

糖尿病足溃疡的hub基因及其生物学功能的生物信息学分析*

徐 璠, 芮顺利, 罗珮琦, 陈 燕, 马 渝[△], 邓武权[△]

重庆大学附属中心医院/重庆市急救医疗中心 内分泌代谢科(重庆 400014)

【摘要】目的 通过对转录组测序数据的生物学分析探寻与糖尿病足溃疡发病以及愈合相关的关键(hub)基因及其生物学功能。**方法** 从GEO数据库筛选糖尿病足溃疡的数据集,数据标准化后再分组并进行生物信息学分析。分别对糖尿病足溃疡患者与非糖尿病足溃疡患者,以及糖尿病足溃疡部位创缘皮肤与糖尿病足患者非溃疡部位皮肤转录组测序数据进行组间差异表达基因鉴定、通路富集和蛋白质互作(PPI)分析,通过节点分析找到hub基因,并在测试集中以受试者工作特征(ROC)曲线验证筛选出的hub基因对糖尿病足溃疡的诊断效能。通过两组分析的交集基因再次进行通路富集以及PPI分析,筛选与糖尿病足溃疡创面愈合相关hub基因。最后对相关样本进行GSEA分析寻找全转录组基因在糖尿病足溃疡中可能的作用。**结果** 从糖尿病足溃疡与非糖尿病足患者皮肤的测序分析中,得到上调的差异基因620个,下调的差异基因196个。这些基因的功能集中在萜类化合物和聚酮类化合物的代谢、分子和相互作用、磷脂酶D信号通路、丙酸酯代谢、PI3K-Akt信号通路、Toll样受体信号通路、嘧啶代谢、IL-17信号通路、Rap1信号通路等。PPI网络确定了10个hub基因,其中BGN、CCND1在测试集的ROC分析的曲线下面积为0.714、0.712。在糖尿病足溃疡部位创缘皮肤与糖尿病足患者非溃疡部位皮肤的测序分析中筛选出了上调基因4 072个,下调基因911个,与糖尿病足溃疡的差异基因有交集的基因372个。这些差异基因的功能集中在磷脂酶D信号通路、异种生物降解和能量代谢、谷胱苷酸代谢、嘧啶代谢、ErbB信号通路以及黑色素生成等信号通路。从PPI网络确定了7个hub基因。在GSEA分析中,戊糖和葡萄糖醛酸相互转化、同源重组、烟酸和烟酰胺代谢、神经活性配体受体相互作用、青少年发病的成年型糖尿病、丁酸代谢、赖氨酸降解、泛酸和辅酶A的生物合成、核黄素代谢、类固醇激素生物合成、缬氨酸亮氨酸和异亮氨酸降解等通路在糖尿病足溃疡与非糖尿病足溃疡患者中表现出了较大的表达差异。**结论** 生物信息学结果提示,BGN、CCND1是预测糖尿病足溃疡发生的潜在生物学标志物,CXCL12、TLR4、JAK2、PPARA、UBC、DCN、KDR、ARNTL是糖尿病足溃疡的hub基因,而CXCL8、CXCL12、TXN、SLIT3、KRT14、KIT、NEO1是糖尿病足慢性溃疡愈合相关的hub基因。

【关键词】 糖尿病足溃疡 hub基因 生物学功能 生物信息学

Bioinformatics Analysis of Hub Genes of Diabetic Foot Ulcer and Their Biofunctions XU Fan, RUI Shun-li, LUO Pei-qi, CHEN Yan, MA Yu[△], DENG Wu-quan[△]. Department of Endocrinology, Chongqing University Central Hospital/Chongqing Emergency Medical Center, Chongqing 400014, China

[△] Corresponding author, MA Yu, E-mail: 81846846@qq.com; DENG Wu-quan, E-mail: wuquandeng@cqu.edu.cn

【Abstract】 Objective To explore the hub genes associated with the pathogenesis and healing of diabetic foot ulcer (DFU) and their biological functions through bioinformatics analysis of transcriptome sequencing data. **Methods** The transcriptome sequencing datasets of DFU were selected from Gene Expression Omnibus (GEO) database, and the data were regrouped and normalized for bioinformatics analysis. The skin transcriptome sequencing datasets of DFU patients were compared with those of normal controls and the transcriptome sequencing datasets of skin from ulcerous wound edge of DFU patients were compared with those of non-ulcerous skin of DFU patients so that differentially expressed genes were identified, pathway enrichment and protein-to-protein interaction (PPI) analyses were performed, hub genes were found through nodal analysis, and receiver operating characteristic (ROC) curve was applied to a testing dataset to validate the diagnostic efficiency of the hub genes related to DFU. The intersecting genes from the two sets of analyses were again subjected to pathway enrichment and PPI analyses to screen for hub genes associated with DFU wound healing. What's more, gene set enrichment analysis (GSEA) was carried out on relevant samples to probe for the possible functions and pathway of non-significant genes in DFU. **Results** A total of 620 up-regulated differentially expressed genes and 196 down-regulated differentially expressed genes were identified in the training dataset which compared DFU patients with non-diabetic patients. The functions of these genes were enriched in the metabolism of terpenoids and polyketides, signaling molecules and interaction, phospholipase D signaling pathway, propanoate metabolism, PI3K-Akt signaling pathway, Toll-like receptor signaling pathway, pyrimidine metabolism, IL-17 signaling pathway, Rap1 signaling pathway, etc. A total of 10 hub genes were identified with the PPI network. Among them, BGN's value of the area under the curve of ROC analysis was 0.714 and CCND1's was 0.712. In the sequencing analysis of

