

糖尿病足溃疡难愈的分子生物学机制研究现状*

杨 婷, 柳国斌[△]

(上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203)

摘要:目的 综述糖尿病足溃疡难以愈合的分子生物学机制的研究现状, 为更有效地促进糖尿病足溃疡的愈合、降低截肢率提供坚实的理论基础。**方法** 查阅收集中国知网和 PubMed 数据库中关于创面愈合、糖尿病足溃疡的文献资料并整理总结。**结果** 从分子生物学角度分析糖尿病足溃疡难以愈合的机制。**结论** 糖尿病足溃疡难以愈合的机制复杂, 涉及多个方面, 其广度和深度还需要进一步探究, 需要更多的基础及临床研究来夯实提供有效治疗的理论基础。

关键词: 糖尿病足; 溃疡; 难愈; 机制

中图分类号: R255.4

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2015)04-0096-05

糖尿病是以持续高血糖为基本生化特征的代谢性疾病, 是目前公认的医学难题, 尤其是糖尿病的一系列并发症更为棘手。糖尿病患者皮肤易受损, 糖尿病足溃疡是最常见的糖尿病慢性并发症之一, 也是导致糖尿病患者截肢和死亡的最主要原因之一^[1]。在全球越来越多的糖尿病患者中, 4%~10% 的患者受到糖尿病足溃疡的折磨, 终身发病率高达 25%^[2]。糖尿病足溃疡以高发生率、高致残率、高死亡率以及高费用严重影响患者的生活质量甚至威胁生命。糖尿病足溃疡创面难以愈合已成为临床研究的重点和难点。为了降低糖尿病足溃疡的致残率和死亡率, 国内外学者从多个方面研究了导致糖尿病溃疡难愈的机制。现就近 10 年来关于糖尿病足溃疡愈合的分子生物学机制的研究现状进行整理论述。

1 表皮干细胞与糖尿病溃疡创面难愈

干细胞具有无限的自我更新能力, 目前干细胞技术也广泛应用于创面修复。Eun Key Kim^[3]将从成体干细胞(Adult stem cell, ASCs)中分离出来的脂肪间充质干细胞用于治疗糖尿病裸鼠缺血性创面,

疗效值得肯定。而表皮干细胞(Epidermal stem cell, ESCs)是皮肤组织的一种特异性干细胞, 可以多向分化, 具有较强的增殖能力, 是皮肤创面修复的关键因素。田晓红等^[4]的基础实验研究通过观察糖尿病大鼠与正常大鼠创伤后创面不同时期的表皮干细胞数量的变化以及创面的愈合率, 发现糖尿病大鼠创面的 ESCs 数量明显少于正常对照组, 并且糖尿病大鼠创面表皮干细胞的活性也明显低于正常组。角蛋白是表皮细胞的结构蛋白, 随着表皮细胞分化程度的不同, 表皮细胞表达不同的角蛋白, 1 表皮干细胞的表达即为角蛋白 19 (Keratin19, K19), 表皮干细胞表面高表达 $\beta 1$ 整合素, 而有丝分裂后细胞及终末分化细胞不表达 $\beta 1$ 整合素, 所以黄飞^[5]等人通过鉴定表皮干细胞标志物 K19 和 $\beta 1$ 整合素来研究 ESCs 的生物学特性, 发现糖尿病创面两者的表达均不如正常组创面, 进一步提示了糖尿病创面表皮干细胞增殖能力的减弱。另外, 钟清玲^[6]等人运用表皮干细胞治疗糖尿病创面的对照试验中发现, 表皮干细胞治疗组 7d 后创面明显缩小, 治疗 14d 后, 创面基本愈合, 与对照组比较, 创面的愈合

* 基金项目: 上海市科学技术委员会科研计划项目(10DZ1972800); 上海市科学技术委员会科研计划项目(12401903800); 上海市中医药事业发展三年行动计划项目(ZYSNXD-CC-ZDYJ055); 上海市浦东新区重点学科群建设资助项目(PWZxkq2010-04)

