Open Access
DOI:10.3724/zdxbyxb-2025-0464

创面高质量修复

·专题报道·

糖尿病足溃疡皮肤组织免疫失调和巨噬细胞重编程单细胞转录组分析

黄春丽[1]，姜　昱[1]，焦　伟[2]，隋　颖[2]，王春雷[3]，苏永涛[2]

1. 山东第二医科大学临床医学院，山东 潍坊 261053
2. 山东中医药大学组织再生与创面修复研究院，山东 济南 250355
3. 北大医疗鲁中医院烧伤皮肤科，山东 淄博 255400

［摘　要］ **目的**：阐明糖尿病足溃疡（DFU）皮肤组织中巨噬细胞介导的炎症和组织损伤机制。**方法**：收集DFU患者和非DFU者的皮肤组织标本，通过单细胞RNA测序获得79 272个高质量细胞转录组数据。采用无偏聚类方法识别细胞亚群，通过Seurat函数筛选DFU组与非DFU组间的差异表达基因，基因本体（GO）富集分析揭示基因功能，构建细胞间通信网络并进行配体–受体互作分析，从多维度揭示DFU微环境中细胞互作及信号调控机制。**结果**：DFU皮肤组织中髓系细胞显著扩增，而内皮细胞、上皮细胞和平滑肌细胞等结构细胞显著减少；主要细胞类型发生功能重编程，表现为免疫激活和组织重塑受损。DFU皮肤组织中的巨噬细胞向促炎性M1型极化，其炎症和氧化应激相关基因表达上调。细胞通信分析进一步揭示，M1型巨噬细胞在COMPLEMENT信号通路介导的通信网络中既是主要信号接受者又是影响者，在分泌性磷蛋白1（SPP1）信号通路介导的通信网络中则是关键信号发送者和介导者，积极塑造炎性微环境；鉴定出C3-（ITGAM+ITGB2）和SPP1-CD44等驱动巨噬细胞信号的关键配体–受体互作对。**结论**：绘制出DFU皮肤组织单细胞图谱，提示巨噬细胞驱动的细胞网络在DFU慢性炎症和愈合障碍中的作用，或可为治疗提供潜在新靶点。

［关键词］ 糖尿病足溃疡；单细胞RNA测序；巨噬细胞；组织重塑；免疫激活
［中图分类号］ R587.2　　［文献标志码］ A

Single-cell transcriptomic analysis reveals immune dysregulation and macrophage reprogramming in diabetic foot ulcers

HUANG Chunli[1], JIANG Yu[1], JIAO Wei[2], SUI Ying[2], WANG Chunlei[3], SU Yongtao[2]

(*1. School of Clinical Medicine, Shandong Second Medical University, Weifang 261053,*

收稿日期（Received）：2025-06-30　修改返回日期（Revised）：2025-08-05　接受日期（Accepted）：2025-08-25
基金项目（Funding）：山东省中医药科技项目（M20241812）
第一作者（First author）：黄春丽，硕士研究生，主要从事烧伤外科和创面修复研究；E-mail：sunnyrabbit168@163.com；ORCID：0009-0008-7016-7953
通信作者（Corresponding author）：苏永涛，教授，主任医师，博士生导师，主要从事创面修复和组织再生研究；E-mail：yongtaosu@126.com；ORCID：0009-0004-0272-8385

Shandong Province, China; 2. Institute of Tissue Regeneration and Wound Repair, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 3. Department of Burn Dermatology, PKUCare Luzhong Hospital, Zibo 255400, Shandong Province, China)
Corresponding author: SU Yongtao, E-mail: yongtaosu@126.com, ORCID: 0009-0004-0272-8385