* 国家自然科学基金(No. 81500596)和重庆市中青年医学高端人才工作室(No. ZQNYXGDRCGZS2021008)资助

[△] 通信作者, 马渝, E-mail: 81846846@qq.com; 邓武权, E-mail: wuquandeng@cqu.edu.cn

ulcerous wound edge of DFU patients and non-ulcerous skin of DFU patients, 4072 up-regulated genes and 911 down-regulated genes were identified, of which, 372 genes were also detected in the differentially expressed genes of DFU. The functions of these differentially expressed genes were enriched in phospholipase D signaling pathway, xenobiotics biodegradation and energy metabolism, glutathione metabolism, pyrimidine metabolism, ErbB signaling pathway, melanin production, etc. A total of 7 hub genes were identified from PPI network. In GSEA analysis, pathways including pentose and glucuronate interconversions and homologous recombination, nicotinate and nicotinamide metabolism, neuroactive ligand receptor interaction, maturity-onset diabetes of the young, butanoate metabolism, lysine degradation, pantothenate and coenzyme A biosynthesis, riboflavin metabolism, steroid hormone biosynthesis, and valine, leucine and isoleucine degradation showed significant expression differences between DFU patients and normal controls.

Conclusion Bioinformatics analysis results suggest that *BGN* and *CCND1* are potential biomarkers for predicting DFU; *CXCL12*, *TLR4*, *JAK2*, *PPARA*, *UBC*, *DCN*, *KDR*, and *ARNTL* are the hub genes of DFU, while *CXCL8*, *CXCL12*, *TXN*, *SLIT3*, *KRT14*, *KIT*, and *NEO1* are the hub genes related to wound healing of DFU.

【Key words】 Diabetic foot ulcer Hub genes Biological function Bioinformatics

糖尿病足溃疡(DFU)是糖尿病晚期常见的严重并发症,多由周围神经病变合并外周微循环障碍而引起^[1]。在DFU中,组织往往停留在伤口愈合的炎性阶段^[2],形成难治性创面,给患者带来沉重经济负担、精神痛苦甚至肢体残疾、危及生命^[3]。因此,探究DFU伤口的基因表达特点,寻找可能参与DFU发生发展的信号通路,将来可为DFU的防治提供潜在的作用靶点与理论指导。

本研究通过筛选公共数据库GEO(Gene Expression Omnibus)中含有DFU患者皮肤转录组测序数据的数据集,进行生物信息学再分析,寻找可能的差异基因、富集通路,并使用测试集对hub基因的表达及诊断价值进行验证,为DFU发病机制研究及诊断提供新的思路。

1 对象和方法

1.1 对象

以“diabetic foot ulcer”和“diabetic foot skin”为关键词,从GEO数据中筛选到4个DFU和对照组信使RNA(messenger RNA, mRNA)表达数据集: GSE68183、GSE80178、GSE134431、GSE37265。下载对应的测序平台注释文件和表达矩阵,使用R软件包inSilicoMerging [DOD: 10.1186/1471-2105-13-335]和limma(version 3.42.2)的removeBatchEffect函数进行合并数据集和去批次效应(图1)。

根据测序数据中的临床资料与降维分析结果,我们将GSE68183、GSE80178作为DFU与对照组的训练集, GSE134431、GSE37265作为测试集,探究DFU的转录组表达特征;将GSE134431的糖尿病足溃疡患者皮肤样本细分为DFU慢性溃疡创缘皮肤与非溃疡皮肤样本,探究DFU慢性创面愈合不良的转录组表达特征。

1.2 方法

1.2.1 Umap降维分析与差异基因筛选 使用R软件包umap(version 0.2.7.0)对合并GSE68183、GSE80178、GSE134431

获得的数据表达谱计算z-score进行降维分析,观察组间差异。对重新分组后的标准化数据表达矩阵使用R软件包limma(version 3.40.6)进行差异分析。Limma(linear models for microarray data, DOI: 10.1093/nar/gkv007)是一种基于广义线性模型的常用差异表达筛选方法。利用其中的lmFit函数和eBays函数最终获得了每个基因的差异性。以 $P < 0.05$ 、差异倍数 > 1.5 作为筛选标准,因DFU慢性创面的差异基因数较多,进一步选择差异倍数 > 2 。

1.2.2 生物功能与通路分析 我们使用KEGG rest API (<https://www.kegg.jp/kegg/rest/keggapi.html>)获取了京都基因和基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)的KEGG pathway最新通路注释作为背景,使用R软件包clusterProfiler(version 3.14.3)进行富集分析,以 $P < 0.05$ 作为筛选标准。

1.2.3 确定hub基因 使用STRING(<http://string-db.org/>)对差异基因预测蛋白与蛋白互作(protein-to-protein interaction, PPI),置信度取0.7,因DFU差异基因的蛋白互作连接较多,进一步限制置信度为0.9。通过Cytoscape(v3.9.1)中的CytoNCA计算中介中心性(Betweenness Centrality),取前10位基因为关键基因(hub gene)。

1.2.4 受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线 在GSE134431、GSE37265合并获得的测试集中选择hub基因的表达量,使用IBM SPSS Statistics 26软件中的ROC曲线进行分析,判断hub基因对DFU的诊断效能,以曲线下面积(AUC) > 0.7 ,且 $P < 0.05$ 为判断标准。

1.2.5 基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA) 从GSEA(DOI: 10.1073/pnas.0506580102, <http://software.broadinstitute.org/gsea/index.jsp>)下载GSEA(version 3.0)软件,根据GSE68183、GSE80178、GSE134431中是否患有DFU将样本分为两组,并用KEGG pathway作为子集富集DFU潜在的相关通路,以 $P < 0.05$ 作为判断