收稿日期: 2015-04-28

作者简介: 杨婷(1990-), 女, 湖南岳阳人, 在读硕士研究生, 主要从事周围血管疾病的研究。

[△]通信作者: 柳国斌, E-mail: drliuguobin@163.com

率明显增高($P<0.01$)。创面表皮干细胞数量的减少、生物活性增殖能力的减弱糖尿病溃疡创面难以愈合有着密不可分的联系。

2 血管抑素结合蛋白与糖尿病溃疡创面难愈

血管生成抑制素结合蛋白(Angiomotin Amot)是近年来研究发现的血管生成抑制因子 Angiostatin 的结合蛋白。血管抑素结合蛋白是一个血管形成的正调节因子,在生理性和病理性的血管生成中都扮演着重要的角色。它通过对细胞运动、管状结构的形成和稳定、趋化及极性、丝状伪足的数量、细胞形态维持、细胞骨架重排等的影响来促进血管生成。研究^[7]已表明糖尿病溃疡创面的形成机制之一是糖尿病血管病变。早期的时候就有 Sashwati Roy^[8]在研究小鼠皮肤创面感染时期变化的创面边缘转录时发现血管抑素结合蛋白也对创面的愈合进行调控,并且发挥了重要作用。而褚月颖^[9]等人通过实验研究,测定不同创面 Amot mRNA 的表达,发现糖尿病缺血性溃疡创面及正常的对照组创面均有 Amot mRNA 的表达,而在糖尿病缺血性溃疡创面组的表达量明显少于对照组。糖尿病溃疡创面严重影响了能促进血管生成并积极调控创面愈合的血管抑素结合蛋白的表达。

3 晚期糖基化终末产物的蓄积与糖尿病溃疡创面难愈

晚期糖基化终末产物(Advanced glycation end products, AGEs)是由还原糖、醛基以及蛋白质 N 端游离氨基酸或赖氨酸残基的 ϵ -氨基团,在生理环境中经非酶促糖基化反应形成的几种复杂分子结构的总称,正常人体内这种反应进行非常缓慢。而有研究^[10]表明,在糖尿病患者体内,由于生化代谢异常,特别是血糖浓度长时间处于高水平的状态,使机体内非酶促糖基化反应明显加速,从而容易引起 AGEs 的蓄积。劳国娟等人^[11]的实验研究发现,AGEs 抑制了细胞增殖,还显著诱导了在创面修复过程中起重要作用的成纤维细胞的凋亡。有研究者^[12]通过对糖尿病足部溃疡创面的组织学特征进行动态观察,发现糖尿病创面皮肤组织局部 AGEs 有明显蓄积。糖尿病溃疡患者长期的高血糖状态使皮肤局部组织非酶促糖基化反应增加,使得 AGEs 堆积,从而引起组织细胞结构和功能的异常,使内皮祖细胞功

能障碍,促进了成纤维细胞的凋亡,进而导致创面难以愈合。故而有学者运用抑制 AGEs 的一种亲核胍化物氨基胍来治疗糖尿病溃疡大鼠创面,发现氨基胍治疗组比对照组更有利于糖尿病溃疡创面的愈合。

