

基于高通量转录组探索CCNB1、ASPM在糖尿病足溃疡治疗的应用

阎复利^{1*}, 楚俞君^{2*}, 高永昌^{3#}

¹保定泰和康复医院护理部, 河北 保定

²中国医学科学院北京协和医学院护理学院, 北京

³河北易县中医医院外科, 河北 保定

收稿日期: 2024年5月26日; 录用日期: 2024年6月21日; 发布日期: 2024年6月28日

摘要

背景: 糖尿病足溃疡是糖尿病患者常见的并发症, 其危害性不容小觑, 然而其分子机制尚不完全清楚。方法: 利用GEO数据库中的糖尿病足溃疡数据集GSE143735, 通过limma包筛选差异表达基因(DEGs), 并进行功能富集分析和GSEA。利用WGCNA构建共表达网络, 筛选重要模块, 再通过STRING数据库构建PPI网络。通过Cytoscape可视化并获取靶点基因。通过基因表达量热图展示核心基因在糖尿病足溃疡和正常样本中的表达差异。miRNA预测网站用于找出调节靶点基因的miRNA。结果: 发现了1778个差异表达基因。功能富集分析表明这些基因主要涉及伤口愈合、细胞连接等生物学过程。WGCNA和PPI网络分析鉴定了CCNB1和ASPM等核心基因, 并通过热图展示其在疾病样本中的低表达。miRNA预测进一步揭示了这些基因在糖尿病足溃疡中的潜在作用。结论: CCNB1和ASPM在糖尿病足溃疡中低表达, 它们可能在糖尿病足溃疡的发展中发挥重要作用。

关键词

糖尿病足溃疡, 分子机制, 差异表达基因, 靶点基因

Exploring the Application of CCNB1 and ASPM in the Treatment of Diabetes Foot Ulcer Based on High-Throughput Transcriptome

Fuli Yan^{1*}, Yujun Chu^{2*}, Yongchang Gao^{3#}

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 阎复利, 楚俞君, 高永昌. 基于高通量转录组探索 CCNB1、ASPM 在糖尿病足溃疡治疗的应用[J]. 临床医学进展, 2024, 14(6): 963-974. DOI: 10.12677/acm.2024.1461867

¹Nursing Department, Baoding Taihe Rehabilitation Hospital, Baoding Hebei

²School of Nursing, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing

³Department of Surgery, Yixian Hospital of Traditional Chinese Medicine, Baoding Hebei

Received: May 26th, 2024; accepted: Jun. 21st, 2024; published: Jun. 28th, 2024

Abstract

Background: Diabetic foot ulcer (DFU) is a common complication in diabetic patients, posing significant health risks. However, its molecular mechanisms remain incompletely understood. **Methods:** The diabetic foot ulcer dataset GSE143735 from the GEO database was utilized for differential gene expression analysis using the limma package, followed by functional enrichment analysis and Gene Set Enrichment Analysis (GSEA). Weighted Gene Co-expression Network Analysis (WGCNA) was employed to construct co-expression networks and identify key modules, followed by Protein-Protein Interaction (PPI) network construction using the STRING database. Visualize and obtain target genes through Cytoscape. The differential expression of core genes in diabetes foot ulcer and normal samples was demonstrated by gene expression calorimetry. miRNA prediction websites were utilized to identify miRNAs regulating core genes. **Results:** A total of 1778 differentially expressed genes were identified. Functional enrichment analysis revealed involvement of these genes in biological processes such as wound healing and cell adhesion. WGCNA and PPI network analysis identified core genes CCNB1 and ASPM, and demonstrated their low expression in disease samples through heatmaps. While miRNA prediction further elucidated their potential roles in diabetic foot ulcers. **Conclusions:** CCNB1 and ASPM are down regulated in diabetic foot ulcers, suggesting their potential importance in the development of this condition.

Keywords

Diabetic Foot Ulcer, Molecular Mechanisms, Differentially Expressed Genes, Target Genes

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

糖尿病足溃疡是糖尿病患者常见的并发症，其发病率逐年增加[1]。根据世界卫生组织的数据，糖尿病足溃疡是导致糖尿病患者截肢的主要原因之一，其严重性不仅体现在患者的生活质量受到严重影响，还会导致严重的健康问题，甚至危及患者的生命[2] [3]。

糖尿病患者的免疫系统功能常常受损，足部溃疡容易受到外界微生物的侵袭，如细菌、真菌等，导致感染[4]。感染不仅会加重溃疡的病情，还可能蔓延至周围组织，甚至全身，引发全身性感染，威胁患者的生命。由于糖尿病患者往往存在神经病变和血管病变，足部溃疡的愈合速度较一般人缓慢[5] [6]。此外，溃疡的长期存在会引起周围组织的坏死和溃疡深部的感染，可能导致骨髓炎、关节炎等严重并发症的发生，甚至最终导致截肢[7] [8]。由于糖尿病足溃疡的治疗通常需要长期的医疗护理和药物治疗，加之可能需要进行手术干预，治疗费用相对较高，给患者经济上带来巨大压力，也增加了家庭和社会的负担[9]。总的来说，糖尿病足溃疡的危害性极大，对患者的健康和生活造成严重影响，也给医疗卫生系统带来了巨大的负担。

因此,深入研究糖尿病足溃疡的发病机制,寻找更有效的治疗方法和预防策略,显得尤为重要。

随着生物信息学技术的发展,研究者们有了更多的工具和手段来探索疾病的分子机制。生物信息学技术通过分析大规模的生物学数据,如基因组学、转录组学和蛋白质组学数据,揭示了疾病发生发展的潜在机制[10],也逐渐成为了作为肿瘤学精密医学的支柱[11]。这些技术的优势在于能够全面、系统地分析疾病相关基因的表达、调控和相互作用,为疾病的治疗和预防提供了新的思路 and 策略[12]。然而,尽管生物信息学技术有着巨大的潜力,但目前对于糖尿病足溃疡的分子机制尚不完全清楚。因此,有必要进一步开展深入的研究,探索糖尿病足溃疡发生发展的分子机制,寻找潜在的靶点和治疗策略。