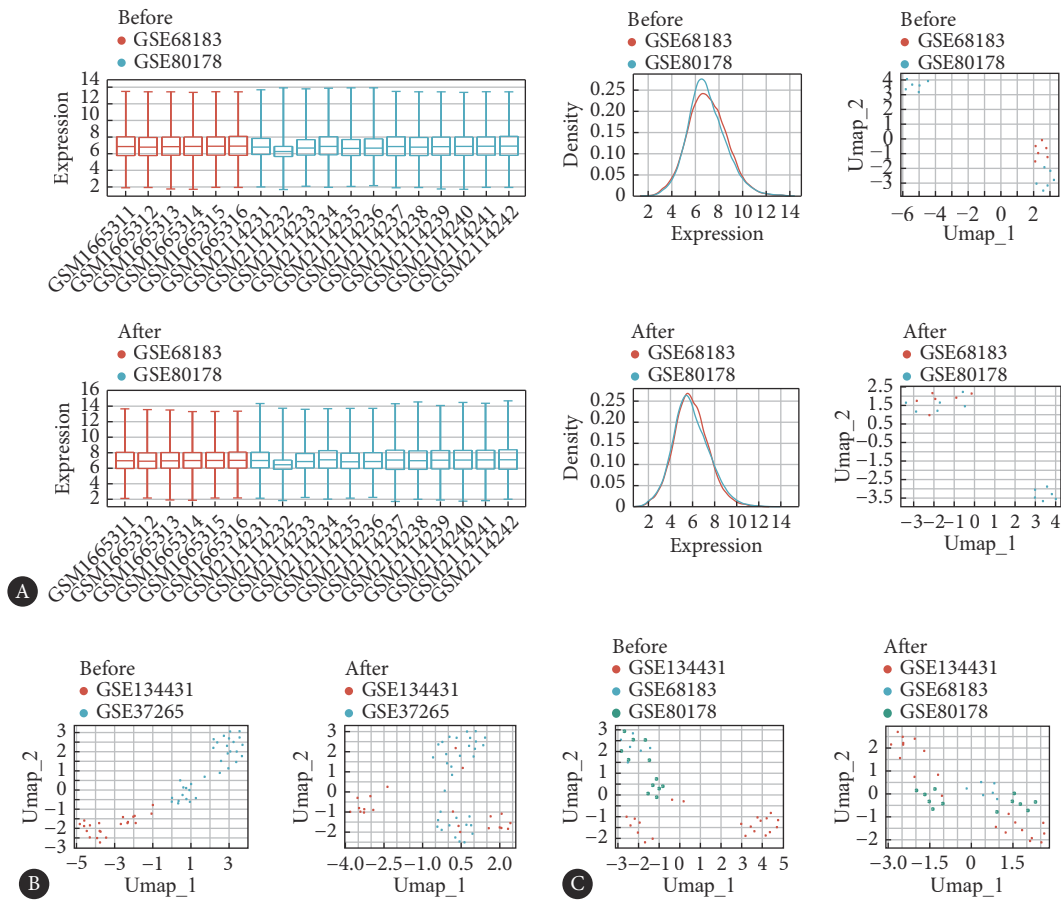


图1 合并的各数据集去批次效应前后对比

Fig 1 Comparison of the merged datasets before and after removing batch effect

A: Removal of batch effect between GSE68183 and GSE80178 as the training set; B: Removal of batch effect between GSE134431 and GSE37265 as the test set; C: Removal of batch effect between GSE68183, GSE80178 and GSE134431 for GSEA.

标准。

1.3 统计学方法

本研究使用IBM SPSS Statistics 26和R(3.6.2版本)进行数据统计及分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 基因差异表达分析采用经典 t 检验, 以 $P < 0.05$ 和 $\log_2(\text{fold change})$ 绝对值 > 1.5 作为筛选标准; 以 $P < 0.05$ 和 $\log_2(\text{fold change})$ 绝对值 > 1 作为筛选标准筛选差异基因较多的数据集。KEGG、GSEA以 $P < 0.05$ 作为筛选标准。基因表达验证使用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。结果可视化绘图使用绘图工具sangerbox(3.0版本)^[4]。

2 结果

2.1 各数据集的基本信息

本研究在GEO公共数据库中以“diabetic foot ulcer”与“diabetic foot skin”为关键词, 搜索人源的转录组测序数据, 使用的数据集包括GSE68183、GSE80178、GSE134431、GSE37265, 在进行去除批次效应等数据标准

化处理后进行分析, 数据集具体信息如表1所示。

2.2 糖尿病足溃疡的差异基因

2.2.1 Umap降维分析样本组间差异 对所用数据集进行Umap降维分析(图2A), 我们发现糖尿病足患者溃疡部位创缘皮肤(DFU wound edge)组、糖尿病足患者非溃疡部位皮肤(diabetic foot skin, DFS)组以及非糖尿病足患者对照(Control)组的样本测序结果存在较为明显的组间差异, 提示数据选择性良好。

2.2.2 DFU与非糖尿病患者皮肤样本的差异基因 使用GSE68183、GSE80178作为DFU患者创缘皮肤与非糖尿病足患者对照组的训练集, 得到上调的差异基因620个, 下调的差异基因196个, 并用热图展示了前50位基因与相对表达量(图2B、2C)。

2.2.3 DFU患者溃疡创缘皮肤与非溃疡皮肤样本的差异基因 将GSE134431的糖尿病患者细分为DFU患者创缘皮肤(DFU wound edge)样本组与非溃疡部位皮肤(DFS)样本组, 筛选出了上调基因4072个, 下调基因911个, 并用

