒、SDS－PAGE 蛋白上样缓冲液

(5×)(上海碧云天生物技术有限公司);PVDF 膜(Millipore);RNA isolater Total RNA Extraction Reagent、HiScript Ⅱ Q RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)、DL 15000 DNA Marker、Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix(南京诺唯赞生物科技股份有限公司);BMP-7 单克隆抗体、α-SMA 单克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司)。

1.3　仪器　电动摇床(常州市博宏高科实验设备有限公司);自主活动分析系统(上海软隆科技发展有限公司);乐灸牌一次性针刀(吴江市云龙医疗器械有限公司,规格:0.4 mm×40.0 mm);EG-1150H 石蜡包埋机(上海安亭科学仪器厂);RM2016 病理切片机(德国 Leica);BX-53 光学显微镜(中国奥林巴斯有限公司);DYY-6C 电泳仪(北京市六一仪器厂);DR-200Bs 酶标仪(德国 Diatek);PCR 梯度基因扩增仪、台式冷冻离心机(SCILOGEX);高速组织研磨仪(上海净信实业发展有限公司)。

2　方法

2.1　FS 模型制备　大鼠穿上特制鼠衣,将其侧卧位进行固定,右前肢远端固定连接电动摇床,平行摇动右肩关节,每天持续摇动 4 h,连续 3 d,设置参数为:频率 120 次·min^{-1}、振幅 1.5 cm。造模第 4 天开始,将劳损后的大鼠固定于自制固定装置上,用冰块外敷其右肩部,及时更换冰块,每天持续冰敷 4 h,连续 3 d。造模结束后,若大鼠右前肢呈“外翻”状态,主动爬行时身体倾斜成“拖地”状,被动活动时右肩疼痛反应增强,且局部轻度肿胀,肉眼可见不同程度充血或瘀斑时,提示造模成功。

2.2　分组与干预　大鼠适应性喂养 7 d 后,从 40 只大鼠中随机选取 10 只作为空白组,其余大鼠采用“2.1”方法制备 FS 模型。将造模成功的大鼠随机分为模型组、针刀组及假针刀组,每组 10 只。空白组与模型组大鼠常规饲养,不作任何干预。针刀组大鼠固定后,对患肩部触诊,分别于喙突、肱骨小结节、结节间沟及肱骨大结节后缘处定点,实施 C 形针刀松解术。具体方法如下:常规备皮、消毒,采用 0.4 mm×40.0 mm 针刀垂直进针,刀口线与大鼠肢体长轴方向一致,提插切割 2 次,范围 0.1~0.2 cm,出针后按压 1 min,于造模结束后第 4 天、第 11 天、第 18 天、第 25 天各治疗 1 次,共治疗 4 次。假针刀组大鼠的取点位置与针刀组一致,但操作时仅刺破皮肤,稍进入肌肉浅层,不进行铲剥与分离,立即拔出针刀,出针后按压 1 min,防止出血[14],每周治疗 1 次,共治疗 4 次。

2.3　旷场实验评价大鼠运动能力　在干预结束时(实验第 42 天)进行旷场实验,将大鼠放入旷场箱(1.0 m×1.0 m×0.4 m)中央,采用自主活动分析系统记录大鼠 5 min 内的活动影像,分析其活动总路程。实验期间保持安静,每只大鼠实验结束后用酒精清洁旷场箱,避免气味残留对实验结果造成影响。

2.4　样本制备　每组随机选取 6 只大鼠处死后,小心取出右肩关节,剔除周围多余的肌肉韧带,留取肩关节囊,生理盐水洗净后吸干水分,放置于液氮中保存备用。剩余 4 只大鼠以戊巴比妥钠麻醉后,采用 4% 多聚甲醛灌注,取右肩关节放入 10 mL 脱钙液中脱钙 2 周,随后行病理检测。

