

·综述·

关节囊纤维化及其分子调控机制在关节挛缩中的作用研究进展*

张全兵¹ 王 锋¹ 周 云^{1,3} 王 华²

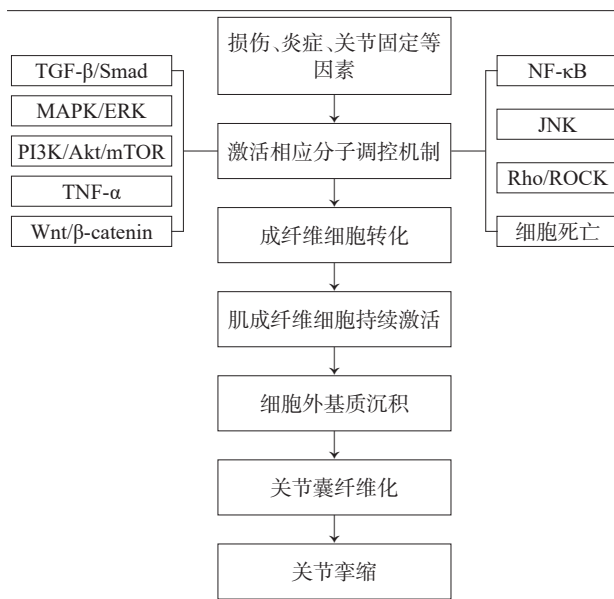
随着现代交通运输业和建筑业的发展,四肢创伤的发病率呈现逐渐上升的趋势,创伤后为促进组织愈合,常需行外固定或内固定手术治疗。与此同时,肢体长时间固定后,容易诱发关节挛缩。高发病率以及年龄结构相对较轻的特点,使得关节挛缩的发生不仅影响到个人的生存质量,同时也是家庭乃至整个社会的一大负担。关节挛缩进展过程中,涉及关节周围多种组织结构的病理生理学改变,而关节囊纤维化是引起关节挛缩最重要的因素,抗关节囊纤维化治疗或许可以成为关节挛缩治疗的基石。关节囊纤维化进展过程中,有许多分子调控机制参与发挥作用,对这些调控机制的深入研究有利于更好地预防和治疗该疾病。本文就关节囊纤维化及其调控机制在关节挛缩进展中的作用作一综述。

1 关节囊纤维化与关节挛缩

见图1。关节挛缩主要表现为受累关节的主被动活动受限,进而影响关节正常功能的发挥,引起患者日常生活活动能力降低^[1-2]。关节挛缩发生发展过程中,伴随着关节周围多种组织结构的病理生理改变。已有研究表明,关节挛缩的发生发展有骨、软骨、关节囊、韧带等构成的关节源性因素的促进作用,也有肌肉、肌腱、筋膜等组成的肌源性因素的推动作用^[3]。在上述影响因素中,关节囊纤维化被认为是关节挛缩最为重要的病理特征,同时也是关节挛缩最显著的诱发因素^[4]。关节囊纤维化指的是在损伤、炎症、关节固定等因素作用下,关节囊成纤维细胞向肌成纤维细胞转化,细胞外基质大量合成,纤维结缔组织增多,出现关节囊胶原纤维沉积、关节囊增厚等病理改变^[5]。Xiao D等^[6]在其研究中将肘关节挛缩患者关节松解时获得的18例肘关节囊,进行病理学以及分子学检测,研究结果表明,挛缩关节囊的成纤维细胞增殖增加,纤维化相关蛋白表达增加,提示关节囊纤维化水平较正常关节显著增高,关节囊纤维化可能是引起关节挛缩的重要原因。本课题组在前期研究中^[7],曾用管型石膏将兔一侧膝关节伸直位固定,制作兔膝关节伸直挛缩模型。研究结果

表明,在固定前8周,随着膝关节固定时间延长,关节挛缩程度逐渐加重,同时关节囊胶原沉积等纤维化改变逐渐恶化,提示关节囊的纤维化改变与关节挛缩进展相关。无论是临床研究还是动物实验研究,均提示关节囊纤维化程度与关节挛缩严重程度密切相关,抑制关节囊纤维化可以作为关节挛缩治疗的一个有效切入点。关节囊纤维化进程受到多种分子学机制的调控,深入了解这些分子调控机制对关节囊纤维化以及关节挛缩的影响,有利于我们清楚认识关节囊纤维化以及关节挛缩的发病机制,进而更好地防治该疾病。

