

• 综述 •

糖尿病伤口愈合不良的相关机制

褚月颀 王鹏华

【摘要】 糖尿病伤口愈合不良是临床常见并亟待解决的问题。其确切发病机制尚不清楚,可能是多种复杂因素共同作用的结果。目前研究发现其可能与高血糖引起的晚期糖基化终末产物蓄积、氧化应激增强和细胞凋亡增加有关。同时,各种生长因子缺乏,炎症反应因子异常表达以及与血管新生有关的细胞,如内皮祖细胞功能障碍和细胞外基质破坏,都会阻碍糖尿病伤口的愈合。另外,高血糖所引起的表观遗传学改变可能也是造成糖尿病伤口经久不愈的原因之一。对糖尿病伤口愈合不良机制的不断探索,将为加速糖尿病伤口愈合提供新的治疗靶点。

【关键词】 糖尿病;伤口愈合;生长因子;炎症因子;血管新生;表观遗传学

Pathogenesis of impaired diabetic wound healing Chu Yuejie, Wang Penghua. Department of Diabetic Foot, The Metabolic Disease Hospital, Tianjin Medical University, Key Laboratory of Hormones and Development, Ministry of Health, Tianjin 300070, China

【Abstract】 In diabetic patients, the impaired wound healing is a common clinical problem and needs to be solved urgently. Its exact pathogenesis is unclear. It is probably the result of joint action of many complex factors. Recent studies show that it may be associated with the accumulation of advanced glycation end products, the increased oxidative stress and cell apoptosis caused by hyperglycemia. Simultaneously, growth factors deficiency, abnormal expression of inflammatory cytokines, angiogenesis-related cells dysfunction (such as endothelial progenitor cell, and extracellular matrix destruction) would hinder the wound healing in diabetic patients. Furthermore, the epigenetic changes caused by hyperglycemia might also cause a prolonged wound healing in diabetic patients. Further studies about the pathogenesis of the impaired diabetic wound healing will provide new therapeutic targets for the improvement of diabetic wound healing.

【Key words】 Diabetic mellitus; Wound healing; Growth factor; Inflammatory cytokine; Angiogenesis; Epigenetic

(Int J Endocrinol Metab, 2014, 34: 131-134)

据 2012 年世界卫生组织统计,全球糖尿病患者人数已达到三亿四千六百万。除疾病本身的危害外,糖尿病可以引起许多并发症,如血管损害、神经病变等^[1]。糖尿病足是最具破坏力且花费最高的并发症^[2]。由于神经病变和下肢动脉缺血,糖尿病患者的足部溃疡往往迁延不愈,继而发生感染、坏疽,最终不可避免的导致截趾甚至截肢。所以,糖尿病伤口愈合不良不仅极大增加了患者的致残、致死率,而且给患者本人及其家庭,乃至社会造成沉重的经济负担,是目前亟需解决的医疗问题。但导致糖尿病

伤口愈合不良的确切机制尚不明确,其可能是多种复杂的分子机制共同作用的结果。

1 高血糖与糖尿病伤口愈合

高血糖本身通过形成晚期糖基化终末产物 (AGEs) 诱导炎症因子 (肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1) 的产生并干扰胶原合成,从而对伤口愈合产生破坏性影响。研究显示,糖尿病患者皮肤组织中 AGEs 聚集会造成成纤维细胞的氧化损伤,从而使真皮层变薄,导致皮肤易受损伤,且伤后不易愈合^[3]。3-脱氧葡萄糖醛酮是 AGEs 的前体之一,将成纤维细胞放置在经 3-脱氧葡萄糖醛酮处理过的胶原培养基中培养,发现其迁移能力明显降低,这主要是由于 3-脱氧葡萄糖醛酮增加了成纤维细胞与基质的黏附力。同时,在培养的过程中蛋白质发生错误折叠的频率也较高^[4]。两年后,该研究组在同样的实验条件下又证实了成纤维细胞迁移、增殖能力的抑制是通过激

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2014.02.017

基金项目:天津市应用基础及前沿技术研究计划项目(天津市自然科学基金重点项目)(10JCZDJC19800);天津医科大学科学基金(2008KY17);天津市卫生局科技基金(09KZ87)