表 1 数据集样本信息

Table 1 Information on the specimens of the datasets

GEO ID	Platform	Tissue type	PMID	Year
GSE68183	GPL16686 [HuGene-2_0-st] Affymetrix Human Gene 2.0 ST Array [transcript (gene) version]	Homo sapiens: non-diabetic ($n=3$) and diabetic foot skin ($n=3$)	Ramirez HA, et al (2015a) Gene Expression Omnibus GSE68183 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc=GSE68183). [DATASET]	2015
GSE80178	GPL16686 [HuGene-2_0-st] Affymetrix Human Gene 2.0 ST Array [transcript (gene) version]	Homo sapiens: non-diabetic ($n=3$) and diabetic foot skin ($n=9$)	29273315	2017
GSE134431	GPL18573 Illumina NextSeq 500 (Homo sapiens)	Homo sapiens: non-diabetic ($n=8$) and diabetic foot skin ($n=13$)	32938916	2020
GSE37265	GPL570 [HG-U133_Plus_2] Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array	Homo sapiens: non-diabetic ($n=5$) and diabetic foot skin ($n=14$)	Baccaglini L, et al (2013a) Gene Expression Omnibus GSE37265 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc=GSE37265). [DATASET]	2013

热图展示了前50位基因与相对表达量(图2D、2E)。与DFU的差异基因交集,得到与DFU慢性创面愈合相关的交集基因327个(图2F)。

2.2.4 差异基因功能富集 分别对DFU患者的差异基因集,以及DFU慢性创面相关的差异基因进行KEGG通路富集。其中DFU患者的差异基因主要集中在萜类化合物和聚酮类化合物的代谢、分子和相互作用、磷脂酶D信号通路、丙酸酯代谢、PI3K-Akt信号通路、Toll样受体信号通路、嘧啶代谢、IL-17信号通路、Rap1信号通路等(图3A);DFU慢性创面相关的差异基因主要集中在磷脂酶D信号通路、异种生物降解和能量代谢、谷胱苷酸代谢、嘧啶代谢、ErbB信号通路以及黑色素生成等信号通路(图3B)。

2.3 差异基因的蛋白互作与hub基因

对两个差异数据集分别进行PPI蛋白互作分析,并根据中介中心性(betweenness centrality, BC)筛选出hub基因。其中排名前10的DFU的hub基因(图4A)为CXCL12、TLR4、JAK2、PPARA、UBC、BGN、DCN、KDR、ARNTL、CCND1(取置信度0.9, BC值>500)。使用测试集GSE134431、GSE37265对hub基因进行ROC分析(图4B),AUC分别为0.536、0.486、0.474、0.561、0.524、0.714、0.524、0.564、0.541、0.712。其中AUC为0.7且 $P<0.05$ 的hub基因为BGN与CCND1。排名前7的DFU慢性创面的hub基因(图4C)为CXCL8、CXCL12、TXN、SLIT3、KRT14、KIT、NEO1(取置信度0.9, BC值>2000)。

2.4 糖尿病足溃疡相关的通路富集

对数据集GSE68183、GSE80178、GSE1344使用GSEA分析富集(图5),得到的DFU与非糖尿病足患者的差异通路集中在戊糖和葡萄糖醛酸相互转化、同源重组、烟酸和烟酰胺代谢、神经活性配体受体相互作用、青春晚期糖尿病、丁酸代谢、赖氨酸降解、泛酸和辅酶A的生物合成、核黄素代谢、类固醇激素生物合成、缬氨酸亮氨酸和异亮氨酸降解等通路。

3 讨论

DFU是糖尿病最严重的并发症之一,复发率、截肢率和死亡率高,给患者和社会带来了严重的负担。通常DFU创面表现出缺血、缺氧、慢性炎症等特点^[5-6],临床上难以治愈^[3,7]。运用生物信息学探究DFU患者的皮肤转录组变化,可以为将来的理论与诊疗进展提供一定的指导。目前已有一些文章利用测序技术寻找DFU的可能生物学标志物和作用机制,但大多数据量少,异质性强,且缺乏相应的临床资料,无法系统性地揭示DFU发生发展机制。

本研究通过整合已有的测序数据集再分组和Umap降维分析发现,DFU患者的创面依然存在着较大的异质性,糖尿病足患者的慢性溃疡创缘皮肤与非溃疡部位皮肤以及非糖尿病患者的皮肤存在较大的组间差异,这提示在未来的研究以及治疗上,可能需要进一步结合更详细的临床资料对DFU患者分型分类以达到精准医疗的目的。

本研究通过对4个数据集的差异基因以及生物学功能分析,发现DFU患者皮肤组织中620个基因显著上调,196个基因显著下调,可能是DFU发病的相关基因。这些基因主要参与的通路集中在萜类化合物和聚酮类化合物的代谢、分子和相互作用、磷脂酶D信号通路、丙酸酯代谢、PI3K-Akt信号通路、Toll样受体信号通路、嘧啶代谢、IL-17信号通路、Rap1信号通路等,包含了常见的炎症和代谢通路。通过取交集,获得了与DFU慢性创面愈合相关的差异基因327个,其主要集中在磷脂酶D信号通路、异种生物降解和能量代谢、谷胱苷酸代谢、嘧啶代谢、ErbB信号通路以及黑色素生成等信号通路,本研究发现这些通路与DFU的相关通路有一定的重合,尤其是代谢相关通路。对全基因的GSEA富集分析也体现出这一点,但其更多体现在糖类、氨基酸代谢以及激素代谢相关信号通路。此外,GSEA分析揭示在DFU患者中神经活