近年来,生物信息学技术的发展为揭示疾病的分子机制提供了新的途径。在这一背景下,本研究旨在利用生物信息学技术挖掘糖尿病足溃疡的核心基因,并探索其在疾病发展中的作用。我们关注了 CCNB1 和 ASPM 这两个基因,目前对于 CCNB1 和 ASPM 与糖尿病足溃疡之间的关系尚不明确,因此有必要开展深入的研究。本文拟利用生物信息学技术挖掘糖尿病足溃疡与正常样本之间的核心基因,并且进行富集分析、通路分析。利用公共数据集验证 CCNB1、ASPM 在糖尿病足溃疡中的显著作用。

2. 数据收集及处理

2.1. 糖尿病足溃疡数据来源

在这项研究中,糖尿病足溃疡数据集 GSE143735 配置文件是从 GPL11154 生成的 GEO 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中下载的。GSE143735 包括 9 个糖尿病足溃疡和 4 个正常样本,用于识别糖尿病足溃疡的差异表达基因(DEGs)。

2.2. DEGs 的筛选

R 包“limma”用于 GSE143735 的基因表达矩阵的探针汇总和背景校正。Benjamini-Hochberg 方法用于调整原始 p 值。使用错误发现率(FDR)计算倍数变化(FC)。筛选 DEGs 的标准是 $P < 0.05$, $|\log FC| > 1.5$, 作出火山图,获得 DEGs 列表。

2.3. 功能富集分析

基因本体分析(GO)和京都基因和基因组百科全书(KEGG)分析是评估基因功能和生物学途径的计算方法。本研究将韦恩图筛选出的差异基因列表输入 KEGG rest API (<https://www.kegg.jp/kegg/rest/keggapi.html>)获取了最新的 KEGG Pathway 的基因注释,以此作为背景,将基因映射到背景集合中,使用 R 软件包 cluster Profiler (version 3.14.3)进行富集分析,以获得基因集富集的结果。还使用 R 软件包 org.Hs.eg.db (version 3.1.0)中的基因的 GO 注释,以此作为背景,将基因映射到背景集合中,设定最小基因集为 5,最大基因集为 5000, P value of < 0.05 and a FDR of < 0.25 被认为是有统计学意义的衡量标准。

2.4. GSEA 分析

对于 Gene set enrichment analysis (GSEA),我们从 GSEA (DOI:10.1073/pnas.0506580102, <http://software.broadinstitute.org/gsea/index.jsp>)网站获得了 GSEA 软件(version 3.0),根据疾病样本和正常样本将样本分成两组,并从 Molecular Signatures Database (DOI:10.1093/bioinformatics/btr260, <http://www.gsea-msigdb.org/gsea/downloads.jsp>)下载了 c2.cp.kegg.v7.4.symbols.gmt 子集合,用以评估相关途径和分子机制,基于基因表达谱和表型分组,设定最小基因集为 5,最大基因集为 5000,一千次重抽

样, P value of <0.05 and a FDR of <0.25 被认为具有统计学意义。并且对全基因组进行了 GO 和 KEGG 分析。由 GSEA 制定。

2.5. 加权基因共表达网络分析(WGCNA)

首先, 我们利用 GSE143735 的基因表达矩阵, 分别计算了每个基因的 MAD (Median Absolute Deviation), 剔除了 MAD 最小的前 50% 的基因, 利用 R 软件包 WGCNA 的 good Samples Genes 方法去除了离群的基因和样本, 进一步的使用 WGCNA 构建 scale-free co-expression network, 具体而言, 首先, 对所有成对基因都执行皮尔逊相关矩阵和平均连锁法, 然后, 使用幂函数 $A_{mn} = |C_{mn}|^\beta$ 构造加权邻接矩阵(C_{mn} = Gene_m 和 Gene_n 之间的 Pearson 相关; A_{mn} = Gene m 和 Gene n 之间的邻接)。β 是一个软阈值参数, 可以强调基因之间的强相关性, 减弱弱相关性及负相关性的影响。选择 10 的幂后, 将邻接转换为拓扑重叠矩阵(TOM), 该矩阵可以测量一个基因的网络连通性, 该网络连通性定义为其与所有其他基因的邻接之和, 用于网络基因比率, 并计算相应的相异度(1-TOM)。为了将具有相似表达谱的基因分类为基因模块, 根据基于 TOM 的相异性度量进行平均连锁层次聚类, 基因树状图的最小大小(基因组)为 30。设置敏感度为: 3。为了进一步分析模块, 我们计算了模块特征基因的相异性, 为模块树状图选择了一条切割线, 并合并了一些模块。此外我们还合并了距离小于 0.25 的模块, 值得注意的是 grey 模块被认为是无法被分配给任何模块的基因集合。利用 WGCNA 分析, 我们获得了重要模块中的基因列表, 用于与 DEGs 进行取交集, 进一步筛选差异基因列表, 然后进行后续的 PPI 网络的构建与分析。

2.6. 蛋白质 - 蛋白质相互作用(PPI)网络的构建与分析

STRING 数据库(<http://string-db.org/>)旨在收集、评分和整合所有公开可用的蛋白质 - 蛋白质相互作用信息来源, 并通过计算预测来补充这些来源。本研究将差异基因列表输入到 STRING 数据库中, 构建预测核心基因的 PPI 网络(置信度 > 0.4)。Cytoscape 软件可以为生物学家提供生物网络分析和二维(2D)可视化。本研究通过 Cytoscape 软件对 string 数据库形成的 PPI 网络进行可视化和预测核心基因。首先我们将 PPI 网络导入到 cytoscape 软件中, 通过五种算法(MCC, MNC, Degree, Closeness, EcCentricity)分别计算相关性最好的十个基因并取交集, 可视化后导出核心基因列表。

2.7. 基因表达量热图

我们使用 R 包 heatmap 对 PPI 网络中寻找到的核心基因在糖尿病足溃疡数据集 GSE143735 的基因表达矩阵中的表达量作出了热图, 可视化核心基因在糖尿病足溃疡和正常样本间的表达差异。