图1 关节囊纤维化与关节挛缩的形成过程



2 调控关节囊纤维化的信号机制

2.1 TGF-β/Smad 信号通路

转化生长因子(transforming growth factor, TGF)-β/Smad 信号通路是机体内一种十分经典的信号通路,在生物

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2023.08.027

*基金项目:安徽省重点研究和开发计划项目(201904a07020067);安徽省卫生健康科研项目(AHWJ2022b063);安徽医科大学第二附属医院自然孕育计划项目(2022GMFY05);安徽医科大学2022年临床医学学科建设项目(临床医学合作培养高层次人才项目)(2022lcxkEFY04);安徽医科大学2022年临床医学学科建设项目(临床与前期共建学科项目)(2022lcxkEFY010)

1 安徽医科大学第二附属医院康复医学科,安徽省合肥市,230601; 2 安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理系; 3 通讯作者
第一作者简介:张全兵,男,博士研究生,主治医师; 收稿日期:2022-12-31

体多种生命活动如细胞生长、分化、迁移、侵袭和细胞外基质重塑中发挥重要作用^[8]。在此通路中,受体激活诱导 Smad 的 C 端磷酸化,进而与共介质 Smad、Smad4 形成复合物,Smad4 易位到细胞核,与基因启动子结合,发挥相应的生理学功能^[9]。TGF- β /Smad 是促进组织纤维化的经典通路,其活化过程涉及多种细胞因子、细胞外基质的相互作用^[10]。TGF- β 是一种多功能介质,可以调节多种细胞的增殖、分化、凋亡、迁移等过程,促进细胞外基质产生^[11]。在 TGF- β 的三种亚基中,TGF- β 1 与纤维化关系最为密切^[12]。TGF- β 1 常通过激活下游的 Smad2 或 Smad3 发挥作用,促进细胞的分化、增殖以及细胞外基质产生,促进成纤维细胞向肌成纤维细胞的转化,引起胶原的沉积以及 α -平滑肌肌动蛋白(α -Smooth muscle actin, α -SMA)表达的增高,进而引起组织纤维化的产生^[13-14]。Zhang Y 等^[15]在其研究中通过建立大鼠屈曲型膝关节挛缩模型探讨关节囊的分子学改变,发现后方关节囊 TGF- β 1 表达水平显著升高。而在体外实验中,对大鼠关节囊行原代细胞培养,然后应用重组 TGF- β 1 处理,结果表明 TGF- β 1 表达水平升高的同时, α -SMA、I 型胶原表达也有所升高。该研究从正向调控的角度,证实了 TGF- β 1 信号激活对关节囊纤维化进展的影响。Mao D 等^[16]在其研究中也制作了创伤性大鼠膝关节挛缩动物模型,并应用 TGF- β 抑制剂处理,结果表明 TGF- β 活性被抑制后,关节挛缩程度减轻,同时 I 型胶原、III 型胶原、 α -SMA、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达水平降低。该研究从反向抑制的角度,与 Zhang Y 等^[15]的研究形成互补,进一步证实了 TGF- β /Smad 信号通路的激活在关节囊纤维化以及关节挛缩进展中起到促进作用。TGF- β /Smad 信号通路在纤维化过程中研究最为广泛,在关节囊纤维化进程中也是业界广为认可的信号通路,它可以直接作用引起关节囊纤维化,同时也可以作为其他信号通路导致关节囊纤维化的媒介之一。但迄今为止,有关 TGF- β /Smad 信号通路在康复治疗干预改善关节囊纤维化中的介导作用研究仍较为匮乏,这也是今后的研究方向之一。

2.2 MAPK/ERK 信号通路

丝裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶信号通路(mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase, MAPK/ERK)是目前研究最为活跃的信号转导通路之一,可将细胞外刺激信号转导至细胞及其核内,引起细胞增殖、分化、转化及凋亡等一系列生物学反应^[17]。G 蛋白偶联受体、受体酪氨酸激酶和/或整合素诱导 Ras 结合的 GDP 与 GTP 的交换来募集和激活 Ras 蛋白^[18]。激活后,小 G 蛋白将 MAPK 激酶激酶(MAPK kinase kinase, MKKKs)c-Raf(A-Raf 和 B-Raf)招募到质膜上并激活。活化的 Raf 通过磷酸化丝氨酸残基激活 MEK-1/2。MEK-1/2 通过磷酸化 ERK-1/2 的苏氨酸和酪氨酸残基来激活 ERK-1/2^[19-20]。活化

