

糖尿病足溃疡氧化应激-免疫微环境失衡及硅基材料的潜在干预靶点研究

孙 娟 牛旭东 (通讯作者)

宁夏医科大学附属银川市妇幼保健院 宁夏 银川 750001

【摘 要】目的：基于公共转录组数据描述糖尿病足溃疡（DFU）的氧化应激、炎症和组织修复相关表达特征，并探索硅基生物活性材料的潜在作用靶点。方法：获取 GEO 数据集 GSE80178 中 6 例 DFU 组织及 6 例足部皮肤对照（3 例糖尿病非溃疡足、3 例非糖尿病足）的作者处理数据。按 $FDR < 0.05$ 且 $|\log_2FC| > 1$ 筛选差异表达条目，围绕 Nrf2/NF- κ B、炎症因子、巨噬细胞标志物、细胞外基质、表皮分化及血管内皮相关基因开展预设靶向分析。结果：共获得 4085 个差异表达条目，其中 991 个上调、3094 个下调。NFE2L2 下调，而 HMOX1、TXN 及 PTGS2 上调；IL1A、IL1B 和 CCL20 升高。CD68 升高，CD163、MRC1 和 ARG1 降低；同时 MMP1 显著升高，COL1A2、ACTA2、CDH5、VWF 和 TEK 降低。结论：DFU 组织呈现抗氧化调控异常、持续炎症以及基质与血管修复受损并存的转录特征。该结果支持将 Nrf2/NF- κ B-IL-1/MMP 轴作为硅基材料的候选验证方向，但不能据此证明细胞极化状态、通路活性或材料疗效，仍需独立队列和实验验证。

【关键词】：糖尿病足溃疡；转录组；氧化应激；免疫微环境；硅基生物活性材料

DOI:10.12417/2811-051X.26.12.004

1 引言

糖尿病足溃疡（diabetic foot ulcer, DFU）复发率高，并显著增加感染、截肢和死亡风险^[1-2]。其慢性化与氧化还原失衡、炎症消退障碍、细胞外基质（ECM）重塑异常和血管修复不足相互交织^[3]。然而，这些过程在同一人组织数据中的协同变化仍需进一步梳理。

GSE80178 的原始研究比较 DFU 与足部皮肤，揭示 miR-15b-5p 相关 DNA 修复和炎症调节异常^[4]。另一方面，生物活性玻璃可释放硅、钙等离子，其促血管生成、抗菌和组织修复效应受到关注^[5]；载硅壳聚糖水凝胶亦已在感染性糖尿病创面模型中显示修复潜力^[6]。现有证据主要来自材料表征和临床前研究，尚不足以建立“硅离子-氧化还原-免疫重塑”的人组织因果链。本研究据此对 GSE80178 进行预设基因集再分析，旨在提出可检验的候选机制，而非直接评价材料疗效。

2 材料与方法

2.1 数据来源与研究设计

从 GEO 获取 GSE80178（GPL16686, Affymetrix Human Gene 2.0 ST Array）作者处理数据^[4]。纳入 6 例 DFU 创面组织和 6 例足部皮肤对照；后者包括 3 例糖尿病非溃疡足和 3 例非糖尿病足。本研究属于基于公开、去标识数据的探索性二次分析。

2.2 差异筛选与靶向分析

沿用数据文件中的 $\log_2FC$ 及多重检验校正结果，以 $FDR < 0.05$ 且 $|\log_2FC| > 1$ 为阈值。预设基因集涵盖 Nrf2/NF- κ B

信号、炎症因子与趋化因子、巨噬细胞相关标志物、MMP/TIMP、角质形成细胞分化、成纤维细胞/ECM、内皮/血管生成及细胞周期相关基因，共 120 个基因。使用 Python 3.11、matplotlib 和 seaborn 完成整理与可视化。本分析基于群组差异结果，不进行个体水平免疫浸润估计，也不将单个标志物变化等同于细胞比例或通路活性变化。

3 结果

3.1 差异表达概况

按既定阈值获得 4085 个差异表达条目，其中 991 个上调、3094 个下调，下调占 75.7%（图 1）。该计数来自本研究采用的处理表和筛选口径，与 GEO 页面所述约 3900 个 DFU 特异调控基因并非完全相同的统计口径^[4]。