2.8. miRNA

我们利用 miRNA 预测网站来寻找靶点基因的 miRNA 信息。在我们的研究中, 使用了在线数据库 TargetScan (https://www.targetscan.org/vert_80/), miRTarBase (https://mirtarbase.cuhk.edu.cn/~miRTarBase/miRTarBase_2022/php/index.php)筛选调节核心基因的 miRNA。

3. 结果

3.1. 差异表达基因分析

在本研究中, 按照设定好的截断值, 我们对糖尿病足溃疡数据集 GSE143735 的基因表达矩阵鉴定差异表达基因, 最后共得到 1778 个 DEGs (图 1)。

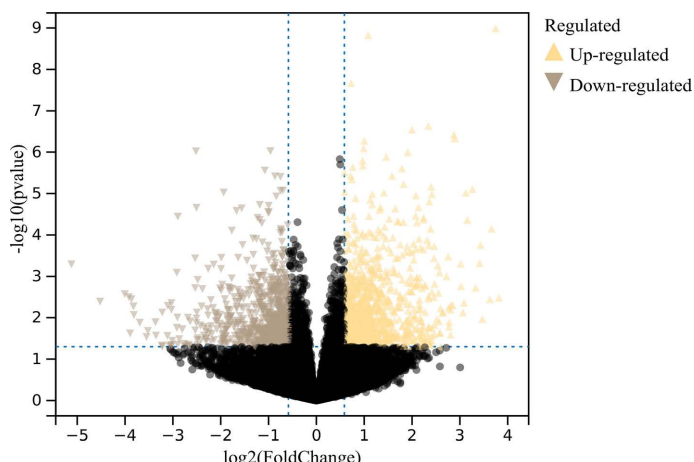


Figure 1. Differential gene analysis. A total of 1778 DEGs
图 1. 差异基因分析。共有 1778 个差异基因

3.2. 功能富集分析

3.2.1. DEGs 功能富集分析

我们对这些差异表达基因进行 GO 和 KEGG 分析, 根据 GO 分析, 在 BP 富集项目中, 差异基因主要富集在伤口愈合、表皮细胞分化、皮肤发育(图 2(A)); 在 CC 富集项目中主要富集在细胞-细胞连接、内吞囊泡(图 2(B)); 在 MF 富集项目中主要富集在蛋白激酶活性、RNA 结合、生长因子结合(图 2(C))。在 KEGG 分析中, 我们发现 DEGs 主要集中在代谢通路、TRP 通道的炎症介质调节、细胞周期、细胞凋亡、脂肪酸代谢、胰岛素信号通路(图 2(D))。

3.2.2. GSEA 分析

另外, 我们对全基因组进行 GSEA 富集分析, 旨在寻找非差异表达基因中可能存在的富集项, 并验证差异表达基因的结果。富集项与差异表达基因的 GO KEGG 富集项的交集如图所示, 结果提示了差异表达基因主要富集在伤口愈合、表皮细胞分化、皮肤发育、内吞囊泡、生长因子结合、代谢通路、TRP 通道的炎症介质调节、细胞周期、细胞凋亡、脂肪酸代谢、胰岛素信号通路等(图 2(E)~(H))。这些富集项目结果可能说明了差异基因列表可能与足溃疡有很强的相关性。

3.3. WGCNA 分析

软阈值功率的选择是 WGCNA 分析中的重要一步。进行网络拓扑分析以确定软阈值功率。WGCNA 分析中的软阈值功率设置为 1 (图 3(A))。构建了所有基因的层次聚类树, 生成并分析重要模块之间的交互, 生成了模块与表型相关性热图(图 3(B)), 我们计算了模块特征向量与基因的表达相关性以获得 MM, 根据切断标准($|MM| > 0.8$), 获得重点模块的 GS 与 MM 相关性散点图(图 3(C))。我们将重点模块上的枢纽基因与上述分析中的 KEGG 的关键通路上的相关基因取得交集, 得到了 703 个交集基因(图 3(D)), 这些基因可能在糖尿病足溃疡中可能会起关键作用, 并将这些基因用于后续的 PPI 网络的构建和分析, 识别靶点基因。

3.4. 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建与分析

利用上一步的分析结果, 我们构建了基因列表的 PPI 网络(图 4(A)), 由 STRING 在线数据库构建并由 Cytoscape 软件分析, 然后利用 MCC、MNC、Degree、Closeness、EcCentricity 五种算法识别中枢基因(图 4(B)~(F)), 并作出韦恩图取得交集(图 4(G)), 最终我们获得了 2 个核心基因(CCNB1, ASPM)。