2.5　HE 染色法观察大鼠右肩关节囊病理形态　取脱钙后的大鼠右肩关节囊,梯度脱水后进行石蜡包埋,制备厚度 3 μm 的切片,将切片脱蜡后进行苏木素染色 3~5 min,盐酸水溶液分化后采用氨水返蓝,梯度乙醇脱水后放入伊红染液中染色 5 min,脱水封片后采用数字切片扫描仪采集图像,观察肌纤维的形态。

2.6　免疫组化法检测大鼠右肩关节囊 TGF-β1 表达情况　取大鼠右肩关节囊石蜡切片,80 ℃烘箱烘片 1 h,梯度乙醇脱水后置于 0.01 mmol·L^{-1}枸橼酸缓冲液中,92 ℃恒温水浴 10~15 min 进行抗原修复,PBS 冲洗 3 次,每次 3 min。切片滴加 3% 过氧化氢溶液孵育 15 min,PBS 冲洗 3 次,每次 3 min。加入一抗(1∶200),4 ℃孵育 15 h;PBS 清洗后加入二抗(1∶200),室温孵育 30 min;再依次滴加 DAB 显色液显色,苏木素染液复染细胞核 1 min,梯度乙醇脱水后,中性树胶封片,在光学显微镜下观察。采用 Image Pro 软件分析 TGF-β1 蛋白的阳性表达率。

2.7　Western blot 法检测大鼠肩关节囊 BMP-7、α-SMA 蛋白表达水平　取大鼠肩关节囊组织,研磨后加入强力型 RIPA 裂解液和 PMSF 冰浴 30 min,离心取上清。采用 BCA 法测定蛋白浓度,调整样品浓度使上样量一致,10% SDS-PAGE 凝胶电泳后,转膜至 PVDF 膜。5% 脱脂牛奶封闭 1 h,加入一抗 BMP-7(1∶1 000)、α-SMA(1∶1 000)、GAPDH(1∶10 000),4 ℃摇床孵育过夜;次日用 TBST 洗

膜，加入二抗（1∶10 000），4 ℃孵育 1 h；TBST 洗膜后，加入发光液显色，采用凝胶成像系统进行拍照。

2.8　RT－PCR 法检测大鼠肩关节囊 *BMP－7*、*α－SMA* 基因表达水平　取大鼠肩关节囊组织，提取总 RNA 后逆转录为 cDNA，根据说明书进行扩增，总反应体系为 20 μL，PCR 仪设定为 50 ℃ 15 min，85 ℃ 4 s。荧光定量 PCR 的反应体系为：2×MasterMix（10.0 μL），10 μmmol·L^{-1}正向引物（0.4 μL），10 μmmol·L^{-1}反向引物（0.4 μL），模板（2.0 μL）及 ddH_2O（7.2 μL）。PCR 反应程序为：预变性 95 ℃ 3 s；变性 95 ℃ 10 s，40 个循环；退火/延伸 60 ℃ 3 s；熔解曲线 95 ℃ 15 s，60 ℃ 60 s，95 ℃ 15 s。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 *BMP－7* mRNA、*α－SMA* mRNA 相对表达量，引物序列见表 1。

表 1　引物序列

基因	引物序列（5′－3′）	长度/bp
Rat *GAPDH*	正向：ACAGCAACAGGGTGGTGGAC 反向：TTTGAGGGTGCAGCGAACTT	253
Rat *BMP－7*	正向：ACCATCGAGAGTTCCGGTTT 反向：AATACCAACCAGCCCTCCTC	223
Rat *α－SMA*	正向：ACCCACAATGTCCCCATCTA 反向：TCTCCAGGGAAGAAGACGAA	235

2.9　统计学方法　采用 SPSS 26.0 统计学软件进行分析，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。若数据服从正态分布，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 *LSD－t* 检验；若数据不符合正态分布，采用非参数秩和检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3　结果