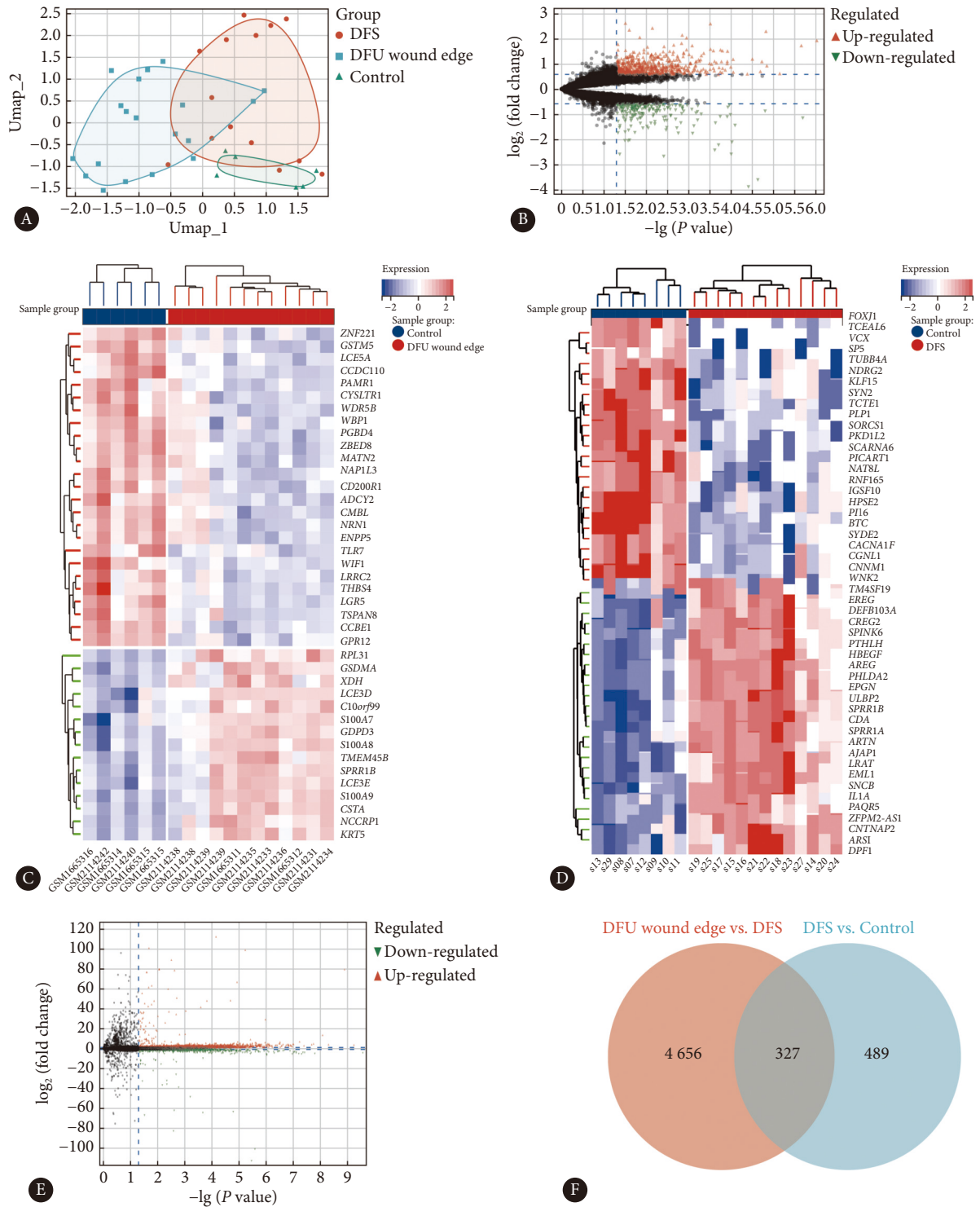


图 2 差异基因分析

Fig 2 Analysis of differentially expressed genes

A: Umap analysis suggests that there is significant difference between the sequencing data of diabetic foot skin (DFS), DFU wound edge, and Control groups; B: Volcano map of DFU wound edge and Control; C: Heat map shows top 50 differentially expressed genes between DFU wound edge and Control; D: Volcano map of DFU wound edge and DFS; E: Heat map shows top 50 differentially expressed genes between DFU wound edge and DFS; F: Venn diagram shows the common set of differentially expressed genes.