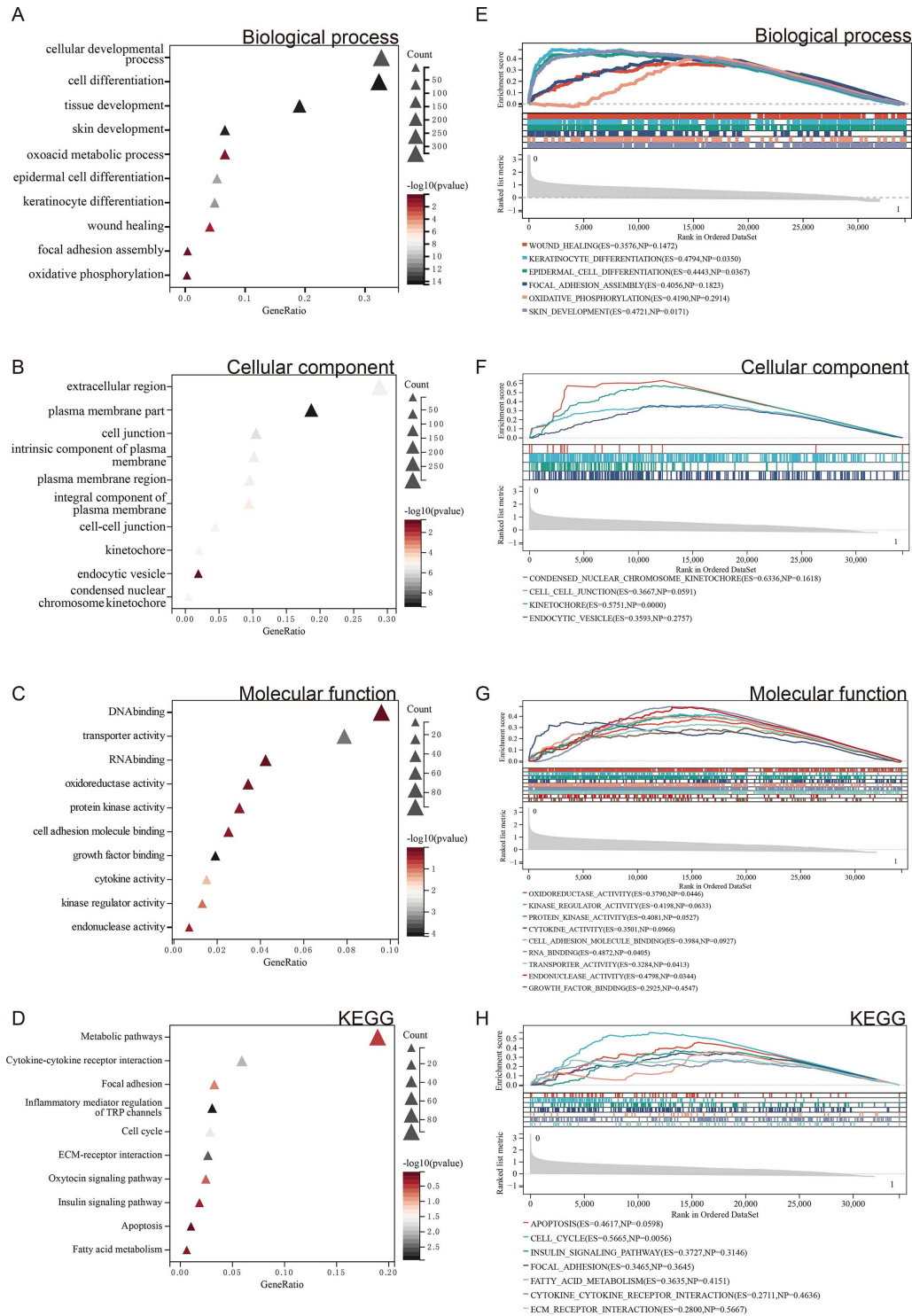


Figure 2. (A)~(D) Results of GOKEGG enrichment analysis of DEGs: (A) Biological process analysis; (B) Cellular component analysis; (C) Molecular function analysis; (D) Results of KEGG enrichment analysis; (E)~(H) Results of GSEA enrichment analysis of DEGs: (E) Biological process analysis; (F) Cellular component analysis; (G) Molecular function analysis; (H) KEGG enrichment analysis

图 2. (A)~(D) DEGs 的 GOKEGG 富集分析结果: (A) 生物过程分析; (B) 细胞组分分析; (C) 分子功能分析; (D) KEGG 富集分析结果; (E)~(H) DEGs 的 GSEA 富集分析结果: (E) 生物过程分析; (F) 细胞组分分析; (G) 分子功能分析; (H) KEGG 富集分析