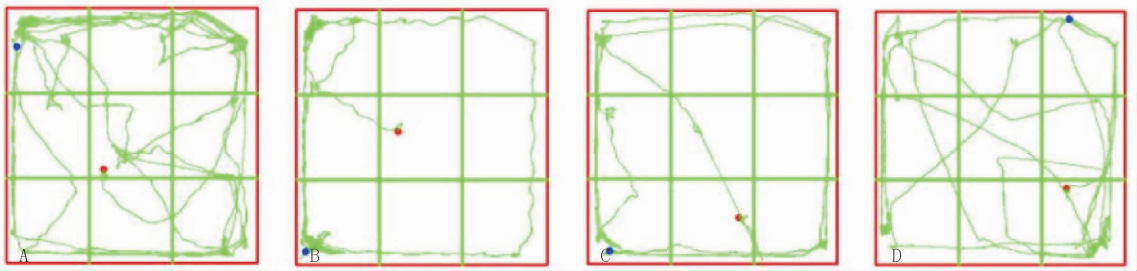
3.1　各组大鼠一般情况　空白组大鼠精神活跃，皮毛整齐、未见脱毛现象，活动时四肢协调、灵活，被动活动右肩关节时无明显抵抗、尖叫及攻击行为。模型组大鼠精神倦怠，活动减少，毛发凌乱，有少许脱落，肩关节周围组织充血肿胀，患肢不愿触地，被动活动右肩关节时明显抵抗，发出尖叫。假针刀组大鼠精神倦怠，毛发凌乱，部分脱落，患肢愿意触地，被动活动右肩关节时仍挣扎尖叫，部分肩关节周围组织仍充血水肿。针刀组大鼠活动量增加，毛色较整齐，无脱毛现象，被动运动时四肢未见明显异常，肩关节周围组织肿胀较模型组减轻。

3.2　针刀对 FS 大鼠活动总路程的影响　旷场实验显示，与空白组比较，模型组、假针刀组大鼠的活动总路程减少（$P<0.05$）；与模型组比较，针刀组大鼠的活动总路程增加（$P<0.05$）；与假针刀组比较，针刀组大鼠的活动总路程增加（$P<0.05$），见表 2、图 1。

表 2　各组大鼠旷场实验活动总路程比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	总路程（s/cm）
空白组	10	2 740.96 ± 151.78
模型组	10	2 008.01 ± 132.97*
假针刀组	10	2 092.07 ± 144.68*
针刀组	10	2 496.03 ± 167.91$^{\#\triangle}$

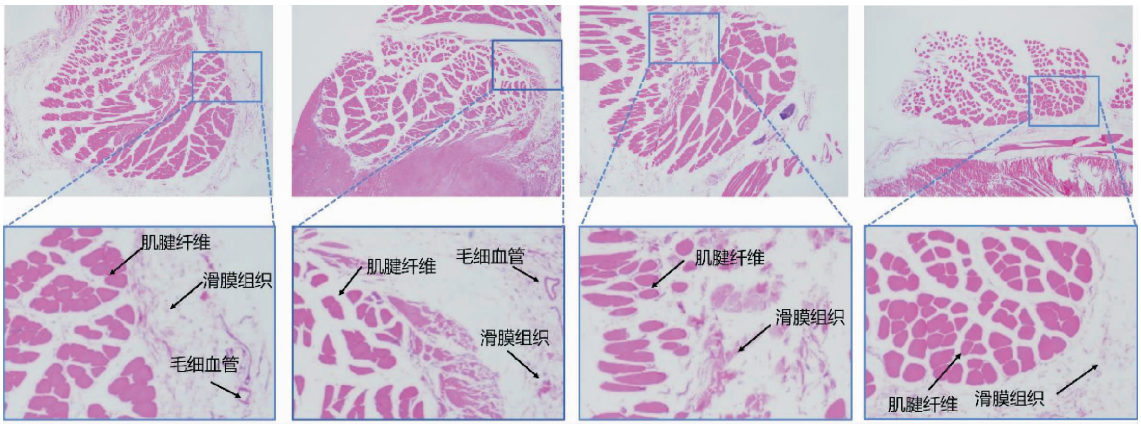
注：与空白组比较，$^{*}P<0.05$；与模型组比较，$^{\#}P<0.05$；与假针刀组比较，$^{\triangle}P<0.05$。