作者单位:300070 天津医科大学代谢病医院足病科,卫生部激素与发育重点实验室

活丝裂原活化蛋白激酶(p38/MAPK),下调细胞外信号调节激酶 1/2 和蛋白激酶 B 来实现的^[5]。因此,长期高血糖暴露更可能造成伤口的愈合不良。体内实验亦证实了这一点,将非糖尿病猪的伤口暴露于高血糖环境下,其伤口愈合时间与血糖正常对照组相比没有差别,表明伤口愈合延迟不是短期高血糖暴露所引起,而是长期高血糖造成的复杂病理现象^[6]。除形成 AGEs 外,高血糖可通过氧化应激途径影响伤口的愈合。慢性高血糖可激活线粒体活性氧簇系统的各种信号通路,包括蛋白激酶 C、c-Jun 氨基末端激酶和 p38/MAPK 途径,使炎症反应放大,细胞死亡增加^[7]。Ponugoti 等^[8]发现,活性氧簇系统的激活会导致叉头转录因子(FOXO)家族成员活化,后者可以通过抑制成纤维细胞增殖和促进其凋亡而延缓伤口愈合。Bhan 等^[9]发现,与凋亡相关的细胞内标志物,如 B 细胞淋巴瘤-2 基因(Bcl-2),在糖尿病大鼠的伤口中表达明显减少,提示高血糖可能通过诱导细胞凋亡,从而使肉芽组织形成减少,造成伤口愈合不良。

临床研究也提示高血糖与伤口愈合不良存在相关性。63 例糖尿病患者中,糖化血红蛋白 A1c 水平较高者,足溃疡愈合时间明显延长^[10]。对 1 000 例足踝外科手术患者进行回顾性分析发现,糖尿病患者术后伤口感染的发生率(13.2%)显著高于非糖尿病患者(2.8%),糖尿病患者需要住院治疗者是非糖尿病患者的 5 倍^[11]。

2 生长因子的表达与糖尿病伤口愈合

生长因子在伤口愈合过程中可影响细胞的增殖,诱导炎症细胞迁移到伤口床并刺激蛋白合成。糖尿病伤口愈合不良以各种生长因子的表达改变为特征。在糖尿病伤口愈合的早期阶段,血管内皮生长因子、胎盘生长因子、角质细胞生长因子、成纤维细胞生长因子-1、成纤维细胞生长因子-2、胰岛素样生长因子-1、胰岛素样生长因子-2、转化生长因子- β 及神经生长因子的表达和含量是降低的。与非糖尿病者相比,糖尿病患者角质细胞生长因子、胰岛素样生长因子-1 及胰岛素样生长因子-2 的基因表达延迟,而成纤维细胞生长因子-1 和成纤维生长因子-2 的基因表达则发生的更早^[12]。鉴于伤口中的生长因子来源于多种细胞,很难明确糖尿病伤口中各种生长因子缺乏的机制。研究显示,在慢性伤口中转化生长因子- β 的缺乏可以导致一氧化氮合酶的表达水平和活性增加,从而使一氧化氮增多,细胞和组织中的一氧化氮信号通路受到影响,造成平滑肌

松弛,导致血流增加。然而,在伤口愈合过程中,血管收缩有助于止血。因此,一氧化氮活化在伤口愈合早期可引起不良作用。另外,其活化也可阻碍血小板聚集和白细胞黏附。糖尿病足患者血浆一氧化氮水平增加还可能与溃疡复发有关。

目前,各种生长因子已被广泛应用于临床以加速糖尿病伤口愈合。但是,应用于治疗的生长因子半衰期比较短,不能充分发挥作用。将某些载体与生长因子结合,如以聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)为载体制成表皮生长因子纳米微球可克服这种局限性。将编码血管内皮生长因子的微小环状 DNA 质粒与一种精氨酸阳离子聚合物结合,治疗糖尿病鼠皮肤溃疡的疗效明显优于传统的生长因子^[13-14]。