4 瘦素与糖尿病溃疡创面难愈

瘦素(Leptin)是一种脂肪因子,主要由脂肪组织分泌,是第 1 个被定性的脂肪细胞分泌蛋白,由 ob 基因编码,是由 167 个氨基酸残基组成的亲水性蛋白。大量文献研究^[13]表明,脂肪组织可以促进创面愈合。国外的研究^[14-15]也发现瘦素参与了创面愈合的全过程。李培兵^[16]实验也发现,瘦素可以促进创面胶原蛋白的合成,进而使肉芽组织生长加快,从而促进创面的愈合。也有研究^[17-18]证实,瘦素可经 JAK2/STAT3 信号传导对促进表皮角质形成细胞增殖,从而促进上皮再生。而早在 2003 年德国学者 I-tamar^[19]发现,与对照组创面相比,糖尿病足溃疡患者创面皮肤组织中却没有 Leptin 受体的表达。而后,曹瑛^[20]运用反转录 PCR 法检测对比糖尿病皮肤溃疡边缘皮肤与正常皮肤上的瘦素(Leptin)及其受体(OB-RL)mRNA 的表达,发现:Leptin mRNA 的表达在对照组及观察组表达分别为 $(0.46\pm0.05)\%$ 和 $(0.23\pm0.02)\%$, OB-RLmRNA 在对照组及观察组表达分别为 $(0.44\pm0.09)\%$ 和 $(0.28\pm0.03)\%$,并且差异均有统计学意义($P<0.01$)。瘦素及其受体 mRNA 在糖尿病溃疡边缘皮肤组织的表达均少于正常皮肤组织,糖尿病溃疡皮肤组织对瘦素无法产生敏感反应,其促进愈合的信号传导障碍,延缓了创面的愈合。而使用能促进糖尿病创面局部组织中瘦素及其受体表达的中药^[21],使瘦素表达水平基本正常,可以有效缩短创面愈合的时间。

5 神经生长因子与糖尿病溃疡创面难愈

国外研究表明,约 90% 的糖尿病足患者伴随有糖尿病周围神经病变,患者足部感觉功能减退,对来自外界和自身的刺激不敏感。神经生长因子(Nerve growth factor, NGF)是最早发现的神经营养因子,对周围神经元的发育、分化、生长、再生和功能特性的表达均具有重要的调控作用。有学者^[22]实验研究发现,在创面愈合的全过程中,神经生长因子在糖尿病大鼠创面上的表达均低于正常大鼠创

面。李炳辉^[23]也通过定量实验发现,神经生长因子在糖尿病缺血创面组织中的表达明显降低。而国外研究者 Graiani G^[24]也发现,为大鼠注射外源性 NGF 可促进溃疡愈合。张冀北^[25]也发现,局部运用神经生长因子可以上调 Bcl-2、Bax 的表达而抑制糖尿病大鼠溃疡创面血管内皮细胞的凋亡。糖尿病溃疡创面神经生长因子的缺乏,特别是形成肉芽组织的主要细胞成分成纤维细胞上的 NGF 的缺乏,血管生成受到抑制,创面难以愈合。

6 神经肽 P 物质与糖尿病溃疡创面难愈

P 物质(substance P, SP)是具有碳链末端结构的 11 肽,广泛分布于外周和中枢神经系统,是速激肽家族中重要的神经肽类物质之一,是血管活性物质。研究^[26]已表明,SP 通过调节炎症反应、修复必要细胞因子在创面修复过程中发挥重要的作用。Hanna Galkowska^[27]的实验研究表明,糖尿病患者不仅血糖水平高于正常组织,其局部皮肤中糖的含量也比正常皮肤高,高血糖的微环境使得感觉神经元表达的神经肽基因编码的 mRNA 减少,从而使 SP 合成减少。倪涛等人^[28]则通过建立糖尿病溃疡创面模型,检测创面组织 P 物质的表达,发现糖尿病溃疡组各个时相点创面组织上 SP 的表达均明显低于对照组($P<0.05$),并且发现糖尿病组与对照组大鼠创面 SP 的表达在创面形成后 7d 时最为明显($P<0.01$)。基于上述研究结果,郭文治^[29]等应用外源性 SP 在糖尿病大鼠皮肤创面实验,发现运用 SP 的实验组创面愈合面积高于同时段的对照组($P<0.01$),且愈合时间比对照组缩短了 1 周。神经肽 P 物质^[30]通过刺激创面成纤维细胞生长因子的表达并参与表皮干细胞的增殖、迁移、分化的调控来促进创面的愈合,而糖尿病溃疡创面 SP 代谢快,表达减少,创面难以愈合。