注：A：空白组；B：模型组；C：假针刀组；D：针刀组。

图 1　各组大鼠旷场实验典型运动轨迹图

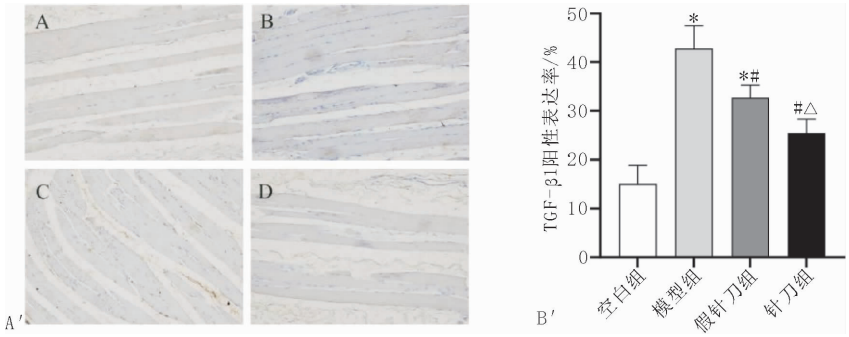
3.3　针刀对 FS 大鼠肩关节囊病理形态的影响　病理组织学改变是评价肩关节囊纤维化最基本和最重要的指标。HE 染色显示，空白组大鼠肩关节囊滑膜结构疏松，可见少量毛细血管，肌纤维排列整齐，未见炎症细胞浸润。模型组大鼠肩关节囊滑膜结构较致密，滑膜与周围组织粘连，毛细血管增多，肌纤维排列不整齐，未见炎症细胞浸润，符合关节囊纤维化的病理特征，判定 FS 模型复制成功。假针刀组大鼠肩关节囊滑膜结构稍致密，滑膜与周围组织粘连，毛细血管增多，肌纤维排列不整齐，未见炎症细胞浸润。针刀组大鼠肩关节囊滑膜结构疏松，可见少量毛细血管，肌纤维排列较整齐，未见炎症细胞浸润，见图 2。



注：A：空白组；B：模型组；C：假针刀组；D：针刀组。

图 2　各组大鼠肩关节囊组织病理染色图（HE，40 ×）

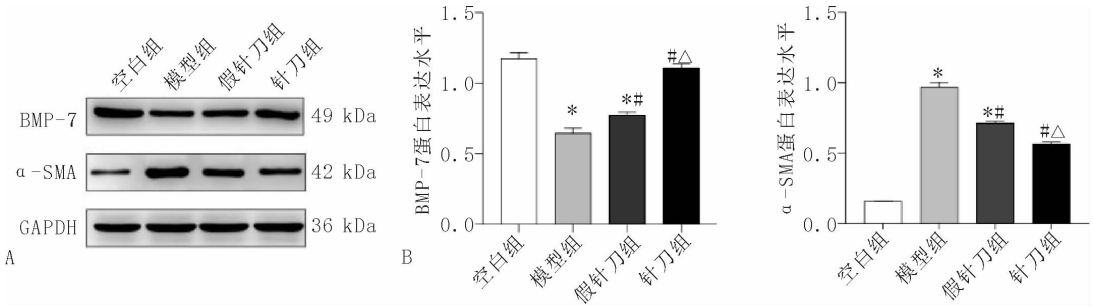
3.4　针刀对 FS 大鼠肩关节囊 TGF－β1 表达的影响　免疫组化显示，与空白组比较，模型组、假针刀组大鼠肩关节囊中 TGF－β1 阳性表达率升高（$P<0.05$）；与模型组比较，假针刀组、针刀组大鼠肩关节囊中 TGF－β1 阳性表达率降低（$P<0.05$）；与假针刀组比较，针刀组大鼠肩关节囊中 TGF－β1 阳性表达率降低（$P<0.05$），见图 3。



注：A′：TGF－β1 免疫组化染色图，A：空白组，B：模型组，C：假针刀组，D：针刀组；B′：TGF－β1 阳性表达率；与空白组比较，＊$P<0.05$；与模型组比较，#$P<0.05$；与假针刀组比较，△$P<0.05$。