性配体受体通路明显较非DFU患者上调,这一点可能与糖尿病引起的周围神经病变有关。已有文献报道糖尿病神经周围病变与DFU存在明显关联^[8-10],但本研究尚不能

据此确定两者之间的因果关系。通过进一步地分析两组差异基因,发现MMP家族、CXCL家族和PPAR家族内均有多个基因表现出明显差异。研究报道基质金属蛋白酶

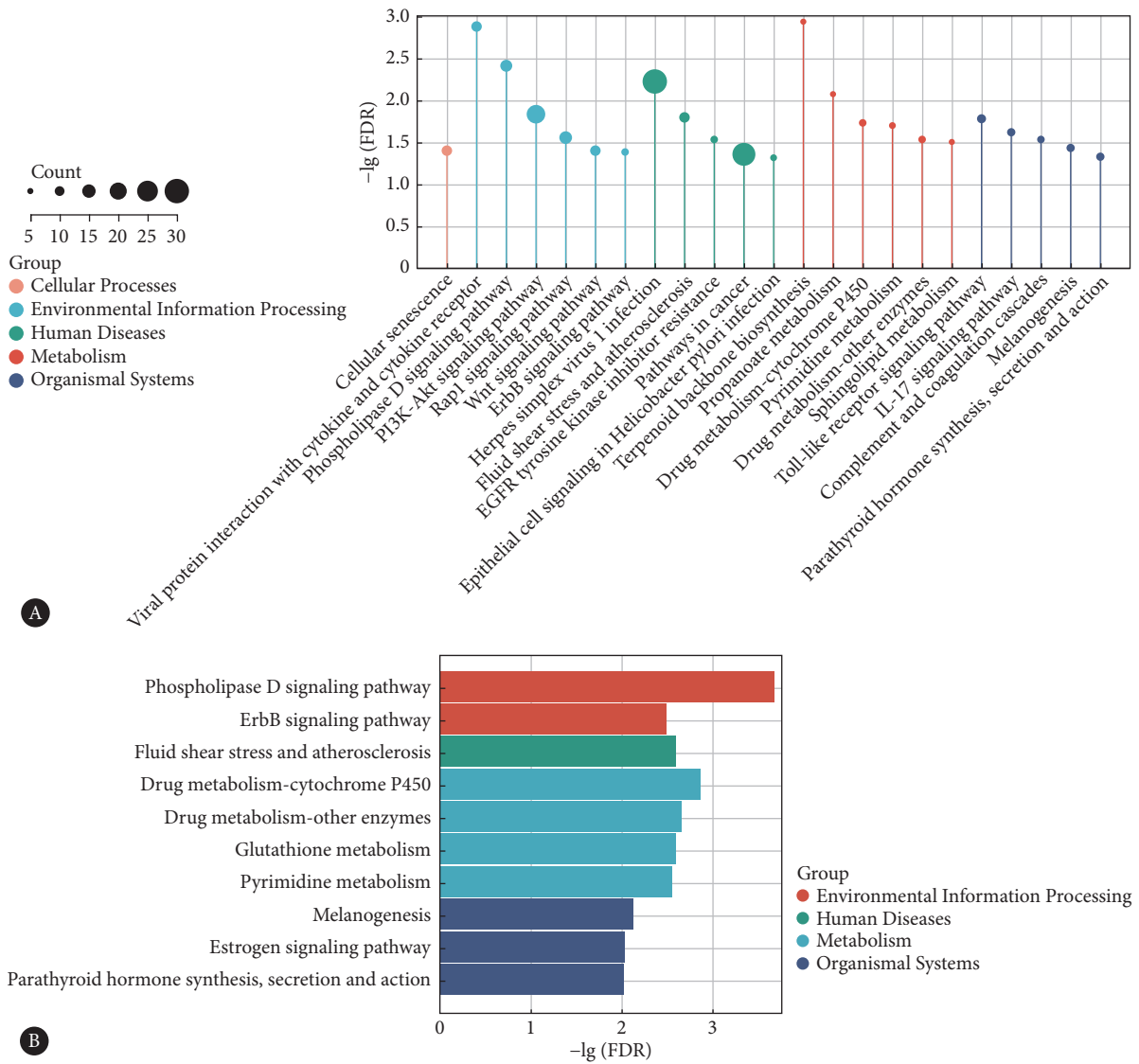


图 3 差异基因功能富集

Fig 3 Function enrichment of differentially expressed genes

A: Differentially expressed gene KEGG enrichment pathway in DFU (P < 0.05); B: Differentially expressed gene KEGG enrichment pathway in DFU chronic wound (P < 0.05).

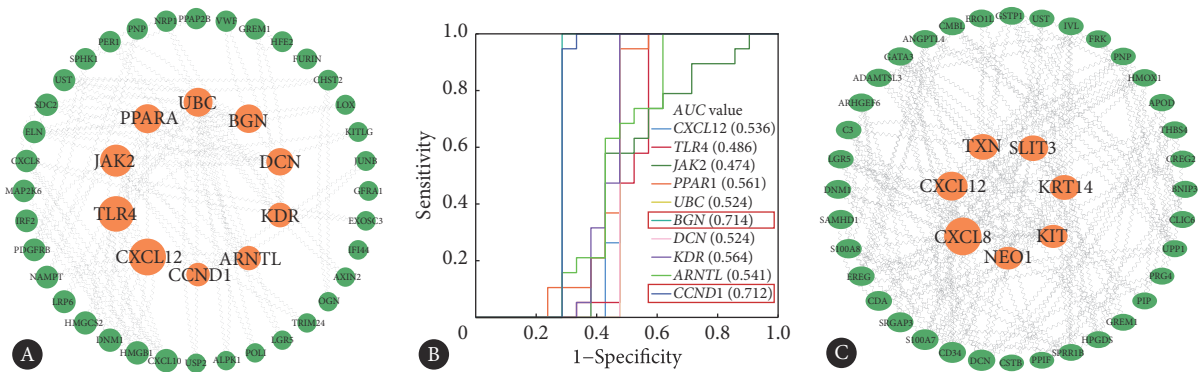


图 4 蛋白互作分析与hub基因

Fig 4 Protein-to-protein interaction (PPI) analysis and hub genes

A: PPI analysis in DFU; B: ROC curve of hub genes in test set; C: PPI analysis in DFU chronic wound.