的 ERK 可以磷酸化一些核内转录因子如 c-fos、c-Jun、Elk-1、c-myc 和 ATF2 等,从而直接参与细胞增殖与分化的调控。目前国内已有关于 MAPK/ERK 信号通路在关节囊纤维化中的研究。侯靖钊等^[21]在其研究中,探讨了外基质与膝关节创伤后纤维化的关系以及 ERK 信号通路在其中所起的介导作用。在其体内实验部分,构建兔膝关节创伤固定后关节粘连模型,进行苏木精-伊红染色、马松染色、天狼猩红染色、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)免疫组织化学染色。结果提示兔膝关节纤维化组织中外基质主要成分胶原合成增加,并且纤维化组织中的成纤维细胞数量及 PCNA 蛋白表达水平增加,提示外基质可能对膝关节术后纤维化有促进作用。在其体外实验部分,构建成纤维细胞来源的脱细胞外基质,对细胞计数、细胞增殖、细胞周期以及纤维化相关蛋白 PCNA、Cyclin D1 和 MAPK/ERK 信号通路相关蛋白 p-MEK、p-ERK 表达水平进行了检测。结果提示,与二维培养相比较,相同处理时间下脱细胞外基质中成纤维细胞处于增殖期的数量更多,纤维化相关蛋白 PCNA、Cyclin D1 和 MAPK/ERK 信号通路相关蛋白 p-MEK、p-ERK 的表达水平升高。以上实验提示,外基质可能通过激活 ERK 信号通路促进成纤维细胞的增殖及膝关节术后纤维化粘连的发生。Sun Y 等^[22]和 Li F 等^[23]在其研究中建立大鼠创伤性膝关节挛缩模型,探讨了 ERK-2 对关节囊纤维化的影响。研究结果表明,膝关节挛缩形成后,关节囊肌成纤维细胞的数量、总胶原含量增加,p-ERK2、总胶原、I 型胶原、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP-1)升高和 MMP-13 蛋白表达水平上调,而应用 ERK-2 siRNA 抑制 ERK-2 表达后,可以部分逆转上述变化过程。以上结果提示 ERK-2 信号的活化在关节囊纤维化进展过程中起到促进作用。上述研究主要从病理分子学角度,证实了 MAPK/ERK 信号通路激活在关节囊纤维化的介导作用。Zhang R 等^[24]应用支具固定制作大鼠膝关节挛缩模型,研究了静态渐进性牵伸联合体外冲击波对大鼠膝关节挛缩的治疗作用,并探讨了 MAPK/ERK 信号通路在其中所起的介导作用。研究结果提示,大鼠膝关节伸直位固定后,大鼠膝关节活动度明显受限,同时关节囊胶原沉积增加,RAS、ERK-2、TGF- β 1、成纤维细胞生长因子(fibroblasts growth factor-2, FGF-2)表达增加,而应用静态渐进性牵伸联合体外冲击波治疗可以部分改善上述过程。该研究进一步证实 MAPK/ERK 信号通路是关节挛缩进程中关节囊纤维化的主要调控机制之一。应用针对性药物治疗或者康复治疗干预,靶向抑制纤维化关节囊中 MAPK/ERK 信号通路的激活,是关节挛缩治疗的思路之一。

2.3 PI3K/Akt/mTOR 信号通路

磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3 kinase, PI3K)是由调节亚基 p85 和催化亚基 p110 构成的二聚体。当它与生

长因子受体(如EGFR)结合后,可改变蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)的蛋白结构并使其活化,并以磷酸化作用改变下游一系列底物的活性,调节细胞的增殖、分化、凋亡和迁移等^[25-26]。在关节挛缩的关节囊纤维化进程中,PI3K/Akt/雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路也发挥着重要的调控作用。Liu Y等^[27]在其研究中建立了兔创伤性屈曲型膝关节挛缩模型,探讨了依维莫司对膝关节创伤固定后关节纤维化的影响,结果表明依维莫司可通过抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路,活化自噬介导的成纤维细胞凋亡,进而改善关节囊纤维化。提示PI3K/Akt/mTOR信号活化可能对自噬介导的成纤维细胞凋亡产生抑制作用,进而促进外伤固定后膝关节纤维化。Zhuang Z等^[28]在其研究中进行了体外实验验证PI3K/Akt/mTOR信号通路在关节囊纤维化中的作用,其通过获取挛缩关节囊组织,对成纤维细胞进行分离以及原代细胞培养,并对挛缩关节囊组织应用姜黄素处理,探讨了姜黄素对挛缩关节囊纤维化的影响,结果表明姜黄素可以通过使磷酸酶和紧张素同源蛋白(phosphatase and tensin homolog, PTEN)去甲基化,抑制PI3K/Akt/mTOR信号,进而抑制关节囊纤维化。提示PI3K/Akt/mTOR信号通路可促进关节囊纤维化,同时此过程受PTEN信号调控,而姜黄素治疗可以使上述过程有所改观。总之,PI3K/Akt/mTOR信号通路的激活在关节囊纤维化进程中发挥着驱动作用。既往相关研究主要集中于PI3K/Akt/mTOR信号通路在药物治疗改善关节囊纤维化以及关节挛缩中的介导作用,关于康复治疗干预对PI3K/Akt/mTOR信号通路的影响研究仍然匮乏,这将是今后研究的方向之一。