图 3　各组大鼠肩关节囊中 TGF－β1 阳性表达率比较

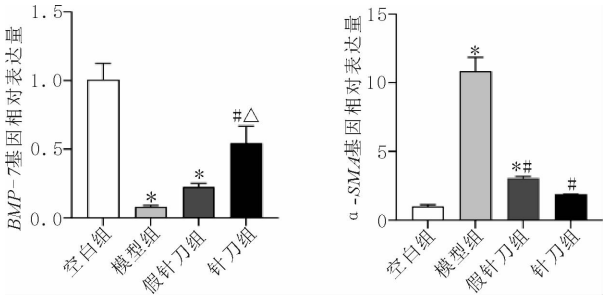
3.5　针刀对 FS 大鼠肩关节囊 BMP－7、α－SMA 表达的影响　Western blot 显示，与空白组比较，模型组、假针刀组大鼠肩关节囊中 BMP－7 蛋白表达水平降低、α－SMA 蛋白表达水平升高（$P<0.05$）；与模型组比较，假针刀组、针刀组大鼠肩关节囊中 BMP－7 蛋白表达水平升高、α－SMA 蛋白表达水平降低（$P<0.05$）；与假针刀组比较，针刀组大鼠肩关节囊中 BMP－7 蛋白表达水平升高、α－SMA 蛋白表达水平降低（$P<0.05$），见图 4。



注：A：BMP－7、α－SMA 蛋白条带图；B：BMP－7、α－SMA 蛋白表达水平；与空白组比较，＊$P<0.05$；与模型组比较，#$P<0.05$；与假针刀组比较，△$P<0.05$。

图 4　各组大鼠肩关节囊中 BMP－7、α－SMA 蛋白表达水平比较

RT－PCR 显示，与空白组比较，模型组、假针刀组大鼠肩关节囊中 *BMP－7* mRNA 水平降低、*α－SMA* mRNA 水平升高（$P<0.05$）；与模型组比较，假针刀组、针刀组大鼠肩关节囊中 *BMP－7* mRNA 水平升高、*α－SMA* mRNA 水平降低（$P<0.05$）；与假针刀组比较，针刀组大鼠肩关节囊中 *BMP－7* mRNA 水平升高（$P<0.05$），见图 5。



注：与空白组比较，＊$P<0.05$；与模型组比较，#$P<0.05$；与假针刀组比较，△$P<0.05$。

图 5　各组大鼠肩关节囊中 *BMP－7*、*α－SMA* 基因表达水平比较

4　讨论

FS 归属于中医“痹证”“肩凝症”“漏肩风”“五十肩”范畴[15]，病性属本虚标实。中医认为，五旬之人，肝肾亏虚，易受风寒湿邪侵袭，导致气机阻滞不通，发为肩痹。针刀疗法将“针”与“刀”有效结合起来，具有疏通经络、调畅气血、松解粘连、解除压迫的作用。大量动物实验表明，针刀可抑制疼痛因子释放，增加肩关节腔容积，减轻肩关节囊挛缩，从而缓解关节活动受限[4,16－17]。

FS 肩关节活动受限的主要原因是盂肱关节囊纤维化，其病理改变是纤维组织增生，病理组织中可见胶原纤维排列紊乱及成纤维细胞渗出[18]。研究发现，FS 患者肩关节囊中结缔组织较正常人更为致密，其中包含大量Ⅰ型胶原结节状纤维组织。Ⅰ型胶原是 ECM 的主要成分，具有巨大的抗张强度，是瘢痕组织纤维化的物质基础[19]。与健康组织相比，纤维化组织中Ⅰ型胶原蛋白含量更高[20]。除成分改变外，纤维化的 ECM 具有广泛的交联结构，难以降解。此外，大量成纤维细胞参与组织纤维化的形成；在炎症期间，肌成纤维细胞在大量炎症因子与细胞趋化因子的诱导下产生并转化。最终，ECM 在肌成纤维细胞的作用下收缩，相关的牵引力诱导瘢痕形成并与周围组织粘连，导致关节周围僵硬疼痛[21]。