- PENTOSE_AND_GLUCURONATE_INTERCONVERSIONS (ES=-0.875 4, NP=0.000 0)
- HOMOLOGOUS_RECOMBINATION (ES=-0.612 9, NP=0.006 2)
- NICOTINATE_AND_NICOTINAMIDE_METABOLISM (ES=-0.618 6, NP=0.006 7)
- NEUROACTIVE_LIGAND_RECEPTOR_INTERACTION (ES=-0.503 3, NP=0.009 6)
- MATURITY_ONSET_DIABETES_OF_THE_YOUNG (ES=-0.725 6, NP=0.018 8)
- BUTANOATE_METABOLISM (ES=-0.674 1, NP=0.024 4)
- LYSINE_DEGRADATION (ES=-0.577 6, NP=0.029 5)
- PANTOTHENATE_AND_COA_BIOSYNTHESIS (ES=-0.625 0, NP=0.030 0)
- RIBOFLAVIN_METABOLISM (ES=-0.741 8, NP=0.031 5)
- STEROID_HORMONE_BIOSYNTHESIS (ES=-0.637 0, NP=0.038 4)
- VALINE_LEUCINE_AND_ISOLEUCINE_DEGRADATION (ES=-0.651 3, NP=0.038 8)
- OLFACTORY_TRANSDUCTION (ES=0.531 7, NP=0.048 0)

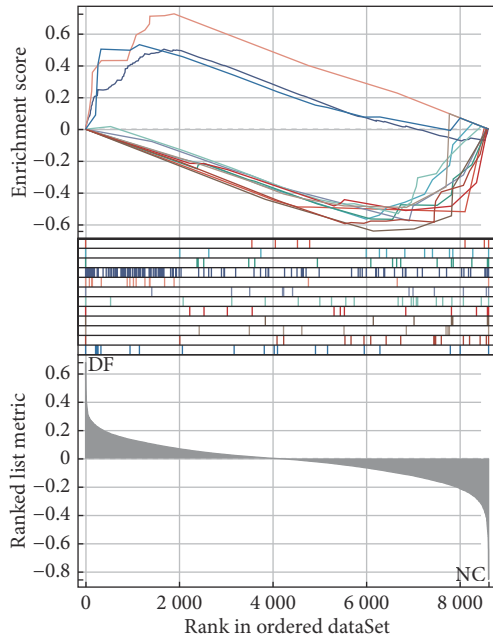


图5 糖尿病足溃疡全基因GSEA分析富集通路 ($P < 0.05$)

Fig 5 Diabetic foot ulcer GSEA pathway ($P < 0.05$)

MMP8、MMP9在糖尿病伤口愈合中发挥着重要作用^[10-11]；CXCL家族成员CXCL8、CXCL10在高压氧治疗DFU中上调，可能起促进血管生成作用^[12]；过氧化物酶体PPAR激动剂已在临床用于治疗2型糖尿病和高胆固醇血症^[13]。本研究进一步证实MMP家族、CXCL家族和PPAR家族可能在DFU发生发展中具有重要作用。

为进一步挖掘潜在的关键基因，本研究通过PPI蛋白互作筛选hub基因并在测试集中进行ROC验证，发现在DFU患者中，CXCL12、TLR4、JAK2、PPARA、UBC、BGN、DCN、KDR、ARNTL、CCND1等是可能起枢纽作用的hub基因，其中BGN与CCND1表现了较好的诊断效能 ($AUC < 0.7$, $P < 0.05$)，是DFU可能的生物学标志物。其中，BGN是一种与糖基化和代谢疾病相关的分泌蛋白，通过TGF- β 与Toll通路对炎症的延续和先天性免疫起重要作用^[14-15]。一些研究发现BGN与糖尿病肾病^[16-17]、糖尿病动脉硬化相关^[18]，其与DFU的关系还需要进一步证实。研究报道，肥胖或2型糖尿病的肝癌患者对细胞周期相关的蛋白CCND1缺乏十分敏感^[19]，且CCND1由Wnt通路影响血管平滑肌细胞的自噬^[20]，这也提示CCND1是一种同时与糖尿病和血管生成两者相关的蛋白，其是否与

DFU患者的血管生成障碍相关仍然需要进一步的实验验证。此外，CXCL8、CXCL12、TXN、SLIT3、KRT14、KIT、NEO1被鉴定为与DFU慢性创面相关的hub基因，其中CXCL12则作为hub基因的交集基因，可能对DFU的产生与预后起到重要的作用。CXCL12作为一种趋化因子参与DFU的内皮祖细胞归巢和新生血管生成^[21-23]，与DFU创面的炎症反应、改善缺血和真皮愈合息息相关。

本研究虽然综合了现有的多个糖尿病足测序数据集，但仍存在样本量少，缺乏足够的相关临床资料的问题，对本研究的结果产生了一定的限制。本研究结果中的样本异质性很大一部分来源于样本来源多个数据集，不同芯片和不同批次会对测序结果产生一定影响。测序数据缺乏清晰统一的采样与纳入标准以及相关临床信息如患者创面感染情况，是否用抗生素、激素等药物与治疗手段等的缺乏也是影响因素之一。本文受限于可选样本数量少、相关临床资料缺乏，仅从是否患有DFU这一大类共同点进行分析，并根据DFU患者的皮肤是非溃疡创面还是慢性溃疡创面迁延不愈展开了进一步分组分析，而未能再进一步减少组内异质性进行更细化的分析。当然生物信息学结果仅作为一种工具提供研究方向与指导，其结果仍需实验验证。下一阶段研究可根据本文结果提供的方向展开，进一步收集临床数据和样本检测，并进行细胞学、动物实验对结果进行验证以及探索有关机制。

综上，本研究通过对多个DFU患者的皮肤测序数据，鉴定了有关DFU及慢性创面愈合的相关基因，并分析其功能，表明了BGN、CCND1是预测DFU的潜在生物学标志物，为后续的研究与治疗提供了思路。