2.4 TNF- α 信号通路

肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)通过与细胞膜上的特异性受体结合,促进细胞生长、分化、凋亡及诱发炎症^[29]。目前已有关于TNF- α 在关节囊纤维化进展中发挥作用的有关报道。闵红巍等^[30]在其研究中取冻结肩患者关节囊滑膜组织,检测了TNF- α 等炎症细胞因子以及纤维化细胞因子的表达,研究结果表明TNF- α 可以作为一个促炎症以及纤维化因子,促进冻结肩患者的关节囊纤维化。为了证实TNF- α 在挛缩关节囊纤维化中所起的作用,Matyasovszky SG等^[31]在其研究中提取人髋关节囊组织,对成纤维细胞进行分离以及原代细胞培养,应用不同浓度的TNF- α 处理,探讨了TNF- α 对人挛缩关节囊肌成纤维细胞的影响,结果表明TNF- α 可通过促进前列腺素E2的合成,进而促进关节囊成纤维细胞增殖。该研究结果提示TNF- α 信号通路的激活也是关节挛缩形成过程中关节囊纤维化的诱发机制之一。作为一个重要的炎症因子,TNF- α 可能与其他许多信号通路产生协同作用。以TNF- α 作为切入点,深入研究TNF- α 以及其他相关协同作用机制在关节囊纤维化以及关节挛缩中的作

用,对于关节挛缩的防治也有着重要的理论意义。

2.5 Wnt/ β -catenin信号通路

Wnt信号通路广泛存在于无脊椎动物和脊椎动物中,是一类在物种进化过程中极为保守的信号通路。Wnt是一类分泌型糖蛋白,在外界因素刺激下,可以通过自分泌或旁分泌与细胞表面特异性受体相互作用,通过一系列下游蛋白的磷酸化和去磷酸化过程,引起 β -catenin积累,调节基因表达,发挥相应的生理学功能^[32-33]。Wnt/ β -catenin信号通路的激活也会发挥促纤维化作用。 β -catenin进入细胞核后,可促进纤维化相关基因如纤连蛋白、I型胶原的表达,促进纤维化的发生^[34]。Liao B等^[35]在其研究中建立小鼠膝关节关节炎模型,结果表明在该模型的关节囊纤维化过程中,伴有Wnt/ β -catenin信号的激活,低强度脉冲超声在抑制Wnt/ β -catenin信号的同时可以改善关节囊纤维化。Lietman C等^[36]在其研究中同样建立了小鼠膝关节关节炎模型,结果表明在小鼠滑膜成纤维细胞中,Wnt/ β -catenin信号被高度激活。而应用Wnt抑制剂处理抑制Wnt/ β -catenin信号后,滑膜纤维化水平减弱。以上研究均提示Wnt/ β -catenin信号的激活可以诱导关节囊纤维化,抑制Wnt/ β -catenin信号是关节囊纤维化治疗的一个切入点。目前关于Wnt/ β -catenin信号通路在关节囊纤维化过程发挥作用的研究主要见于骨关节炎领域,而在关节挛缩进展过程中的关节囊纤维化研究相对较为匮乏。考虑到不同组织的纤维化进程应该具有类似的病理变化基础,我们认为,关节挛缩伴随的关节囊纤维化过程中,也可能有Wnt/ β -catenin信号通路的激活。除了单独发挥作用以外,有研究表明,Wnt/ β -catenin信号通路还可以与TGF- β /Smad信号通路产生协同作用,促进纤维化过程的发生发展^[37]。今后可通过构建关节挛缩动物模型,深入探讨Wnt/ β -catenin信号通路在关节挛缩伴随关节囊纤维化中的作用,并研究Wnt/ β -catenin信号通路与TGF- β /Smad信号通路在关节挛缩伴随关节囊纤维化过程中的协同作用,为临床上关节挛缩的治疗提供理论参考。

2.6 NF- κ B信号通路

核因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)是一种能与免疫球蛋白K轻链基因增强子 κ B序列(GGGACTTTC)特异结合,调节其基因表达的核蛋白因子^[38]。它可以与多种基因启动子部位相应的 κ B位点发生特异性结合,促进其转录表达,发挥相应的生理学功能。有研究提示NF- κ B信号通路在肝脏、肾脏、肺脏等多种组织纤维化进程中发挥作用^[39-41]。而在关节囊纤维化方面,目前主要见于类风湿性关节炎研究领域。NF- κ B是类风湿性关节炎进展中滑膜炎性反应重要的炎性细胞信号转导通道,其可通过IKK的激活,促进IKB磷酸化修饰,引起p65与p50的大量产生,起到调控炎症反应的作用^[42]。Fu Q等^[43]在其研究中探讨了高良姜黄