3 炎症反应因子与糖尿病伤口愈合

免疫功能的改变可能也是造成糖尿病患者伤口愈合不良的原因。趋化作用、吞噬作用、杀菌能力的降低以及热休克蛋白的减少与糖尿病伤口愈合的早期阶段密切相关。研究显示,与对照组相比,在年轻的 1 型糖尿病患者中胰岛素样生长因子-1 的水平下降,而白细胞介素-6 和白细胞介素-8 的水平升高^[15]。合并足溃疡的糖尿病患者,其免疫状态特殊,表现为循环中急性时相蛋白、细胞因子、趋化因子水平的上调,使全身及伤口局部的炎症反应扩大化^[16]。全身促炎症反应标志物及伤口局部细胞因子和趋化因子水平的升高是造成损伤修复机制异常的首要原因^[17]。过量的肿瘤坏死因子- α 使伤口床炎症浸润持续发生,并通过抑制转化生长因子- β_1 的释放而阻止纤维血管生成阶段的启动。与此同时,由于伤口创面肿瘤坏死因子- α 相关的生长因子缺乏,造成与肉芽组织形成相关的细胞如成纤维细胞、肌纤维细胞及内皮细胞发生凋亡,从而影响伤口的正常愈合。

胰高血糖素样肽-1 是一种新型降糖药。除发挥降糖作用外,还具有多器官、细胞保护、营养及抗炎作用^[18]。Ta 等^[19]用二肽基肽酶-4 特异性抑制剂抑制 GLP-1 分解,发现其在降糖的同时也抑制了巨噬细胞所介导的炎症反应,并推测其可以通过抑制各种基质金属蛋白酶(MMPs)的表达来促进组织修复。

4 血管新生与糖尿病伤口愈合

血管新生形成肉芽组织是伤口愈合的重要过程。除多种生长因子缺乏影响糖尿病伤口的血管新生功能外,多项研究显示,在糖尿病状态下,内皮祖细胞(EPCs)的数量及功能降低^[20-22]。EPCs 经过增殖、迁移、分化,形成新生血管,也是许多促血管生

成因子及细胞因子的重要来源之一^[23]。从糖尿病患者体内分离的 EPCs, 其增殖力、黏附力及形成血管的能力均降低。为明确 EPCs 在组织修复和血管新生过程中的作用, 研究者用高血糖及活性氧簇双重刺激 EPCs, 发现其产生大量促炎性细胞因子, 而且, 通过升高诱导型一氧化氮合酶, 降低内皮型一氧化氮合酶水平改变一氧化氮的产生^[24]。另有研究显示, 高浓度的 AGEs (200 mg/L) 会破坏 EPCs 的正常生理功能, 导致内皮型一氧化氮合酶及 Bcl-2 表达下调, 并以一种 MAPK-(ERK/p38/JNK) 依赖的方式升高环氧合酶-2、Bax、核因子- κ B 及 caspase-3 的水平^[26]。

5 细胞外基质与糖尿病伤口愈合

细胞外基质在伤口修复中的功能是为一定的细胞黏附作用提供支架。糖尿病伤口愈合的主要障碍是细胞外基质在数量和质量上的异常。糖尿病足溃疡患者细胞外基质的形成减少, 与合成减少、蛋白水解酶降解增加、晚期糖基化终末产物蓄积以及细菌污染物通过生物膜扩散所造成的毒性作用有关。另外, AGEs 对细胞外基质蛋白的修饰会破坏整合素介导的角质形成细胞在底部基质的黏附, 从而造成糖尿病溃疡再上皮化失败^[26]。

MMPs 可以降解细胞外基质的多种成分, 在启动伤口清创以及血管新生、上皮化和瘢痕组织修复中起关键作用。研究显示, 在糖尿病伤口中 MMPs 与组织型金属蛋白酶抑制剂 (TIMP) 之间的平衡受到破坏, TIMP 水平下降。MMP-9 与 TIMP-1 比值升高与伤口愈合不良呈正相关^[27-28]。在临床治疗中可以通过调节 MMPs 的水平达到促进糖尿病伤口愈合的目的。有研究用一种蛋白酶吸附性辅料治疗慢性糖尿病足溃疡, 发现伤口灌流液中 MMP-2 的活性下降, 伤口愈合时间较对照组明显缩短^[29]。用自体富血小板凝胶治疗糖尿病难愈性皮肤溃疡, 可以降低伤口肉芽组织中 MMP-1 及 MMP-9 水平, 并降低 MMP-9 与 TIMP-1 比值, 从而纠正这种蛋白酶的失衡状态, 使溃疡加速愈合^[32]。

6 糖尿病伤口愈合不良的表现遗传学机制

近来已经证实, 在伤口愈合过程中高血糖可导致 microRNA 信号改变。在一项糖尿病与非糖尿病小鼠伤口愈合的比较中, 发现了 14 个 microRNA 表达不同, 如涉及单核细胞和成纤维细胞炎症反应调控的 miR-146b 上调 30 倍以上^[31]。即使基本表达水平相同, 在伤口愈合期间也会出现明显差异, 如 miR-21 在糖尿病患者非损伤的皮肤组织中上调, 但在糖尿