* * *

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 许樟荣. 学习国际糖尿病足工作组2019版糖尿病足临床指南, 规范糖尿病足的诊治. *中华糖尿病杂志*, 2021, 13(8): 753-757.
- [2] ZHAO J, DENG W, ZHANG Y, *et al.* Association between serum cystatin C and diabetic foot ulceration in patients with type 2 diabetes: A cross-sectional study. *J Diabetes Res*, 2016, 2016: 8029340[2022-07-27]. <https://doi.org/10.1155/2016/8029340>.
- [3] VIECELI DALLA SEGA F, CIMAGLIA P, MANFRINI M, *et al.* Circulating biomarkers of endothelial dysfunction and inflammation in predicting clinical outcomes in diabetic patients with critical limb ischemia. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(18): 10641.
- [4] SHEN W, SONG Z, ZHONG X, *et al.* Sangerbox: A comprehensive, interaction-friendly clinical bioinformatics analysis platform. *iMeta*, 2022, 1: e36[2022-07-27]. <https://doi.org/10.1002/imt2.36>.

- [5] CATRINA S B, ZHENG X. Hypoxia and hypoxia-inducible factors in diabetes and its complications. *Diabetologia*, 2021, 64(4): 709–716.
- [6] DENG L, DU C, SONG P, *et al.* The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic wound healing. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 8852759[2022-07-27]. <https://doi.org/10.1155/2021/8852759>.
- [7] XIE P, DENG B, ZHANG X, *et al.* Time in range in relation to amputation and all-cause mortality in hospitalised patients with diabetic foot ulcers. *Diabetes Metab Res Rev*, 2022, 38(2): e3498[2022-07-27]. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3498>.
- [8] NOWAK N C, MENICHELLA D M, MILLER R, *et al.* Cutaneous innervation in impaired diabetic wound healing. *Transl Res*, 2021, 236: 87–108.
- [9] SIMONEAU A, FOUSSARD N, BLANCO L, *et al.* Mortality in patients with diabetic foot ulcer: Diabetic neuropathy is not innocent. A commentary on: "Amadou C *et al.* Five-year mortality in patients with diabetic foot ulcer during 2009–2010 was lower than expected. *Diabetes Metab*. 2019. DOI: 10.1016/j.diabet.2019.04.010. *Diabetes Metab*, 2021, 47(1): 101121[2022-07-27]. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2019.101121>.
- [10] DENG W, DONG X, ZHANG Y, *et al.* Transcutaneous oxygen pressure (TcPO₂): A novel diagnostic tool for peripheral neuropathy in type 2 diabetes patients. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 105(3): 336–343.
- [11] 芮顺利, 陈天怡, 李伶, 等. 基质金属蛋白酶家族在糖尿病足溃疡愈合中的作用. *中华糖尿病杂志*, 2020, 12(9): 749–752.
- [12] DHAMODHARAN U, KARAN A, SIREESH D, *et al.* Tissue-specific role of Nrf2 in the treatment of diabetic foot ulcers during hyperbaric oxygen therapy. *Free Radic Biol Med*, 2019, 138: 53–62.
- [13] Li Y, Li Y, CHEN N, *et al.* Icariside II exerts anti-type 2 diabetic effect by targeting PPAR α / γ : Involvement of ROS/NF- κ B/IRS1 signaling pathway. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(9): 1705.
- [14] ROEDIG H, NASTASE M V, WYGRECKA M, *et al.* Breaking down chronic inflammatory diseases: The role of biglycan in promoting a switch between inflammation and autophagy. *FEBS J*, 2019, 286(15): 2965–2979.
- [15] ZHANG C, TAM T W, CHAU M K, *et al.* Effect of combined mycophenolate and rapamycin treatment on kidney fibrosis in murine lupus nephritis. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 866077[2022-09-30]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.866077>.
- [16] WILSON P G, THOMPSON J C, YODER M H, *et al.* Prevention of renal ApoB retention is protective against diabetic nephropathy: Role of TGF- β inhibition. *J Lipid Res*, 2017, 58(12): 2264–2274.
- [17] NASTASE M V, ZENG-BROUWERS J, BECKMANN J, *et al.* Biglycan, a novel trigger of Th1 and Th17 cell recruitment into the kidney. *Matrix Biol*, 2018, 68–69: 293–317.
- [18] BARTH M, SELIG J I, KLOSE S, *et al.* Degenerative aortic valve disease and diabetes: Implications for a link between proteoglycans and diabetic disorders in the aortic valve. *Diab Vasc Dis Res*, 2019, 16(3): 254–269.
- [19] LUO C, LIANG J, SHARABI K, *et al.* Obesity/type 2 diabetes-associated liver tumors are sensitive to Cyclin D1 deficiency. *Cancer Res*, 2020, 80(16): 3215–3221.
- [20] TRIPATHI M, SINGH B K, LIEHN E A, *et al.* Caffeine prevents restenosis and inhibits vascular smooth muscle cell proliferation through the induction of autophagy. *Autophagy*, 2022, 18(9): 2150–2160.
- [21] BONORA B M, CAPPELLARI R, MAZZUCATO M, *et al.* Stem cell mobilization with plerixafor and healing of diabetic ischemic wounds: A phase IIa, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Stem Cells Transl Med*, 2020, 9(9): 965–973.
- [22] KAUSAR M A, ANWAR S, ELTAYB W A, *et al.* MD simulation studies for selective phytochemicals as potential inhibitors against major biological targets of diabetic nephropathy. *Molecules*, 2022, 27(15): 4980.
- [23] SANTRA M, LIU Y C, JHANJI V, *et al.* Human SMILE-derived stromal lenticule scaffold for regenerative therapy: Review and perspectives. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(14): 7967.

(2022-07-31 收稿, 2022-10-01 修回)

编辑 余琳