素对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞的作用,结果表明高良姜黄素可以通过抑制NF- κ B/核苷酸结合寡聚化结构域样受体3(nod-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)信号有效减轻成纤维样滑膜细胞的炎症反应,减轻成纤维样滑膜细胞增生。Jing M等^[44]在其研究中探讨了雷公藤红素对类风湿性关节炎的治疗作用,结果表明雷公藤红素可以有效减轻类风湿性关节炎的炎症、滑膜增生等过程,此作用可能与对活性氧(reactive oxygen species, ROS)-NF- κ B-NLRP3信号轴的抑制作用相关。以上研究结果均提示NF- κ B/NLRP3信号通路可以在类风湿性关节炎的关节囊纤维化进程起调控作用。尽管关节挛缩进程中的关节囊纤维化与类风湿性关节炎的关节囊滑膜增生纤维化起病原因不同,但两者都有着早期炎症继而纤维化的病理变化过程^[45]。因而,NF- κ B信号通路也可能在固定所致关节囊纤维化过程中发挥作用,深入研究NF- κ B信号通路在固定所致关节囊纤维化以及关节挛缩中的介导作用也有着重要的理论意义。

2.7 JNK信号通路

JNK又被称为应激活化蛋白激酶(stress activated protein kinase, SAPK),能在c-Jun基因的氨基端第63和73位磷酸化丝氨酸残基^[46]。在刺激因素作用下,MAPK、MAPK激酶和MAP2K激酶等多级蛋白激酶磷酸化,然后通过对酪氨酸和苏氨酸残基的双重磷酸化来激活不同的JNK异构体的活性^[47]。JNK磷酸化后可激活转录因子激活蛋白-1,进而激活其下游的转录因子,产生相应的生物学效应^[48]。JNK信号通路也是一种经典的促纤维化信号通路,在肝脏、肾脏等多种组织的纤维化过程中发挥作用^[49-50]。而在关节囊纤维化方面,主要见于类风湿性关节炎相关研究。唐敏等^[51]在其研究中探讨了马钱子碱对人类类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞增殖以及JNK信号通路的影响,结果表明马钱子碱可以在减轻成纤维样滑膜细胞增殖的同时,抑制JNK信号水平。该结果提示JNK信号通路可能促进类风湿关节炎中的关节囊纤维化。类风湿性关节炎和关节挛缩发病原因不同,但最终都会引起关节囊纤维化的病理变化过程,因而,我们认为,能在类风湿性关节炎的关节囊纤维化进程中起调控作用的JNK信号通路也可能在关节挛缩的关节囊纤维化进展中起到重要的调控作用,这也是今后需要探索的研究方向之一。

2.8 其他信号通路

除了以上这些在关节囊纤维化中研究相对较多的信号通路外,尚有其他分子信号机制参与了组织纤维化过程。如Rho/ROCK信号通路是一种比较经典的信号通路,在人体肝脏、肾脏、肺脏等多种组织纤维化过程中均发挥作用^[52-54],而目前为止鲜有其在关节囊纤维化过程中的研究报道。细胞死亡是近些年来国内外研究的热点,已有研究发现组织纤维

化过程也受到细胞死亡过程的调控,如凋亡、自噬、细胞焦亡、铁死亡均有在组织纤维化过程中发挥调控作用的报道^[55-58]。而有关细胞死亡在关节囊纤维化以及关节挛缩进展中的研究仍处于初步探索阶段。尽管其他组织纤维化与关节囊纤维化的细胞损伤与组织情况有所差异,但纤维化进程由确定的分子信号序列和细胞应答机制决定,因而我们认为这些信号通路也可能对关节挛缩伴随关节囊纤维化过程产生影响,这也是今后研究的一个方向。

3 小结与展望

关节挛缩是目前临床上的常见疾病,严重以及晚期的关节挛缩治疗十分困难。寻找到针对性有效的治疗靶点,早期及时的干预对于改善患者的预后至关重要。关节囊纤维化是关节挛缩的一个重要表型。大量的实验证据均表明,关节囊纤维化在关节挛缩形成过程中起着重要的促进作用。而关节囊纤维化过程受到多种分子机制的精确调控。