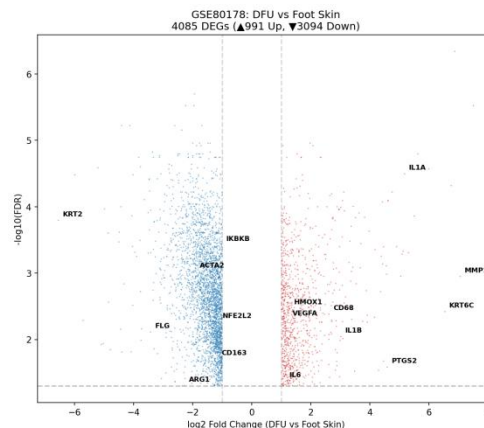


图 1 GSE80178 中 DFU 与足部皮肤对照的差异表达火山图

3.2 氧化应激与炎症相关特征

NFE2L2 下调 ($\log_2FC=-1.14$, $FDR=5.5\times10^{-3}$), 而 HMOX1 (+1.28)、SRXN1 (+1.28) 和 TXN (+1.96) 升高; PTGS2 明显升高 (+4.58)。炎症相关基因 IL1A (+5.17)、IL1B (+3.01)、CCL20 (+3.17)、IL6 (+1.13) 和 CXCL5 (+1.45) 升高, CXCL12 降低 (-1.50)。ROS 与 NF- κ B 之间存在双向调控^[7], Nrf2 与 NF- κ B 亦可发生转录层面的交叉调节^[8]; 但本数据仅反映 mRNA 丰度, NFE2L2 降低而部分下游基因升高应解释为氧化应激相关的非一致性表达, 而非“Nrf2 耗竭”或通路活性的直接证据。

3.3 免疫与组织修复相关特征

CD68 升高 (+2.61), 而 CD163 (-1.17)、MRC1 (-1.03) 和 ARG1 (-2.28) 降低, 提示巨噬细胞相关表达谱偏向促炎, 但不能仅凭少数标志物判定 M1/M2 细胞比例^[9-10]。表皮应激相关 KRT6C、KRT6B、KRT16 和 IVL 升高, 终末分化相关 KRT2、FLG 和 LOR 降低。ECM 方面, MMP1 升幅最大 (+7.05), MMP3、MMP10 和 MMP12 亦升高, 而 COL1A2、ACTA2、TGFB2 和 TIMP2 降低。VEGFA 升高 (+1.23), 但内皮连接/稳态相关 CDH5 (-1.26)、VWF (-1.12) 和 TEK (-1.09) 降低。综合表达景观见图 2, 代表性基因见表 1。

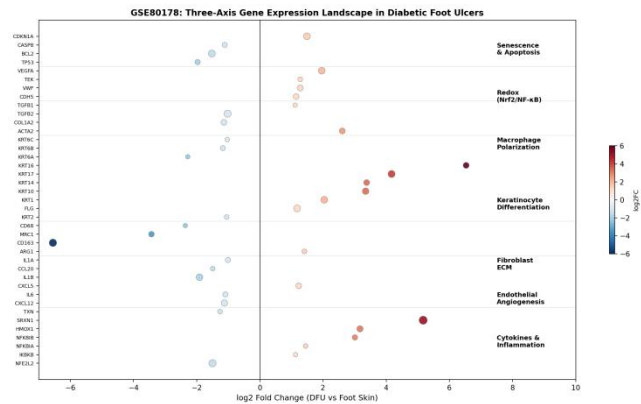


图 2 显著差异靶向基因的表达景观; 颜色表示 $\log_2FC$, 点大小表示 $-\log_{10} FDR$

表 1 代表性差异表达基因

功能类别	基因	$\log_2FC$	FDR
氧化应激	NFE2L2	-1.14	5.5×10^{-3}
氧化应激	HMOX1	+1.28	3.4×10^{-3}
氧化应激	TXN	+1.96	8.9×10^{-4}
炎症	PTGS2	+4.58	2.6×10^{-2}

炎症	IL1A	+5.17	3.2×10^{-5}
炎症	IL1B	+3.01	9.1×10^{-3}
巨噬细胞相关	CD68	+2.61	4.2×10^{-3}
巨噬细胞相关	CD163	-1.17	<0.05
巨噬细胞相关	MRC1	-1.03	<0.05
巨噬细胞相关	ARG1	-2.28	5.0×10^{-2}
ECM/内皮	MMP1	+7.05	1.1×10^{-3}
ECM/内皮	COL1A2	-1.49	<0.05
ECM/内皮	ACTA2	-1.91	<0.05
ECM/内皮	CDH5	-1.26	<0.05

4 讨论

本研究的核心发现是: DFU 组织同时存在氧化应激应答不协调、IL-1 相关炎症增强、修复性巨噬细胞标志物降低以及 ECM 降解/合成失衡。既往研究指出, 糖尿病创面中过量 ROS 可扰乱 ECM 沉积^[3], Nrf2 受抑可延迟创面愈合并维持炎症^[11]。本研究中 NFE2L2 降低与 IL1A/IL1B、PTGS2 和多种 MMP 升高并存, 与上述机制方向一致; 然而, HMOX1 和 TXN 升高也提示应激代偿或细胞组成差异, 不能据此概括为单向的“Nrf2 钝化→NF- κ B 炎症风暴”。