[**Abstract**] **Objective**: To elucidate the underlying mechanisms of macrophage-mediated inflammation and tissue injury in diabetic foot ulcer (DFU). **Methods**: Skin tissue samples were collected from patients with DFU and with non-DFU. A total of 79 272 high-quality cell transcriptomes were obtained using single-cell RNA sequencing. An unbiased clustering approach was employed to identify cell subpopulations. Seurat functions were used to identify differentially expressed genes between DFU and non-DFU groups, and gene ontology (GO) enrichment analysis was used to reveal gene function. Furthermore, cell-cell communication network construction and ligand-receptor interaction analysis were performed to reveal the mechanisms underlying cellular interactions and signaling regulation in the DFU microenvironment from multiple perspectives. **Results**: The results revealed a significant expansion of myeloid cells in DFU tissues, alongside a marked reduction in structural cells such as endothelial cells, epithelial cells, and smooth muscle cells. Major cell types underwent functional reprogramming, characterized by immune activation and impaired tissue remodeling. Specifically, macrophages in DFU skin tissues exhibited a shift toward a pro-inflammatory M1 phenotype, with upregulation of genes associated with inflammation and oxidative stress. Cell communication analysis further demonstrated that M1 macrophages served as both primary signal receivers and influencers in the COMPLEMENT pathway mediated communication network, and as key signal senders and mediators in the secreted phosphoprotein 1 (SPP1) pathway mediated communication network, actively shaping the inflammatory microenvironment. Key ligand-receptor interactions driving macrophage signaling were identified, including C3-(ITGAM+ITGB2) and SPP1-CD44. **Conclusions**: This study establishes a comprehensive single-cell atlas of DFU, revealing the role of macrophage-driven cellular networks in chronic inflammation and impaired healing. These findings may offer potential novel therapeutic targets for DFU treatment.

[**Key words**] Diabetic foot ulcer; Single-cell RNA sequencing; Macrophage; Tissue remodeling; Immune activation

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2025, 54(5): 602-610.]

[**缩略语**] 糖尿病足溃疡(diabetic foot ulcer,DFU);细胞外基质(extracellular matrix,ECM);单细胞RNA测序(single-cell RNA sequencing,scRNA-seq);唯一分子标签(unique molecular identifier,UMI);主成分分析(principal component analysis,PCA);统一流形逼近与投影(uniform manifold approximation and projection,UMAP);基因本体(gene ontology,GO);高维加权基因共表达网络分析(high-dimensional weighted gene co-expression network analysis,hdWGCNA);胶原蛋白(collagen,COL);分泌磷蛋白(secreted phosphoprotein,SPP);整合素(integrin,

ITG);C3a受体(C3a receptor,C3AR);分化抗原(cluster of differentiation,CD);小干扰RNA(small interfering RNA,siRNA)

DFU是糖尿病患者常见且严重的并发症,终生发生率为19%~34%[1]。DFU慢性创面以愈合障碍、持续炎症及易感染为特征,可致坏疽及下肢截肢等严重后果[2],显著降低患者生活质量,带来巨大疾病负担[3]。尽管创面护理技术不断进步,DFU治疗仍面临挑战,许多溃疡因伤口愈合过程受阻而难以闭合[4]。DFU的发病机制复杂,涉及血流受限、免疫反应异常及ECM重塑障碍等多种因素[5]。慢性炎症是DFU形成和难以愈合的关键因素,其能干扰组织修复并在创面床形成促炎微环境[6-7]。DFU中的炎症反应往往失调,过度活跃的免疫系统导致炎症持续,愈合延迟[8-9]。

巨噬细胞是多能免疫细胞,可根据局部微环境呈现不同功能状态(即极化),在DFU炎症反应和组织修复中发挥核心作用[10-12]。在创面愈合过程中,巨噬细胞主要分为促炎的M1型和抗炎、修复的M2型[13]。M1型巨噬细胞主要负责炎症起动和扩增,分泌促炎性细胞因子并促进组织破坏[14-15]。M2型巨噬细胞与组织修复及炎症消退相关,促进ECM重塑并推动愈合过程进入增殖期[16]。M1型与M2型巨噬细胞之间的平衡对创面愈合至关重要[17-18]。在DFU中,这种平衡往往被打破:M1型巨噬细胞过量,造成慢性炎症持续;M2型巨噬细胞不足,导致组织修复及ECM重塑受阻[19-20]。这种失调是DFU难以愈合的重要原因[21-22]。因此,深入探究DFU中巨噬细胞亚群动态及其极化的分子机制,对于开发调控炎症、促进愈合的治疗策略至关重要。

近年来,scRNA-seq为探索组织细胞及分子异质性提供了强大的工具[23]。scRNA-seq可识别并表征复杂组织中的单个细胞群体,发现此前未知的细胞类型和功能状态[24]。本研究采用scRNA-seq解析DFU和非DFU皮肤组织标本的细胞组成及分子特征,通过对比识别差异细胞群并分析其丰度变化,重点评估巨噬细胞向M1型、M2型的极化状态及其在炎症反应和组织修复中的作用;结合基因表达谱分析,进一步揭示导致DFU愈合障碍的关键分子通路,旨在阐明巨噬细胞介导的炎症和组织损伤机制,为促进糖尿病患者创面愈合提供潜在的治疗靶点。