7 缺氧诱导因子-1 与糖尿病溃疡创面难愈

缺氧诱导因子-1 (Hypoxia inducible factor-1, HIF-1)普遍存在于人和哺乳动物细胞内,只有在缺氧条件下 HIF-1 才可稳定表达。在皮肤创面缺氧的环境下,诱导 HIF-1 α 的表达增加,从而上调 SDF-1 的表达。研究^[31]已经表明,SDF-1 参与了皮肤创面愈合的炎症期和增生期以及新血管的生成,可以促进创面的愈合。目前,临床利用高压氧治疗糖尿病足

溃疡取得了明显的临床效果,进一步提示了糖尿病溃疡创面组织处于缺氧的环境。景丽峰^[32]的研究却发现,糖尿病溃疡创面在愈合过程中 HIF-1 α 的表达水平低于正常小鼠,不能有效地上调 SDF-1 的表达,创面局部血管生成障碍,愈合延迟。李雪晶^[33]在研究一效膏治疗糖尿病溃疡时,发现实验组创面 HIF-1 的表达及创面愈合率均高于对照组,且差异具有统计学意义。

8 一氧化氮与糖尿病溃疡创面难愈

一氧化氮(Nitric oxide, NO)是一种新型生物信使分子,其生成依赖于氧化化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS)。炎症反应期是创伤愈合的必经阶段,研究表明,NO 可以产生于人体内多种细胞,当体内巨噬细胞和多形核白细胞被激活时时,能产生大量的诱导型 NOS,从而合成大量的 NO,在促进创面愈合的过程中发挥着重要作用。早期就有 You-Fu Xie^[34]等人发现,针刺可以提高组织 NO 的含量,从而减轻创面早期的进行性损害。张朝晖^[35]等通过实验研究发现,中医药化腐再生法可以有效促进糖尿病溃疡创面的愈合,在创面愈合的过程中,化腐再生组创面 NO 含量明显高于对照组。任校峰^[36]也发现,运用一氧化氮合剂可以有效促进糖尿病小鼠创面的愈合。国外有 Mihir GUPTA^[37]在研究外用芬太尼促进糖尿病大鼠创面愈合的实验中发现,局部应用芬太尼可以通过提高 NO 含量,促进血管、淋巴管及周围神经再的生来促进糖尿病大鼠创面的愈合。

9 小结与展望

从分子生物学的基础研究方面深入探究糖尿病足溃疡难以愈合的机制,以期对糖尿病足溃疡患者创面的愈合缩短时间,提高生活质量,减少截肢率,提高生存率提供更加有效的治疗方案。但是,糖尿病足溃疡属于临床上常见的慢性难愈性溃疡之一,其难以愈合的原因是复杂的,不仅仅是上述机制,还包括有巨噬细胞^[38]在创面不同时期的浸润、各类 miRNA^[39]的异常表达等多方面因素,需要进一步的深入探索验证。

参考文献:

- [1] Andrew J.M. Boulton, Loretta Vileikute, Gunnel Raanarson-Tennval, et al. The global burden of diabetic foot dis-