目前国内外已有关于TGF- β /Smad信号通路、MAPK/ERK信号通路、PI3K/Akt/mTOR信号通路以及TNF- α 信号通路在关节挛缩伴随关节囊纤维化进程中作用的有关研究,后期可进一步深入研究康复治疗干预对关节挛缩以及关节囊纤维化进程中这些信号通路活化状态的影响。Wnt/ β -catenin信号通路在骨关节炎伴随关节囊纤维化进程中研究较多,NF- κ B信号通路以及JNK信号通路在类风湿性关节炎伴随关节囊纤维化进程中研究较多,今后将深入研究关节挛缩进程中Wnt/ β -catenin信号通路、NF- κ B信号通路以及JNK信号通路在纤维化关节囊中的活化状况。目前Rho/ROCK信号通路以及细胞死亡机制在纤维化进程中的研究主要集中于肝脏、肾脏、肺脏等组织,考虑到不同组织纤维化伴随有类似的病理变化过程,深入研究这些通路在关节挛缩伴随关节囊纤维化中的作用也有着重要的理论意义。

从分子信号调控的角度深入研究关节挛缩形成过程中关节囊纤维化的发生机制,寻找相应的治疗靶点,为临床上关节挛缩及时有效的干预提供理论依据,将是将来研究的重点。

参考文献

- [1] Jiang S, He R, Zhu L, et al. Endoplasmic reticulum stress-dependent ROS production mediates synovial myofibroblastic differentiation in the immobilization-induced rat knee joint contracture model[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 369(2): 325-334.
- [2] David MA, Reiter AJ, Dunham CL, et al. Pleiotropic effects of simvastatin and losartan in preclinical models of post-traumatic elbow contracture[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10:803403.
- [3] Zhang QB, Zhou Y, Zhong HZ, et al. Effect of stretching combined with ultrashort wave diathermy on joint function and its possible mechanism in a rabbit knee contracture

- model[J]. *Am J Phys Med Rehabil*, 2018, 97(5): 357—363.
- [4] Kaneguchi A, Ozawa J, Minamimoto K, et al. Active exercise on immobilization-induced contractured rat knees develops arthrogenic joint contracture with pathological changes[J]. *Appl Physiol* (1985), 2018, 124(2):291—301.
- [5] Atluri K, Brouillette MJ, Seol D, et al. Sulfasalazine resolves joint stiffness in a rabbit model of arthrofibrosis[J]. *J Orthop Res*, 2020, 38(3): 629—638.
- [6] Xiao D, Liang T, Zhuang Z, et al. Lumican promotes joint fibrosis through TGF- β signaling[J]. *FEBS Open Bio*, 2020, 10(11):2478—2488.
- [7] Zhou Y, Zhang QB, Zhong HZ, et al. Rabbit model of extending knee joint contracture: progression of joint motion restriction and subsequent joint capsule changes after immobilization[J]. *J Knee Surg*, 2020, 33(1):15—21.
- [8] Lopez-Rodriguez E, Boden C, Echaide M, et al. Surfactant dysfunction during overexpression of TGF- β 1 precedes profibrotic lung remodeling in vivo[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2016, 310(11): L1260—L1271.
- [9] Wu X, Wang H, Chen H, et al. Overexpression of smad7 inhibits the TGF- β /Smad signaling pathway and EMT in NHP1- defective MDCK cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 582:57—63.
- [10] Li Y, Yu Z, Zhao D, et al. Corilagin alleviates hypertrophic scars via inhibiting the transforming growth factor (TGF)- β /Smad signal pathway[J]. *Life Sci*, 2021, 277: 119483.
- [11] Eser PO, Janne PA. TGF β pathway inhibition in the treatment of non-small cell lung cancer[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 184:112—130.
- [12] Zou LL, Li JR, Li H, et al. TGF- β isoforms inhibit hepatitis C virus propagation in transforming growth factor beta/SMAD protein signalling pathway dependent and independent manners[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(7): 3498—3510.
- [13] Marhemati F, Rezaei R, Meybodi AM, et al. Transforming growth factor beta 1 (TGF β 1) polymorphisms and unexplained infertility: a genetic association study[J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2020, 66(4): 267—280.
- [14] Liu J, Zhao B, Zhu H, et al. Wnt4 negatively regulates the TGF- β 1-induced human dermal fibroblast-to-myofibroblast transition via targeting Smad3 and ERK[J]. *Cell Tissue Res*, 2020, 379(3): 537—548.