病伤口愈合时其表达下降, 而其减少会造成细胞迁移能力下降。高血糖也可引起内皮细胞的表现遗传学发生改变。人脐静脉内皮细胞在体外暴露于高血糖, miR-221 表达增加, 干细胞因子受体 c-kit 表达减少^[32]。用一种 miR-221 特异性反义抑制剂来减少 miR-221 的表达, 可使 c-kit 蛋白水平恢复, 使高血糖条件下受损的人脐静脉内皮细胞发生迁移, 提示 miR-221 抑制剂可能是糖尿病足溃疡血管生成受损的一种靶向治疗药物。研究显示, miR-146a 在糖尿病患者伤口中的表达显著减少, 与其靶基因白细胞介素-1 受体相关激酶 1 和肿瘤坏死因子受体相关因子 6 及其相关的核因子- κ B、白细胞介素-6 的表达增加有关, 导致炎症反应增强, 可能是糖尿病伤口慢性炎症反应的原因之一^[33]。

综上所述, 糖尿病伤口愈合不良的相关机制复杂, 许多发病机制至今尚未阐明。但随着各种分子生物学技术的发展、持续局部给药系统的完善、大量组织工程研究的应用等, 将加速糖尿病伤口愈合, 降低截肢率。

参 考 文 献

- [1] Pirola L, Balcerzyk A, Okabe J, et al. Epigenetic phenomena linked to diabetic complications[J]. Nat Rev Endocrinol, 2010, 6(12): 665-675.
- [2] Cornell S, Dorsey VJ. Diabetes pharmacotherapy in 2012: considerations in medication selection[J]. Postgrad Med, 2012, 124(4): 84-94.
- [3] Niu Y, Cao X, Song F, et al. Reduced dermis thickness and AGE accumulation in diabetic abdominal skin[J]. Int J Low Extrem Wounds, 2012, 11(3): 224-230.
- [4] Loughlin DT, Artlett CM. 3-Deoxyglucosone-collagen alters human dermal fibroblast migration and adhesion; implications for impaired wound healing in patients with diabetes[J]. Wound Repair Regen, 2009, 17(5): 739-749.
- [5] Loughlin DT, Artlett CM. Modification of collagen by 3-deoxyglucosone alters wound healing through differential regulation of p38 MAP kinase[J]. PLoS One, 2011, 6(5): e18676.
- [6] Velander P, Theopold C, Hirsch T, et al. Impaired wound healing in an acute diabetic pig model and the effects of local hyperglycemia[J]. Wound Repair Regen, 2008, 16(2): 288-293.
- [7] Sivitz WI, Yorek MA. Mitochondrial dysfunction in diabetes: from molecular mechanisms to functional significance and therapeutic opportunities[J]. Antioxid Redox Signal, 2010, 12(4): 537-577.
- [8] Ponugoti B, Dong G, Graves DT. Role of forkhead transcription factors in diabetes-induced oxidative stress[J]. Exp Diabetes Res, 2012; 2012: 939751.
- [9] Bhan S, Mitra R, Arya AK, et al. A study on evaluation of apoptosis and expression of bcl-2-related marker in wound healing of streptozotocin-induced diabetic rats[J]. ISRN Dermatol,