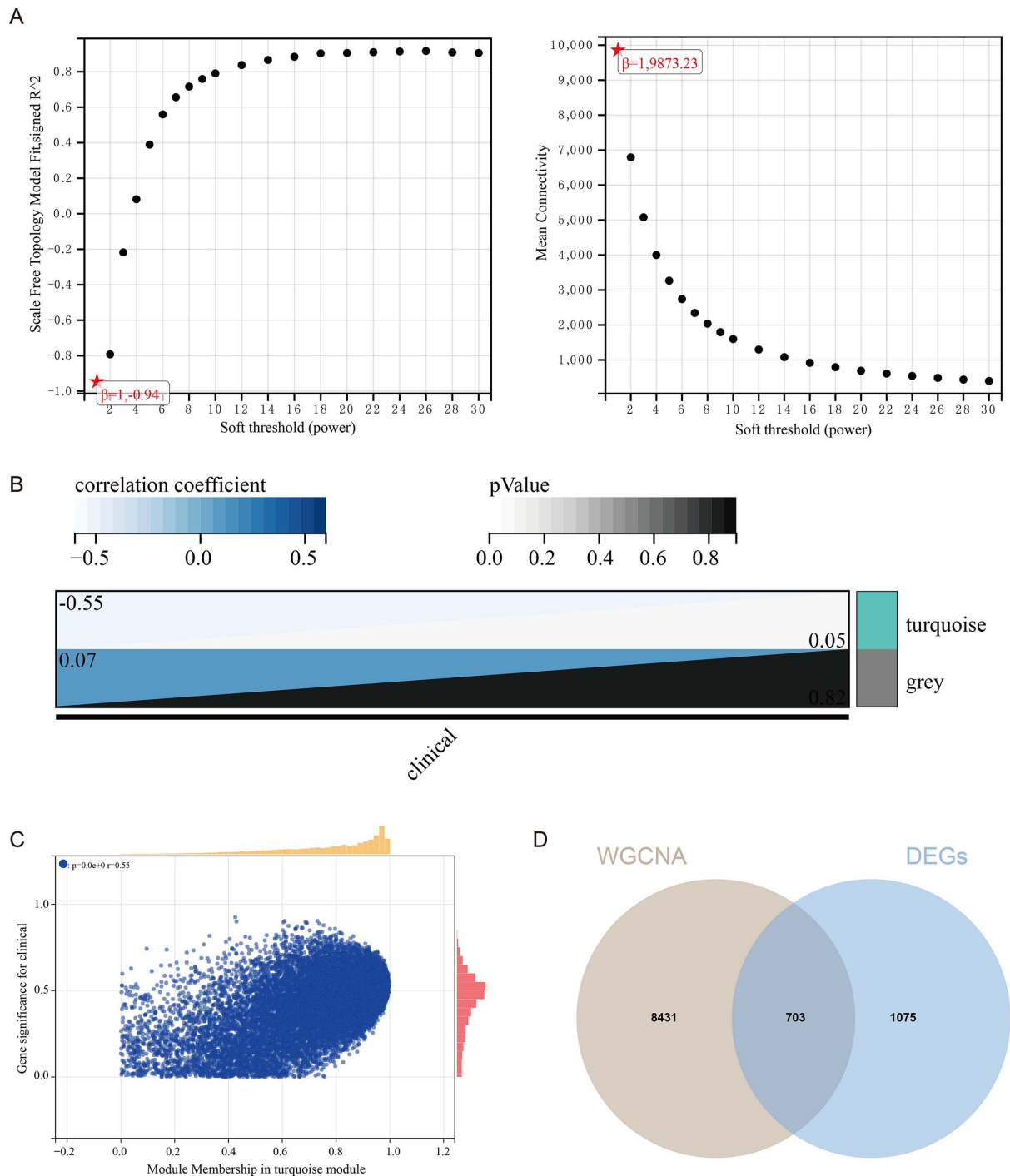


Figure 3. WGCNA analysis. (A) $\beta = 1, -0.94$. $\beta = 19873.23$; (B) The heat map of correlation between modules and phenotypes; (C) The scatter map of correlation between GS and MM of related hub genes; (D) The DEGs screened by WGCNA and DEGs was used to obtain venn map. 703 intersection genes were obtained

图 3. WGCNA 分析。(A) $\beta = 1, -0.94$. $\beta = 19873.23$; (B) 模块与表型之间相关性的热图。(C) 相关中心基因的 GS 和 MM 之间的相关性散点图; (D) WGCNA 筛选的 DEGs 和 DEGs 用于获得 venn 图。获得了 703 个交集基因

3.5. 核心基因表达量热图

我们将核心基因在糖尿病足溃疡数据集 GSE143735 的基因表达矩阵中的表达量可视化并作出热图

(图 5), 我们发现核心基因(CCNB1, ASPM)在糖尿病足溃疡样本中均为低表达, 在正常样本中均为高表达。对此结果, 我们推测核心基因(CCNB1, ASPM)可能对于糖尿病足溃疡具有调控作用。

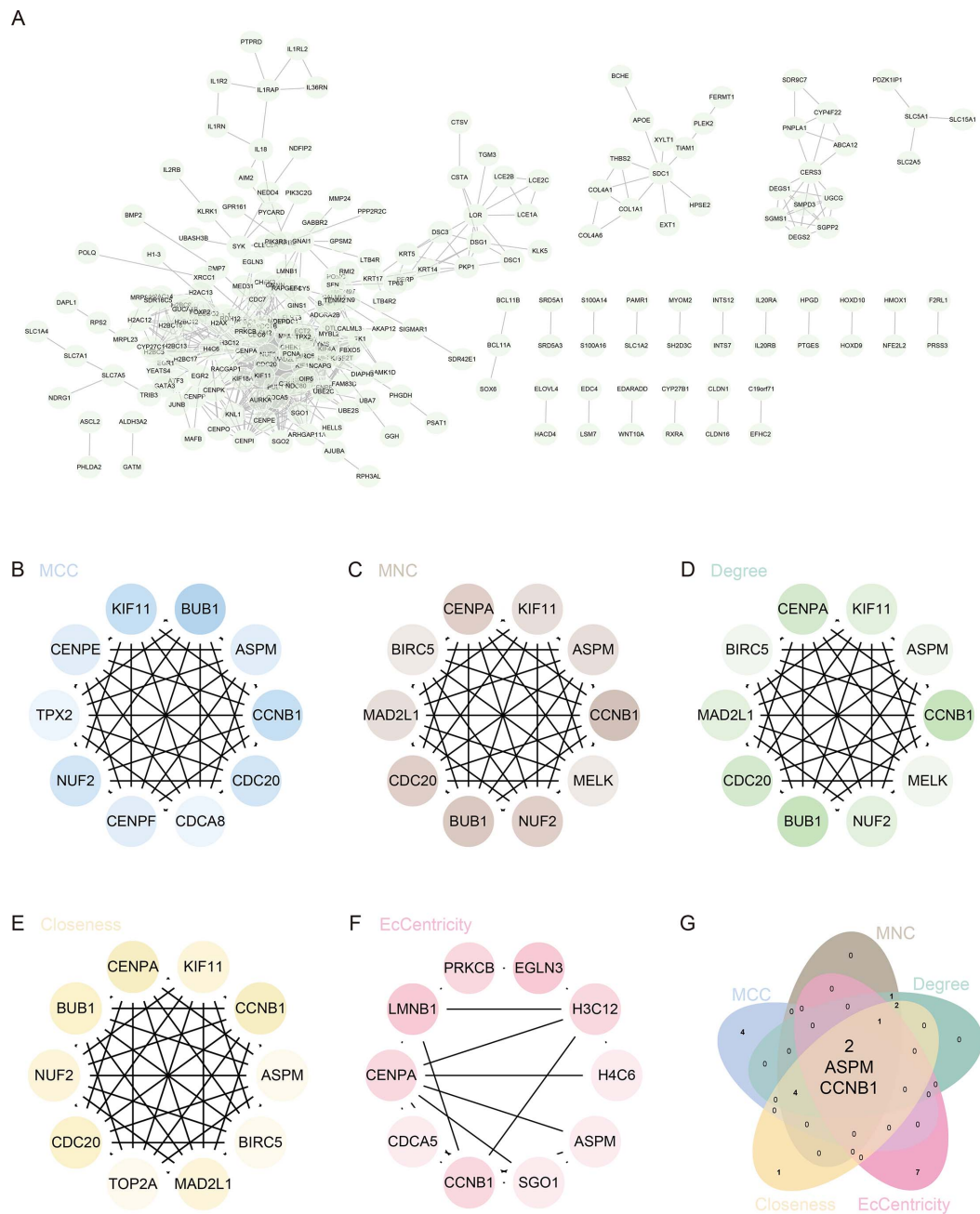


Figure 4. Construction and analysis of protein-protein interaction (PPI) networks. (A) Construct the PPI network of DEGs using STRING online database and utilize Cytoscape software for analysis; (B) MCC was used to identify the central gene; (C) MNC was used to identify the central gene; (D) Degree was used to identify the central gene; (E) Closeness was used to identify the central gene; (F) EcCentricity was used to identify the central gene; (G) Core genes (CCNB1, ASPM) were obtained by merging using Venn diagrams