TGF－β 是诱导纤维化的关键细胞因子之一，并在 ECM 的构建中发挥重要作用[22]。目前，在哺乳动物体内已鉴定出 TGF－β1、TGF－β2 和 TGF－β3 等 3 种亚型，其中 TGF－β1 的生物活性最强，占比超过 90%，是纤维化进程中最具影响力的细胞因子[23]。韩道宁等[24]通过临床试验发现，FS 患者血清中 TGF－β1、PGE2 水平显著升高。张颖超等[25]研究发现，TGF－β1 可促进 ECM 中 α－SMA、波形蛋白（Vimentin）、Ⅰ型胶原蛋白、Ⅲ型胶原蛋白的过度表达，从而加速 FS 肩关节囊纤维化。BMP－7 是 TGF－β 超家族的重要成员，可以抑制 TGF－β1 的促纤维化作用，二者在纤维化的形成过程中相互调节，以维持生物活性的平衡[26]。BMP－7 受体由Ⅰ型和Ⅱ型丝氨酸/苏氨酸激酶组成，Ⅰ型受体包括 ALK2、ALK3 和 ALK6，Ⅱ型受体包括 BMPR－Ⅱ、ActRⅡ和 ActRⅡB。Ⅱ型受体使Ⅰ型受体磷酸化，活化的Ⅰ型受体决定了信号传导的特异性，从而调节细胞趋化、增殖与分化等过程[27]。BMP－7 通过与 BMPRs 结合，激活经典的 Smad1/5/8 信号通路。磷酸化的 Smad1/5/8 与 Smad4 形成转录复合物，进入细胞核中，通过 MH1 结构域与其他 DNA 结合转录元件相互作用，诱导相关目标基因转录，从而抑制纤维化[28]。林凌桑等[29]发现，在患者骨折术后给予外源性 rhBMP－7 可以有效抑制肱骨干近端区域的肩关节组织纤维化。此外，BMP－7 还可阻断上皮细胞－间充质转化（epithelial－mesenchymal transition，EMT）和 ECM 的沉积，削弱 TGF－β1 的促纤维化作用[30]。α－SMA 由 *ACTA2* 基因编码，是血管平滑肌肌动蛋白的一种亚型，可以分泌大量细胞质基质及调控细胞基质形成的蛋白酶等[31]，α－SMA 表达增加是 EMT 的重要标志[32]。α－SMA 对纤维和中间丝波形蛋白施加压力，通过分泌纤维连接蛋白和胶原蛋白产生 ECM，从而促进 EMT[33]。Xue 等[34]在 FS 大鼠模型中发现，滑膜组织中 α－SMA 表达升高。综上，上调 BMP－7 或下调 TGF－β1 及 α－SMA 等细胞因子的表达，对纤维化具有一定的改善作用。由此推测，针刀可能通过上调 BMP－7 表达水平，下调 TGF－β1、α－SMA 表达水平，从而改善肩关节囊纤维化。

针刀医学认为，FS 是一种典型的自我代偿性疾病。肩关节由于外伤、慢性劳损等多种原因出现局部病变，机体在自我保护机制的作用下限制其功能，使受伤的软组织得到休息和修复。但肩关节应力失常的状态并未改变，肩关节长期在异常的解剖位置下活动，使周围软组织进一步损伤，形成广泛的粘连、瘢痕和挛缩，最终导致肩关节功能严重障碍。关键病变部位包括肱二头肌短头的附着点喙突、肩胛下肌的止点小结节、肱二头肌长头经过结节间沟、小圆肌的止点。本研究依据 FS 活动受限的关键点，选取了喙突、肱骨小结节、结节间沟及肱骨大结节后缘 4 个点作为治疗靶点。假针刀组与模型组的结果提示，针刀只刺入肌肉浅层，不进行铲剥与分离，对肩关节功能障碍无明显作用，但不排除针刀刺激可能引起机体对病变组织的修复反应，上调抗纤维化因子表达、下调促纤维化因子表达，进而促进纤维化组织修复的可能性。