- ease[J]. *Lancet*, 2005, 366: 1719–1724.
- [2] Andrew J.M. Boulton. The diabetic foot: grand overview, epidemiology and pathogenesis[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2008, 24(Suppl 1): S3–S6.
- [3] Eun Key Kim, Guang Li, Taik Jong Lee, et al. The effect of human adipose-derived stem cells on healing of ischemic wounds in a diabetic nude mouse model [J]. *Plastic and reconstructive surgery*, 2011, 128(2): 387–394.
- [4] 田晓红, 柏树令, 田伟, 等. 表皮干细胞在糖尿病创面愈合过程中的动态变化 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2007, 21(7): 693–697.
- [5] 黄飞, 林源, 王润秀, 等. IV型胶原糖基化对表皮干细胞生物学特性的影响 [J]. *上海交通大学学报*, 2006, 26(11): 1249–1251.
- [6] 钟清玲, 刘德伍, 刘繁荣, 等. 羊膜负载表皮干细胞促进糖尿病大鼠创面的愈合[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(32): 6010–6014.
- [7] 李峥璟, 柏素萍, 孙炳伟. 糖尿病溃疡形成机制的研究进展[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2012, 22(4): 363–366.
- [8] Sashwati Roy, Savita Khanna, Cameron Rink, et al. Characterization of the acute temporal changes in excisional murine cutaneous wound inflammation by screening of the wound –edge transcriptome [J]. *Physiological Genomics*, 2008, 34(2): 162–184.
- [9] 褚月颖, 王鹏华, 李代清, 等. 血管抑素结合蛋白在糖尿病后肢缺血性溃疡小鼠创面肉芽组织中的表达 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2014, 22(6): 553–555.
- [10] Ping Zhu, Chuan Yang, Li-Hong Chen, et al. Impairment of human keratinocyte mobility and proliferation by advanced glycation end products –modified BSA [J]. *Arch Dermatol Res*, 2011, 303(5): 339–350.
- [11] 劳国娟, 任萌, 黄燕瑞, 等. 糖尿病足伤口皮肤细胞凋亡情况及 AGEs 对人皮肤成纤维细胞凋亡的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(8): 1351–1356.
- [12] 林源, 王润秀, 农庆文, 等. 糖尿病创面愈合过程的动态组织学特征[J]. *中国临床康复*, 2005, 9(3): 118–120.
- [13] 何勇, 辛国华, 曾逃方. 脂肪组织促进创面愈合的机制 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(41): 7719–7722.
- [14] Patricia Crabbe, Stefan Goemaere, Hans Zmierzczak, et al. Are serum leptin and the Gln223Arg polymorphism of the leptin receptor determinants of bone homeostasis in elderly men? [J]. *European Journal of Endocrinology*, 2006, 154(5): 707–714.
- [15] Frank Peelman, Cyril Couturier, Julie Dam, et al. Techniques: New pharmacological perspectives for the leptin receptor [J]. *TREND in Pharmacological Sciences*, 2006, 27(4): 218–225.
- [16] 李培兵, 金宏, 刘佃辛, 等. 瘦素促进皮肤创伤大鼠胶原合成的实验研究[J]. *中国应用生理学杂志*, 2011, 27(1): 72–74.
- [17] Gao J, Tian J, LvY, et al. Leptin induces functional activation of cyclooxygenase-2 through JAK2/STAT3, MAPK/ERK, and P13/AKT pathways in human endometrial cancer cells[J]. *Cancer Sci*. 2009, 100(3): 389–395.
- [18] 文辉才, 陈雯, 杨红华, 等. 瘦素经 JAK2/STAT3 信号传导对角质形成细胞增殖的作用 [J]. *实用医学杂志*, 2012, 28(18): 2997–3000.
- [19] Itamar Goren, Heiko Kämpfer, Maurizio Podda, et al. Leptin and wound Inflammation in Diabetic ob/ob Mice[J]. *Diabetes*, 2003, 52: 2821–2832.
- [20] 曹瑛, 薛耀明, 高方, 等. 糖尿病慢性皮肤溃疡瘦素及其受体 OB-RL 的定量表达 [J]. *广东医学*, 2010, 31(23): 3055–3057.
- [21] 蒋延国, 谢雷. 糖尿病足大鼠行早期离断外用中药治疗后创面中瘦素及瘦素受体变化的实验研究[J]. *中医临床研究*, 2013, 5(8): 14–17.
- [22] 曾学文. NGF 在糖尿病慢性难愈创面中的表达情况及其在愈合中的作用[D]. 昆明: 昆明医学院, 2007.
- [23] 李炳辉, 邹新华, 杨鸿, 等. 神经生长因子在糖尿病足创面组织中的表达 [J]. *中华损伤与修复杂志 (电子版)*, 2010, 5(5): 608–612.
- [24] Graiani G, Emanuela C, Desortes E, et al. Nerve growth factor promotes reparative angiogenesis and inhibits endothelial apoptosis in cutaneous wounds of Type 1 diabetic mice[J]. *Diabetologia*, 2004, 47(6): 1047–1054.
- [25] 张冀北. 局部联合应用神经生长因子及胰岛素对糖尿病大鼠烫伤创面血管形成及 Bcl-2, Bax 表达的影响[D]. 兰州: 兰州大学, 2011.
- [26] 罗文君, 陆婷婷. 神经肽 P 物质与创伤修复的研究进展 [J]. *现代预防医学*, 2007, 34(10): 1872–1874.
- [27] Hanna Galkowska, Waldemar L. Olszewski, Urszula Wojewodzka, et al. Neurogenic Factors in the Impaired Healing of Diabetic Foot Ulcers [J]. *Journal of Surgical Research*, 2006, 134(2): 252–258.
- [28] 倪涛, 方勇, 毛志刚, 等. 糖尿病大鼠深 II 度烫伤创面愈合过程中神经肽 P 物质的表达 [J]. *上海交通大学学报*, 2009, 29(6): 673–676.