图 4. 蛋白质相互作用(PPI) 网络的构建和分析。(A) 使用 STRING 在线数据库构建 DEGs 的 PPI 网络, 并利用 Cytoscape 软件进行分析; (B) 使用 MCC 确定中心基因; (C) 使用 MNC 确定中心基因; (D) 使用度数确定中心基因。(E) 使用紧密度确定中心基因; (F) 使用 EcCentricity 确定中心基因; (G) 通过使用维恩图合并获得核心基因(CCNB1, ASPM)

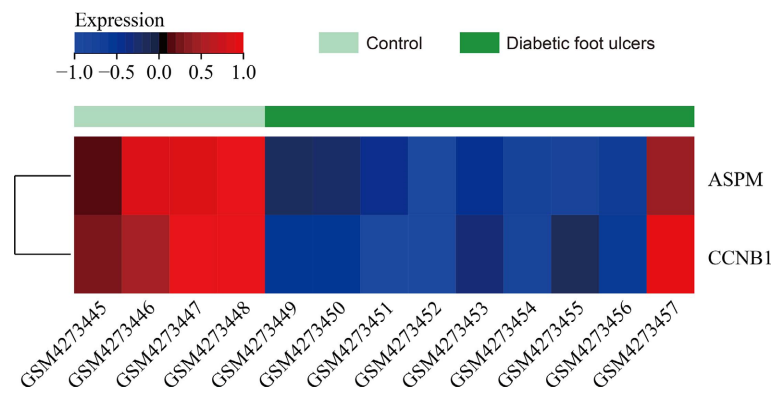


Figure 5. Heat map of the core gene in the combined matrix of the data sets GSE143735

图 5. 数据集 GSE143735 的组合矩阵中的核心基因热图

3.6. 与 Hub 基因相关的 miRNA 预测与功能注释

在这项研究中，我们将 hub 基因列表输入到 miRNA 预测网站中寻找相关的 miRNA，提高对基因表达调控的理解(表 1)。

Table 1. A summary of miRNAs that regulate hub genes
表 1. 核心基因相关 miRNAs 汇总表

Databases	Gene	miRNA		
TargetScan	CCNB1	hsa-miR-183-5p.1		
	ASPM	None		
miRTarBase	CCNB1	hsa-miR-132-3p	hsa-miR-212-3p	hsa-miR-24-3p
	ASPM	hsa-miR-193b-3p	hsa-miR-215-5p	hsa-miR-192-5p

在 Targetsacan 网站中预测发现 CCNB1 基因的相关 miRNA 是 hsa-miR-183-5p.1。
在 miRTarBase 网站中预测发现 CCNB1 基因的相关 miRNA 是 hsa-miR-132-3p、hsa-miR-212-3p、hsa-miR-24-3p；ASPM 基因的相关 miRNA 是 hsa-miR-193b-3p、hsa-miR-215-5p、hsa-miR-192-5p。

4. 讨论

糖尿病足溃疡是糖尿病患者的一种常见且严重的并发症，其危害性不言而喻。探索其分子机制对于开发新的治疗方法至关重要[13]。研究表明糖尿病足溃疡的发生与神经病变、血管病变和免疫功能异常等密切相关，在溃疡组织上，由于糖尿病，往往微循环内阻塞，神经内分泌功能下降，加之免疫功能下降，受损组织很难修复[14]。因此，针对这些机制，我们可以设计针对性的治疗策略，如神经保护剂、血管修复剂和免疫调节剂，从而提高糖尿病足溃疡的治疗效果和预后。此外，了解糖尿病足溃疡的分子机制还有助于预防疾病的发生和发展。通过深入研究疾病的发病机制，我们可以识别出高风险人群，并采取有效的预防措施，如定期足部检查、维持良好的血糖控制和保持足部卫生等，从而减少糖尿病足溃疡的发生率和复发率。综上所述，深入探索糖尿病足溃疡的分子机制对于改善患者的生活质量、降低并发症风

险以及开发更有效的治疗方法具有重要意义。通过不断地研究和探索,我们有望找到更多的治疗靶点,为糖尿病足溃疡的治疗带来新的突破和希望。因此,深入探索糖尿病足溃疡的分子机制对于开发更有效的治疗方法至关重要。目前 CCNB1 和 ASPM 对于糖尿病足溃疡的具体作用机制尚不清楚。因此,需要进一步的研究来深入探讨其在糖尿病足溃疡中的作用机制,以及开发针对 CCNB1 和 ASPM 的治疗策略,为开发新的治疗方法提供理论依据。本研究的主要发现是在糖尿病足溃疡患者中,CCNB1 和 ASPM 的表达水平较低,并且随着其表达水平的降低,患者的预后也更差。

CCNB1 (Cyclin B1)也称为细胞周期蛋白 B1,它在细胞周期的 G2/M 期间起着重要作用,调节细胞进入有丝分裂期,控制细胞的分裂和增殖[15] [16] [17]。CCNB1 是细胞周期调控的关键基因,我们推测其表达可能导致细胞周期异常,影响细胞增殖和修复,从而影响溃疡的愈合。除了其在正常细胞生理过程中的重要作用外,CCNB1 在多种疾病的发生和发展中也扮演着重要角色,其中包括癌症、心血管疾病等。有研究证明,CCNB1 可以沉默通过 p53 信号通路对胰腺癌的细胞周期、衰老和凋亡产生影响[18]。近年来的研究还表明,CCNB1 在糖尿病并发症中可能起着重要作用。另外一些研究已经探索了 CCNB1 与糖尿病并发症之间的关系。近年来的研究发现,CCNB1 可能作为诊断糖尿病肾病(DN)生物标志物,有助于尽早诊断与改善其预后的情况[19]。也有研究表明 CCNB1 被鉴定为妊娠期糖尿病(GDM)的潜在治疗生物标志物[20]。CCNB1 还可能与糖尿病神经病变(DN)的发病机制相关,为 DN 提供了新的诊断和潜在的治疗靶点[21]。此前也有关于皮肤伤口愈合的研究中提及了,CCNB1 可能是皮肤伤口愈合相关的潜在的枢纽基因,然而并未有突出的结果[22]。CCNB1 在淋巴结阴性乳腺癌中还被作为预后标志物[23],CCNB1 参与调节细胞周期和细胞增殖,因此可能与伤口愈合过程中的细胞增殖、迁移和分化等相关。总的来说,过往的研究已经初步揭示了 CCNB1 在多种疾病中的潜在作用。目前对于 CCNB1 与糖尿病足溃疡之间的关系仍需进一步的研究来加以确认,我们的研究认为 CCNB1 的低表达可能导致细胞周期调控失调,影响足部组织的修复和再生能力,从而加重溃疡的病情。这个研究结果将有助于深入理解 CCNB1 在糖尿病足溃疡发病机制中的具体作用,并为开发新的治疗方法提供重要线索。