- [15] Zhang Y, Liu Z, Wang K, et al. Macrophage migration inhibitory factor regulates joint capsule fibrosis by promoting TGF- β 1 production in fibroblasts[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(7): 1837—1850.
- [16] Mao D, Mi J, Pan X, et al. Suppression of TGF-beta activity with remobilization attenuates immobilization-induced joint contracture in rats[J]. *Injury*, 2021, 52(3):434—442.
- [17] Asl ER, Amini M, Najafi S, et al. Interplay between MAPK/ERK signaling pathway and MicroRNAs: a crucial mechanism regulating cancer cell metabolism and tumor progression[J]. *Life Sci*, 2021, 278(21):119499.
- [18] Zhong FJ, Li YM, Xu C, et al. EB2 promotes hepatocellular carcinoma proliferation and metastasis via MAPK/ERK pathway by modulating microtubule dynamics[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2021, 135(7):847—864.
- [19] Geetha N, Mihaly J, Stockenhuber A, et al. Signal integration and coincidence detection in the mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase (ERK) cascade: concomitant activation of receptor tyrosine kinases and of LRP-1 leads to sustained ERK phosphorylation via down-regulation of dual specificity phosphatases (DUSP1 and -6)[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(29):25663—25674.
- [20] Merighi S, Benini A, Mirandola P. A3 adenosine receptor activation inhibits cell proliferation via phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt-dependent inhibition of the extracellular signal-regulated kinase 1/2 phosphorylation in A375 human melanoma cells[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(20): 19516—19526.
- [21] 侯靖钊, 张振. 外基质激活ERK信号通路促进成纤维细胞增殖及膝关节术后的纤维化[J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(26): 4168—4174.
- [22] Sun Y, Li F, Fan C. Effect of pERK2 on extracellular matrix turnover of the fibrotic joint capsule in a post-traumatic joint contracture model[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(2): 547—552.
- [23] Li F, Liu S, Fan C. Lentivirus-mediated ERK2 siRNA reduces joint capsule fibrosis in a rat model of post-traumatic joint contracture[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(10): 20833—20844.
- [24] Zhang R, Zhang QB, Zhou Y, et al. Possible mechanism of static progressive stretching combined with extracorporeal shock wave therapy in reducing knee joint contracture in rats based on MAPK/ERK pathways[J]. *Biomol Biomed*, 2023, 23(2): 277—286.
- [25] Zheng X, Li W, Xu H, et al. Sinomenine ester derivative inhibits glioblastoma by inducing mitochondria-dependent apoptosis and autophagy by I3K/AKT/mTOR and AMPK/mTOR pathway[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(11):3465—3480.
- [26] Liu W, Zhan J, Zhong R, et al. Upregulation of long noncoding RNA GAS5 suppresses cell proliferation and metastasis in laryngeal cancer via regulating PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2021, 20: 1533033821990074.
- [27] Liu Y, Zhang Z, Yan L, et al. Everolimus reduces post-operative arthrofibrosis in rabbits by inducing autophagy-mediated fibroblast apoptosis by PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 533(1):1—8.
- [28] Zhuang Z, Yu D, Chen Z, et al. Curcumin inhibits joint contracture through PTEN demethylation and targeting PI3K/Akt/mTOR pathway in myofibroblasts from human joint capsule[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 4301238.
- [29] Li QY, Xu HY, Yang HJ. Effect of proinflammatory factors TNF- α , IL-1 β , IL-6 on neuropathic pain[J]. *Zhongguo*