- [29] 郭文治, 赖西南, 王正国, 等. 感觉神经肽 P 物质在糖尿病大鼠皮肤损伤修复中的应用 [J]. 创伤外科杂志, 2008, 10(3): 251-253.
- [30] 赖西南. 感觉神经肽 P 物质在损伤修复中的作用及分子机制[J]. 创伤外科杂志, 2008, 10(6): 559-561.
- [31] Besse JL, Leemrijse T, Deleu PA. Diabetic foot: The orthopedic surgery angle [J]. Orthopaedics&Traumatology: Surgery&Research, 2011, 97(3): 314-329.
- [32] 景丽峰, 李爽, 李勤. 缺氧诱导因子-1 信号系统在糖尿病创面愈合过程中的表达及意义[J]. 广东医学, 2014, 35(8): 1154-1156.
- [33] 李雪晶, 李大勇. 一效膏治疗糖尿病小鼠皮肤溃疡及其机制的研究[J]. 光明中医, 2014, 29(1): 46-48.
- [34] 谢有富, 李俨, 戴丽冰, 等. 针刺对烧伤早期创面组织一氧化氮的影响 [J]. 中国临床康复, 2014, 8(32): 7342-7343.
- [35] 张朝晖, 徐强, 马静, 等. 化腐再生法促进糖尿病创面愈合的初步机制[J]. 中国中医基础医学杂志, 2012, 18(4): 378-391.
- [36] 任校峰, 李世荣, 王珍祥, 等. NO 合剂对糖尿病小鼠创面愈合的促进作用 [J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(2): 150-154.
- [37] Mihir GUPTA, Tasneem POONAWALA, Mariya FA-ROOQUI, et al. Topical fentanyl stimulates healing of ischemic wounds in diabetic rats [J]. Journal of Diabetes, 2015, 7(4): 573-583.
- [38] 刘宸, 章宏伟, 徐宁, 等. 糖尿病大鼠创面愈合中巨噬细胞的浸润变化[J]. 医学研究生学报, 2014, 27(10): 1033-1037.
- [39] 孙舒瑶, 王椿, 冉兴无. 微小 RNA 在糖尿病创面愈合中的研究进展 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2014, 28(11): 1402-1405.

(编辑: 徐建平)

Research Status Molecular Mechanisms of Diabetes Foot Ulcers Refractory

YANG Ting, LIU Guobin[△]

(Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: **Objective** This paper servers as a literature review of previous study on molecular Biological mechanism accounting for obstinate diabetic foot ulcer which is hard to heal, laying substantial theoretical foundation for further effective promotion for curing diabetic foot ulcer and reduction of related amputation cases. **Methods** Data collection of pertinent reference and documents from CNKI and PubMed database. **Results** Analysis for the mechanism via which diabetic foot ulcer is difficult to be defeated from the perspective of molecular biology. **Conclusion** The mechanism accounting for obstinate diabetic foot ulcer disease is a complex one involving considerable factors which is still in great demand to be studied further, For future research, it's a necessity yet a must to provide more evidence to verify and support existed therapy theories by plenty of clinical cases study.

KEY WORDS: diabetic; ulcer; refractory; mechanism

《云南中医学院学报》欢迎网上投稿

网址: <http://www.xb.ynutcm.edu.cn>