ASPM (Abnormal Spindle-Like Microcephaly-Associated Protein)是一种与微小头畸形相关的蛋白,在有丝分裂纺锤体调节、神经发生和大脑大小调节中发挥着至关重要的作用[24] [25] [26],ASPM 通过参与细胞分裂和极性分化的调节,影响了神经系统和器官的发育。ASPM 基因参与早期神经发生,可能影响大脑解剖和功能特征的形成[27]。近年来的研究表明,ASPM 不仅在正常的神经系统发育中发挥作用,而且在某些疾病的发生和发展中也可能具有重要作用。相关研究证明 ASPM 在子宫内膜癌(EC)中高度过表达与显著较差的总体生存率相关,ASPM 的敲低抑制了 EC 细胞的增殖、迁移和侵袭,可作为 EC 治疗的潜在靶基因[28]。最新的研究还指出,ASPM 可能作为肺癌网络中的重要调节者,为肺癌的治疗提供了方向[29]。还有研究支持 ASPM 作为胶质母细胞瘤的潜在分子靶点[30]。ASPM 的高表达还与弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)患者较差的临床病理特征和不良预后相关,ASPM 沉默可抑制细胞生长、诱导细胞凋亡并阻止细胞周期,可能作为 DLBCL 肿瘤发生和预后的预测生物标志物[31]。这些研究的结果进一步支持了我们的推测,ASPM 也可能通过影响细胞增殖和极性分化等途径参与糖尿病足溃疡的发生和发展。其低表达可能导致细胞增殖受限,影响足部组织的修复和再生能力,从而影响溃疡的愈合过程。我们的研究认为 ASPM 的降低可能导致细胞极性分化异常,进一步加重了溃疡的病情。综合以上研究,我们推测 CCNB1 和 ASPM 可能在糖尿病足溃疡的发病机制中存在重要的影响。

尽管本研究进行了严谨的生物信息学分析,但也存在一些不足。例如,我们未进行基因过表达或敲除的动物实验来验证 CCNB1 和 ASPM 的功能。因此,在未来的研究中,我们将进一步探索这些基因在糖尿病足溃疡中的作用机制,以及开发针对这些基因的治疗方法。

综上所述, 本研究发现了 CCNB1 和 ASPM 在糖尿病足溃疡中的异常表达, 并且认为它们可能在疾病的发展中发挥重要作用。这些发现为进一步揭示糖尿病足溃疡的分子机制和开发新的治疗方法提供了重要线索。

参考文献

- [1] American Diabetes Association (2008) Economic Costs of Diabetes in the U.S. in 2007. *Diabetes Care*, **31**, 596-615. <https://doi.org/10.2337/dc08-9017>
- [2] Boulton, A.J., Vileikyte, L., Ragnarson-Tennvall, G. and Apelqvist, J. (2005) The Global Burden of Diabetic Foot Disease. *The Lancet*, **366**, 1719-1724. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)67698-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)67698-2)
- [3] Gregg, E.W., Li, Y., Wang, J., Rios Burrows, N., Ali, M.K., Rolka, D., *et al.* (2014) Changes in Diabetes-Related Complications in the United States, 1990-2010. *New England Journal of Medicine*, **370**, 1514-1523. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1310799>
- [4] Ahmed, A.S. and Antonsen, E.L. (2016) Immune and Vascular Dysfunction in Diabetic Wound Healing. *Journal of Wound Care*, **25**, S35-S46. <https://doi.org/10.12968/jowc.2016.25.sup7.s35>
- [5] Falanga, V. (2005) Wound Healing and Its Impairment in the Diabetic Foot. *The Lancet*, **366**, 1736-1743. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)67700-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)67700-8)
- [6] Davis, F.M., Kimball, A., Boniakowski, A. and Gallagher, K. (2018) Dysfunctional Wound Healing in Diabetic Foot Ulcers: New Crossroads. *Current Diabetes Reports*, **18**, Article No. 2. <https://doi.org/10.1007/s11892-018-0970-z>
- [7] Pitocco, D., Spanu, T., Di Leo, M., *et al.* (2019) Diabetic Foot Infections: A Comprehensive Overview. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **23**, 26-37.
- [8] Gherman, D., Dumitrescu, C.I., Ciocan, A. and Melincovici, C.S. (2018) Histopathological Changes in Major Amputations Due to Diabetic Foot—A Review. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, **59**, 699-702.
- [9] Armstrong, D.G., Swerdlow, M.A., Armstrong, A.A., Conte, M.S., Padula, W.V. and Bus, S.A. (2020) Five Year Mortality and Direct Costs of Care for People with Diabetic Foot Complications Are Comparable to Cancer. *Journal of Foot and Ankle Research*, **13**, 16. <https://doi.org/10.1186/s13047-020-00383-2>
- [10] Zhang, Y., Zhu, T., He, F., Chen, A.C., Yang, H. and Zhu, X. (2021) Identification of Key Genes and Pathways in Osteoarthritis via Bioinformatic Tools: An Updated Analysis. *CARTILAGE*, **13**, 1457S-1464S. <https://doi.org/10.1177/19476035211008975>
- [11] Canzoneri, R., Lacunza, E. and Abba, M.C. (2019) Genomics and Bioinformatics as Pillars of Precision Medicine in Oncology. *Medicina*, **79**, 587-592.
- [12] Merrick, B.A., London, R.E., Bushel, P.R., Grissom, S.F. and Paules, R.S. (2011) Platforms for Biomarker Analysis Using High-Throughput Approaches in Genomics, Transcriptomics, Proteomics, Metabolomics, and Bioinformatics. *IARC Scientific Publications*, **163**, 121-142.
- [13] Nie, X., Zhao, J., Ling, H., Deng, Y., Li, X. and He, Y. (2020) Exploring microRNAs in Diabetic Chronic Cutaneous Ulcers: Regulatory Mechanisms and Therapeutic Potential. *British Journal of Pharmacology*, **177**, 4077-4095. <https://doi.org/10.1111/bph.15139>
- [14] Skyler, J.S., Bakris, G.L., Bonifacio, E., Darsow, T., Eckel, R.H., Groop, L., *et al.* (2016) Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. *Diabetes*, **66**, 241-255. <https://doi.org/10.2337/db16-0806>
- [15] Petrachkova, T., Wortinger, L.A., Bard, A.J., Singh, J., Warga, R.M. and Kane, D.A. (2019) Lack of Cyclin B1 in Zebrafish Causes Lengthening of G2 and M Phases. *Developmental Biology*, **451**, 167-179. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2019.03.014>
- [16] Pines, J. (1993) Cyclins and Cyclin-Dependent Kinases: Take Your Partners. *Trends in Biochemical Sciences*, **18**, 195-197. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(93\)90185-p](https://doi.org/10.1016/0968-0004(93)90185-p)
- [17] Malumbres, M. and Barbacid, M. (2005) Mammalian Cyclin-Dependent Kinases. *Trends in Biochemical Sciences*, **30**, 630-641. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2005.09.005>
- [18] Zhang, H., Zhang, X., Li, X., Meng, W., Bai, Z., Rui, S., *et al.* (2018) Effect of CCNB1 Silencing on Cell Cycle, Senescence, and Apoptosis through the p53 Signaling Pathway in Pancreatic Cancer. *Journal of Cellular Physiology*, **234**, 619-631. <https://doi.org/10.1002/jcp.26816>
- [19] Oropeza-Valdez, J.J., Hernandez, J., Jaime-Sánchez, E., López-Ramos, E., Lara-Ramírez, E.E., Hernández, Y.L., *et al.* (2023) Transcriptome Analysis Identifies Oxidative Stress Injury Biomarkers for Diabetic Nephropathy. *Archives of Medical Research*, **54**, 17-26. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2022.12.004>
- [20] Jin, Y. and Wang, H. (2023) Identification of Hub Genes Affecting Gestational Diabetes Mellitus Based on GEO Da-