- 2013, 2013;739054.
- [10] Markuson M, Hanson D, Anderson J, et al. The relationship between hemoglobin A(1c) values and healing time for lower extremity ulcers in individuals with diabetes[J]. *Adv Skin Wound Care*, 2009, 22, (8):365-372.
- [11] Wukich DK, Lowery NJ, McMillen RL, et al. Postoperative infection rates in foot and ankle surgery: a comparison of patients with and without diabetes mellitus[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2010, 92(2):287-295.
- [12] Peplow PV, Baxter GD. Gene expression and release of growth factors during delayed wound healing: a review of studies in diabetic animals and possible combined laser phototherapy and growth factor treatment to enhance healing [J]. *Photomed Laser Surg*, 2012, 30(11):617-636.
- [13] Chu Y, Yu D, Wang P, et al. Nanotechnology promotes the full-thickness diabetic wound healing effect of recombinant human epidermal growth factor in diabetic rats [J]. *Wound Repair Regen*, 2010, 18(5):499-505.
- [14] Kwon MJ, An S, Choi S, et al. Effective healing of diabetic skin wounds by using nonviral gene therapy based on minicircle vascular endothelial growth factor DNA and a cationic dendrimer[J]. *J Gene Med*, 2012, 14(4):272-278.
- [15] AboElAsrar MA, Elbarbary NS, Elshennawy DE, et al. Insulin-like growth factor-1 cytokines cross-talk in type 1 diabetes mellitus: relationship to microvascular complications and bone mineral density[J]. *Cytokine*, 2012, 59(1): 86-93.
- [16] Jagannathan-Bogdan M, McDonnell ME, Shin H, et al. Elevated proinflammatory cytokine production by a skewed T cell compartment requires monocytes and promotes inflammation in type 2 diabetes[J]. *J Immunol*, 2011, 186(2):1162-1172.
- [17] Weigelt C, Rose B, Poschen U, et al. Immune mediators in patients with acute diabetic foot syndrome [J]. *Diabetes Care*, 2009, 32(8):1491-1496.
- [18] Gupta V. Pleiotropic effects of incretins[J]. *Indian J Endocrinol Metab*, 2012, 16 (Suppl 1):S47-S56.
- [19] Ta NN, Li Y, Schuyler CA, et al. DPP-4 (CD26) inhibitor alogliptin inhibits TLR4-mediated ERK activation and ERK-dependent MMP-1 expression by U937 histiocytes[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 213(2):429-435.
- [20] Liew A, McDermott JH, Barry F, et al. Endothelial progenitor cells for the treatment of diabetic vasculopathy: panacea or Pandora's box?[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2008, 10(5):353-366.
- [21] Jarajapu YP, Grant MB. The promise of cell-based therapies for diabetic complications: challenges and solutions[J]. *Circ Res*, 2010, 106(5):854-869.
- [22] Saito H, Yamamoto Y, Yamamoto H. Diabetes alters subsets of endothelial progenitor cells that reside in blood, bone marrow, and spleen [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 302(6):C892-C901.
- [23] Higashi Y, Noma K, Yoshizumi M, et al. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases[J]. *Circ J*, 2009, 73(3):411-418.
- [24] Reinhard H, Jacobsen PK, Lajer M, et al. Multifactorial treatment increases endothelial progenitor cells in patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2010, 53(10):2129-2133.
- [25] Shen C, Li Q, Zhang YC, et al. Advanced glycation endproducts increase EPC apoptosis and decrease nitric oxide release via MAPK pathways[J]. *Biomed Pharmacother*, 2010, 64(1):35-43.
- [26] Zhu P, Yang C, Chen LH, 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.
- [27] Liu Y, Min D, Bolton T, et al. Increased matrix metalloproteinase-9 predicts poor wound healing in diabetic foot ulcers[J]. *Diabetes Care*, 2009, 32(1):117-119.
- [28] Muller M, Trocme C, Lardy B, et al. Matrix metalloproteinases and diabetic foot ulcers: the ratio of MMP-1 to TIMP-1 is a predictor of wound healing[J]. *Diabet Med*, 2008, 25(4):419-426.
- [29] Motzkau M, Tautenhahn J, Lehnert H, et al. Expression of matrix-metalloproteases in the fluid of chronic diabetic foot wounds treated with a protease absorbent dressing[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2011, 119(5):286-290.
- [30] 何利平, 王椿, 陈大伟, 等. APG 治疗糖尿病难治性皮肤溃疡对创面肉芽组织中 MMP-1、MMP-9 及 TIMP-1 水平的影响[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2012, 43(5):757-761.
- [31] Madhyastha R, Madhyastha H, Nakajima Y, et al. MicroRNA signature in diabetic wound healing: promotive role of miR-21 in fibroblast migration[J]. *Int Wound J*, 2012, 9(4):355-361.
- [32] Li Y, Song YH, Li F, et al. MicroRNA-221 regulates high glucose-induced endothelial dysfunction [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 381(1):81-83.
- [33] Xu J, Wu W, Zhang L, et al. The role of microRNA-146a in the pathogenesis of the diabetic wound-healing impairment: correction with mesenchymal stem cell treatment [J]. *Diabetes*, 2012, 61(11):2906-2912.

(收稿日期:2013-09-13)