综上所述，针刀疗法可改善 FS 大鼠肩关节囊纤维化，提高其运动能力，作用机制可能与抑制促纤维化因子 TGF－β1、α－SMA 表达，促进抗纤维化因子 BMP－7 表达有关。在未来的研究中，拟注射 BMP－7 激动剂及从细胞层面深入探讨针刀改善 FS 大鼠肩关节囊纤维化的作用机制。

参考文献：

[1]RAMIREZ J. Adhesive capsulitis：diagnosis and management[J]. Am Fam Physician，2019，99(5)：297－300.

[2]LIN M T，HSIAO M Y，TU Y K，et al. Comparative efficacy of intra－articular steroid injection and distension in patients with frozen shoulder：a systematic review and network meta－analysis[J]. Arch Phys Med Rehabil，2018，99(7)：1383－1394.

[3]钱洪，赵建宁，包倪荣. 冻结肩的治疗进展[J]. 颈腰痛杂志，2017，38(1)：69－72.

[4]王世辉，程杨，朱赟洁，等. 弧刃针刀治疗冻结肩模型兔炎症因子及组织形态的反应[J]. 中国组织工程研究，2022，26(5)：706－711.

[5]曹坤燕，郭珈宜，李峰，等. 中医治疗肩关节周围炎临床研究进展[J]. 河北中医，2022，44(6)：1041－1045，1051.

[6]MILLAR N L，MEAKINS A，STRUYF F，et al. Frozen shoulder[J]. Nat Rev Dis Primers，2022，8：59.

[7]ELMADBOUH I，SINGLA D K. BMP－7 attenuates inflammation－induced pyroptosis and improves cardiac repair in diabetic cardiomyopathy[J]. Cells，2021，10(10)：2640.

[8]王莉，刘毅，王芬，等. 地龙对哮喘模型小鼠肺组织 α－SMA 及纤维蛋白的抑制作用[J]. 中国病理生理杂志，2009，25(10)：1964－1968.

[9]刘乃刚，于佳妮，胡波，等. 针刀对膝骨关节炎兔软骨细胞磷酸化黏着斑激酶、磷酯酰肌醇－3 激酶、聚集蛋白聚糖基因及蛋白表达的影响[J]. 针刺研究，2018，43(4)：221－225.

[10]曾欣，刘晓玲，褚洪川，等. 针刀干预对膝骨关节炎模型兔股直肌 p16、p21 表达的影响[J]. 针灸临床杂志，2023，39(9)：61－66.

[11]许悦，王彤，陈烯琳，等. 针刀干预对膝骨关节炎兔关节腔内压和滑膜血管增生的影响[J]. 针灸临床杂志，2023，39(3)：73－77.

[12]卢梦雅，杨永晖，伍闲，等. 基于 CircSERPINE2－miR－1271－5P－ERG 轴探讨针刀对膝关节骨关节炎兔膝关节软骨细胞凋亡的影响[J]. 中国针灸，2023，43(4)：447－453.

[13]ZHAO H K，KONG L Z，SHEN J，et al. Tetrandrine inhibits the occurrence and development of frozen shoulder by inhibiting inflammation，angiogenesis，and fibrosis[J]. Biomed Pharmacother，2021，140：111700.

[14]曹冰，任荣，陆晨. SGLT2 抑制剂对糖尿病肾病大鼠肾脏纤维化及Ⅰ型胶原蛋白表达的影响[J]. 现代中西医结合杂志，2022，31(24)：3372－3377，3391.

[15]周丹，张照庆，尹晶，等. 针刀疗法对肩周炎模型兔局部组织 IL－1β、TNF－α 和 ASIC1 表达的影响[J]. 上海针灸杂志，2021，40(6)：762－768.

[16]CALLE P，HOTTER G. Macrophage phenotype and fibrosis in diabetic nephropathy[J]. Int J Mol Sci，2020，21(8)：2806.