CD68 升高而 CD163、MRC1 和 ARG1 降低, 支持促炎性巨噬细胞相关转录特征。巨噬细胞具有连续且可塑的状态谱, 而非严格二分的 M1/M2 类别; 其异常激活可影响上皮、内皮和成纤维细胞修复^[9]。因此, 本研究将该结果表述为“标志物组合变化”, 避免把混合组织的 mRNA 差异直接解释为极化比例。MMP1 显著升高并伴随 COL1A2、ACTA2 和 TIMP2 降低, 则为 ECM 净降解倾向提供了较直接的表达证据。

硅基生物活性材料的转化意义应被界定为待验证假设。生物活性玻璃及其离子溶出产物可影响血管生成、抗菌和修复过程^[5], 载硅水凝胶的动物研究也提供了临床前依据^[6]。结合本研究结果, 后续可优先检测材料处理后 ROS、NFE2L2 核转位、HO-1、NF- κ B p65 磷酸化、IL-1 β 、MMP1 及胶原沉积, 并通过 NFE2L2 抑制/敲低验证依赖性。只有当材料干预、通路变化和愈合表型在同一实验体系内形成时间与剂量关系, 才能支持机制链条。

本研究局限包括：样本量仅 12 例；对照组混合糖尿病与非糖尿病足皮肤，糖尿病效应无法完全分离；使用作者处理的群组差异结果，不能开展可靠的个体水平校正、免疫反卷积或预测建模；混合组织表达受细胞组成影响；未设置独立转录组、单细胞或实验验证；差异条目计数与原研究报告的基因计数口径存在差异。因而，本文结论限于假设生成。未来应在独立 DFU 队列中进行细胞类型定位，并以硅材料干预实验验证

Nrf2/NF- κ B-IL-1/MMP 轴。

5 结论

GSE80178 显示，DFU 组织具有氧化应激调控异常、促炎相关表达增强以及表皮分化、ECM 和内皮稳态受损的协同特征。Nrf2/NF- κ B-IL-1/MMP 轴可作为硅基生物活性材料的优先验证方向，但现有数据不能证明细胞极化、通路活性或治疗效应。

参考文献：

- [1] Armstrong DG,Boulton AJM,Bus SA.Diabetic foot ulcers and their recurrence.N Engl J Med.2017;376(24):2367-2375.
- [2] Schaper NC,van Netten JJ,Apelqvist J,et al.Practical guidelines on the prevention and management of diabetes-related foot disease (IWGDF 2023 update).Diabetes Metab Res Rev.2024;40(3):e3657.
- [3] Kunkemoeller B,Kyriakides TR.Redox signaling in diabetic wound healing regulates extracellular matrix deposition.Antioxid Redox Signal.2017;27(12):823-838.
- [4] Ramirez HA,Pastar I,Jozic I,et al.Genomic profiling of diabetic foot ulcers identifies miR-15b-5p as a major regulator that leads to suboptimal inflammatory response and diminished DNA repair mechanisms.J Invest Dermatol.2018;138(2):364-374.
- [5] Mehrabi T,Mesgar AS,Mohammadi Z.Bioactive glasses:a promising therapeutic ion release strategy for enhancing wound healing.ACS Biomater Sci Eng.2020;6(10):5399-5430.
- [6] Xu J,Lin Y,Wang Y,et al.Multifunctional regeneration silicon-loaded chitosan hydrogels for MRSA-infected diabetic wound healing. Adv Healthc Mater.2024;13(10):e2303501.
- [7] Morgan MJ,Liu ZG.Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling.Cell Res.2011;21(1):103-115.
- [8] Wardyn JD,Ponsford AH,Sanderson CM.Dissecting molecular cross-talk between Nrf2 and NF- κ B response pathways.Biochem Soc Trans.2015;43(4):621-626.
- [9] Wynn TA,Vannella KM.Macrophages in tissue repair,regeneration,and fibrosis.Immunity.2016;44(3):450-462.
- [10] Lin CW,Hung CM,Chen WJ,et al.New horizons of macrophage immunomodulation in the healing of diabetic foot ulcers. Pharmaceutics.2022;14(10):2065.
- [11] Li M,Yu H,Pan H,et al.Nrf2 suppression delays diabetic wound healing through sustained oxidative stress and inflammation.Front Pharmacol.2019;10:1099.