- tabase. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*. <https://doi.org/10.1080/02648725.2023.2215966>
- [21] Lin, Y., Wang, F., Cheng, L., Fang, Z. and Shen, G. (2021) Identification of Key Biomarkers and Immune Infiltration in Sciatic Nerve of Diabetic Neuropathy BKS-db/db Mice by Bioinformatics Analysis. *Frontiers in Pharmacology*, **12**, Article 682005. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.682005>
- [22] Zhu, H.-J., Fan, M. and Gao, W. (2021) Identification of Potential Hub Genes Associated with Skin Wound Healing Based on Time Course Bioinformatic Analyses. *BMC Surgery*, **21**, Article No. 303. <https://doi.org/10.1186/s12893-021-01298-w>
- [23] Niméus-Malmström, E., Koliadi, A., Ahlin, C., Holmqvist, M., Holmberg, L., Amini, R.-M., *et al.* (2010) Cyclin B1 Is a Prognostic Proliferation Marker with a High Reproducibility in a Population-Based Lymph Node Negative Breast Cancer Cohort. *International Journal of Cancer*, **127**, 961-967. <https://doi.org/10.1002/ijc.25091>
- [24] Bond, J., Roberts, E., Mochida, G.H., Hampshire, D.J., Scott, S., Askham, J.M., *et al.* (2002) ASPM Is a Major Determinant of Cerebral Cortical Size. *Nature Genetics*, **32**, 316-320. <https://doi.org/10.1038/ng995>
- [25] Bikeye, S.N., Colin, C., Marie, Y., Vampouille, R., Ravassard, P., Rousseau, A., *et al.* (2010) ASPM-Associated Stem Cell Proliferation Is Involved in Malignant Progression of Gliomas and Constitutes an Attractive Therapeutic Target. *Cancer Cell International*, **10**, Article No. 1. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-10-1>
- [26] Buchman, J.J., Durak, O. and Tsai, L. (2011) ASPM Regulates Wnt Signaling Pathway Activity in the Developing Brain. *Genes & Development*, **25**, 1909-1914. <https://doi.org/10.1101/gad.16830211>
- [27] Pierzak-Sominka, J., Skonieczna-Żydecka, K., Rudnicki, J. and Karakiewicz, B. (2016) The Impact of rs3762271 and rs930557 Polymorphisms of ASPM and MCPH1 Genes on the Anatomy and Function of the Brain. *Biological Research for Nursing*, **18**, 386-393. <https://doi.org/10.1177/1099800416630621>
- [28] Zhou, J.W., Wang, H., Sun, W., Han, N.N. and Chen, L. (2020) ASPM Is a Predictor of Overall Survival and Has Therapeutic Potential in Endometrial Cancer. *American Journal of Translational Research*, **12**, 1942-1953.
- [29] Priya, A., Dashti, M., Thanaraj, T.A., Irshad, M., Singh, V., Tandon, R., *et al.* (2024) Identification of Potential Regulatory Mechanisms and Therapeutic Targets for Lung Cancer. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. <https://doi.org/10.1080/07391102.2024.2310208>
- [30] Horvath, S., Zhang, B., Carlson, M., Lu, K.V., Zhu, S., Felciano, R.M., *et al.* (2006) Analysis of Oncogenic Signaling Networks in Glioblastoma Identifies ASPM as a Molecular Target. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103**, 17402-17407. <https://doi.org/10.1073/pnas.0608396103>
- [31] Wu, J., He, Z., Zhu, Y., Jiang, C., Deng, Y. and Wei, B. (2021) ASPM Predicts Poor Clinical Outcome and Promotes Tumorigenesis for Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Current Cancer Drug Targets*, **21**, 80-89. <https://doi.org/10.2174/1568009620666200915090703>