[17]PAOLILLO S，MARSICO F，PRASTARO M，et al. Diabetic cardiomyopathy：definition，diagnosis，and therapeutic implications[J]. Heart Fail Clin，2019，15(3)：341－347.

[18]何勇，熊建义，崔家鸣，等. 肩周炎肩关节活动受限的分子生物学研究[J]. 国际骨科学杂志，2016，37(3)：187－189.

[19]HENDERSON N C，RIEDER F，WYNN T A. Fibrosis：from mechanisms to medicines[J]. Nature，2020，587(7835)：555－566.

[20]曹坤燕，郭珈宜，李峰，等. 针灸治疗肩周炎的临床研究进展[J]. 中国疗养医学，2022，31(7)：690－692.

[21]张照庆,王小飞,尹晶,等. 针刀疗法对肩周炎模型兔肩关节囊局部组织中基因蛋白表达的影响[J]. 陕西中医,2021,42(8):991 - 994,998.

[22]符海燕,刘建浩,郑全成,等. 肩痛穴平衡针法联合运动留针法治疗寒湿痹阻型肩周炎的疗效及对血清 TGF - β1、PGE2 水平影响[J]. 四川中医,2021,39(7):192 - 195.

[23]陈锦富,朱天飞,常崇斐,等. 冻结肩病理改变及过氧化物酶体增殖剂激活受体 - γ 激动剂治疗作用的研究[J]. 中华骨与关节外科杂志,2020,13(8):663 - 670.

[24]韩道宁,苏秀兰. TGF - β/Smad 信号通路在肝纤维化中的研究进展[J]. 生物医学转化,2021,2(3):49 - 56.

[25]张颖超,米焱,王彩丽. 骨形态发生蛋白 - 7 参与糖尿病肾病发病机制的研究进展[J]. 天津医药,2021,49(10):1107 - 1111.

[26]吴智恒,吴睿哲,荣尚,等. 基于 BMP/Smads/Runx2 信号通路探讨桃红四物汤对创伤性股骨头坏死模型大鼠成骨化表达和病理形态学的影响[J]. 中医药导报,2022,28(9):7 - 13.

[27]AYTAC S D,SCHNETZKE M,HUDEL I,et al. High bone consolidation rates after humeral head - preserving revision surgery in non - unions of the proximal humerus[J]. Z Orthop Unfall,2014,152(6):596 - 602.

[28]ALUGANTI N C,SINGLA D K. The role of bone morphogenetic protein 7 (BMP - 7) in inflammation in heart diseases[J]. Cells,2020,9(2):280.

[29]林凌桑,陈洁,李思广,等. 化瘀理肺方对肺纤维化大鼠肺组织 miR - 27a 与 α - SMA 表达的影响[J]. 海南医学院学报,2023,29(22):1689 - 1695.

[30]杨春昆,潘清泉,罗传超,等. 大黄素抑制纤维化的机制综述[J]. 世界中西医结合杂志,2023,18(6):1266 - 1272.

[31]SONG Y L,WANG Z G,JIANG J Z,et al. DEK - targeting aptamer DTA - 64 attenuates bronchial EMT - mediated airway remodelling by suppressing TGF - β1/Smad,MAPK and PI3K signalling pathway in asthma[J]. J Cell Mol Med,2020,24(23):13739 - 13750.

[32]吴绪平. 针刀医学[M]. 北京:中国中医药出版社,2014.

[33]王旭,张天民. “C”形针刀整体松解术治疗肩部骨质疏松症性肩周炎 13 例[J]. 中医外治杂志,2016,25(3):18 - 19.

[34]XUE M F,GONG S L,DAI J P,et al. The treatment of fibrosis of joint synovium and frozen shoulder by Smad4 gene silencing in rats[J]. PLoS One,2016,11(6):e0158093.

收稿日期:2025 - 06 - 12

作者简介:李佳琳(1997 -),女,河南洛阳人,医学硕士,研究方向:针刀治疗脊柱相关疾病。

通信作者:刘建民(1976 -),男,山西运城人,医学博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:针刀治疗脊柱相关疾病。E - mail:595440174@qq.com

编辑:刘凯歌