- Zhong Yao Za Zhi, 2017, 42(19):3709—3712.
- [30] 闵红巍, 刘克敏, 曲铁兵, 等. 冻结肩患者肩关节致纤维化细胞因子和炎症细胞因子的表达[J]. 中国康复理论与实践, 2017, 23(1):97—100.
- [31] Mattyasovszky SG, Hofmann A, Brochhausen C, et al. The effect of the pro-inflammatory cytokine tumor necrosis factor- α on human joint capsule myofibroblasts[J]. Arthritis Res Ther, 2010, 12(1):R4.
- [32] Feng Y, Ren J, Gui Y, et al. Wnt/ β -catenin-promoted macrophage alternative activation contributes to kidney fibrosis[J]. J Am Soc Nephrol, 2018, 29(1):182—193.
- [33] Starker LF, Fonseca AL, Fonseca A, et al. Evidence of a stabilizing mutation of β -catenin encoded by CTNNB1 exon 3 in a large series of sporadic parathyroid adenomas[J]. Endocrine, 2012, 42(3):612—615.
- [34] Pan B, Zhang H, Hong Y, et al. Indoleamine-2,3-dioxygenase activates Wnt/ β -catenin inducing kidney fibrosis after acute kidney injury[J]. Gerontology, 2021, 67(5):611—619.
- [35] Liao B, Guan M, Tan Q, et al. Low-intensity pulsed ultrasound inhibits fibroblast-like synovocyte proliferation and reduces synovial fibrosis by regulating Wnt/ β -catenin signaling[J]. J Orthop Translat, 2021, 30:41—50.
- [36] Lietman C, Wu B, Lechner S, et al. Inhibition of Wnt/ β -catenin signaling ameliorates osteoarthritis in a murine model of experimental osteoarthritis[J]. JCI Insight, 2018, 3(3):e96308.
- [37] Hu L, Wang Y, Wan Y, et al. Tangshen formula improves diabetes-associated myocardial fibrosis by inhibiting TGF- β /Smads and Wnt/ β -catenin pathways[J]. Front Med (Lausanne), 2021, 8:732042.
- [38] Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences[J]. Cell, 1986, 46(5):705—716.
- [39] Kang HH, Kim IK, Lee HI, et al. Chronic intermittent hypoxia induces liver fibrosis in mice with diet-induced obesity via TLR4/MyD88/MAPK/NF- κ B signaling pathways[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 490(2):349—355.
- [40] Li R, Guo Y, Zhang Y, et al. Salidroside ameliorates renal interstitial fibrosis by inhibiting the TLR4/NF- κ B and MAPK signaling pathways[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(5):1103.
- [41] Peng L, Wen L, Shi QF, et al. Scutellarin ameliorates pulmonary fibrosis through inhibiting NF- κ B/NLRP3-mediated epithelial-mesenchymal transition and inflammation[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(11):978.
- [42] Wang X, Chen X, Huang W, et al. Losartan suppresses the inflammatory response in collagen-induced arthritis by inhibiting the MAPK and NF- κ B pathways in B and T cells[J]. Inflammopharmacology, 2019, 27(3):487—502.
- [43] Fu Q, Gao Y, Zhao H, et al. Galangin protects human rheumatoid arthritis fibroblast like synoviocytes via suppression of the NF- κ B/NLRP3 pathway[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(4):3619—3624.
- [44] Jing M, Yang J, Zhang L, et al. Celastrol inhibits rheumatoid arthritis through the ROS-NF- κ B-NLRP3 inflammatory axis[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 98:107879.
- [45] Kaneguchi A, Ozawa J, Minamimoto K, et al. Low-level laser therapy prevents treadmill exercise-induced progression of arthrogenic joint contracture via attenuation of inflammation and fibrosis in remobilized rat knees[J]. Inflammation, 2019, 42(3):857—873.
- [46] Wagner EF, Nebreda ÁR. Signal integration by JNK and p38 MAPK pathways in cancer development[J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(8):537—549.
- [47] Zhang D, Zheng Q, Wang C. BHLHE41 suppresses MCF-7 cell invasion via MAPK/JNK pathway[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(7):4001—4010.
- [48] Subedi L, Lee JH, Yumnam S, et al. Anti-inflammatory effect of sulforaphane on LPS-activated microglia potentially through JNK/AP-1/NF- κ B inhibition and Nrf2/HO-1 activation[J]. Cells, 2019, 8(2):194.
- [49] Liang QS, Xie JG, Yu CP, et al. Splenectomy improves liver fibrosis via tumor necrosis factor superfamily 14 (LIGHT) through the JNK/TGF- β 1 signaling pathway[J]. Exp Mol Med, 2021, 53(3):393—406.
- [50] Sang Y, Tsuji K, Fukushima K, et al. Semaphorin3A inhibitor ameliorates renal fibrosis through the regulation of JNK signaling[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2021, 321(6):F740—F756.
- [51] 唐敏. 马钱子碱对TNF- α 诱导人类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞的增殖影响的MAPK通路中JNK调控的研究[M]. 泸州医学院, 2015.
- [52] Zhong Y, Xu M, Hu J, et al. Inhibiting Th1/2 cells influences hepatic capillarization by adjusting sinusoidal endothelial fenestrae through Rho-ROCK-myosin pathway[J]. Aging, 2021, 13(4):5069—5086.
- [53] Park JW, Park CH, Kim IJ, et al. Rho kinase inhibition by fasudil attenuates cyclosporine-induced kidney injury[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2011, 338(1):271—279.
- [54] Yan J, Tang Y, Zhong X, et al. ROCK inhibitor attenuates carbon blacks-induced pulmonary fibrosis in mice via Rho/ROCK/NF- κ B pathway[J]. Environ Toxicol, 2021, 36(7):1476—1484.
- [55] An R, Wang X, Yang L, et al. Polystyrene microplastics cause granulosa cells apoptosis and fibrosis in ovary through oxidative stress in rats[J]. Toxicology, 2020, 449:152665.
- [56] Zhang XW, Zhou JC, Peng D, et al. Disrupting the TRIB3-SQSTM1 interaction reduces liver fibrosis by restoring autophagy and suppressing exosome-mediated HSC activation[J]. Autophagy, 2019, 16(5):1—14.
- [57] Li Y, Yuan Y, Huang ZX, et al. GSDME-mediated pyroptosis promotes inflammation and fibrosis in obstructive nephropathy[J]. Cell Death Differ, 2021, 28(8):2333—2350.
- [58] Kong Z, Liu R, Cheng Y. Artesunate alleviates liver fibrosis by regulating ferroptosis signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 109:2043—2053.