1 资料与方法

1.1 资料来源

选取2025年3—6月在北大医疗鲁中医院就诊的年龄为18~75周岁的DFU患者和非DFU者各4例,性别不限。DFU患者纳入标准:①糖尿病足Wagner分级2~4级;②足部溃疡4周以上且标准治疗一周后无愈合倾向;③均接受糖尿病内科治疗,使用药物积极控制血糖;④溃疡局部经皮氧分压大于20 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)。非DFU者纳入标准:①与糖尿病无关的足部溃疡,包括因血管疾病、感染、创伤或其他非糖尿病原因引起的足部溃疡;②存在具有临床意义且适合活检的慢性或急性足部溃疡;③发生足部损伤并需要清创处理;④无已知的可能影响伤口愈合的全身性疾病或病症史,除与溃疡特定原因相关的疾病或病症外。

1.2 标本采集和预处理

医护人员通过全程无菌操作获取足部皮肤标本。首先用消毒液消毒皮肤,清除坏死组织后,取DFU或非DFU处及边缘5 mm左右的皮肤组织(至少400 mg,约两个黄豆粒大小)穿刺标本2份以上。标本采集注意以下几点:①优先选择无明显坏死、钙化、硬化或纤维化的区域,以降低杂质干扰;②避免与健康皮肤接触,以免污染;③尽量使用手术刀切取组织,取样后对组织进行修剪,尽可能快速去除非目标部位组织,以减少非目标区域细胞群干扰。组织标本经1×磷酸盐缓冲液或等渗氯化钠溶液冲洗后,移至含组织保存液的5 mL EP管中储存,放入保存袋并置于有2~3个—20 ℃生物冰袋的泡沫盒中封好。

1.3 scRNA-seq数据分析鉴定细胞类型

对8份新鲜溃疡周边组织标本(DFU组和非DFU组各4份)进行scRNA-seq(由北京寻因生物科技有限公司完成),共获得79 272个高质量细胞。基于R语言中的Seurat软件包(版本5.1.0)进行数据分析,具体流程如下:①质量控制。对原始基因表达矩阵实施严格的质量控制,以剔除低质量细胞、空液滴及凋亡或受损细胞。剔除标准包括唯一基因数(nFeature_RNA)小于200

的细胞、总UMI数（nCount_RNA）小于500的细胞、线粒体基因比例（percent.mt）大于20%的低质量细胞。②标准化。通过对数归一化对质量控制后的数据进行标准化，尺度因子设为10 000。③高变基因筛选。识别数据集中变异程度最高的2000个基因。④降维处理。对高变基因表达矩阵进行PCA，实现线性降维；使用Harmony软件包（版本1.2.0）对降维结果进行整合，以消除样本间的批次效应。⑤聚类分析。基于校正后的邻域图，采用Louvain算法进行细胞无监督聚类。为可视化细胞群落结构，使用UMAP对经Harmony校正后的PCA坐标进行非线性降维。通过计算每个细胞簇中经典细胞类型标志基因的表达谱，对聚类结果进行人工注释，以鉴定不同的细胞类型。

1.4 Seurat函数分析差异表达基因

在每种细胞类型（或亚型）内使用Seurat函数FindAllMarkers和FindMarkers（基于Wilcoxon秩和检验）分别比较DFU组与非DFU组基因表达的差异。经Benjamini-Hochberg校正后，$P<0.05$且$|\log_2$倍数变化$|>0.25$的基因为差异表达基因。

1.5 GO富集分析揭示基因功能

采用R包clusterProfiler（版本4.8.1）进行GO富集分析，经Benjamini-Hochberg校正后$P<0.05$视为显著富集。

1.6 hdWGCNA分析基因共表达网络

鉴于巨噬细胞极化在创面愈合中起关键作用，尤其是M1型巨噬细胞持续活化会阻碍组织修复并维持慢性炎症。因此，本文针对M1型巨噬细胞系统鉴定其关键共表达模块，阐明其调控的生物过程。具体方法为：基于整合后的Seurat对象，使用R包hdWGCNA（版本0.3.3）进行高维基因共表达网络分析；通过汇聚同一细胞类型内相似细胞的转录图谱构建metacells，筛选高变基因并剔除低表达基因；计算软阈值以构建无标度共表达网络，随后使用层次聚类识别共表达模块。

1.7 CellChat分析推断细胞–细胞互作网络

采用R包CellChat（版本2.1.2）根据scRNA-seq数据推断细胞间通信网络。采用默认参数计算不同细胞群之间的互作概率，以解析通信频率和程度。

1.8 统计学方法

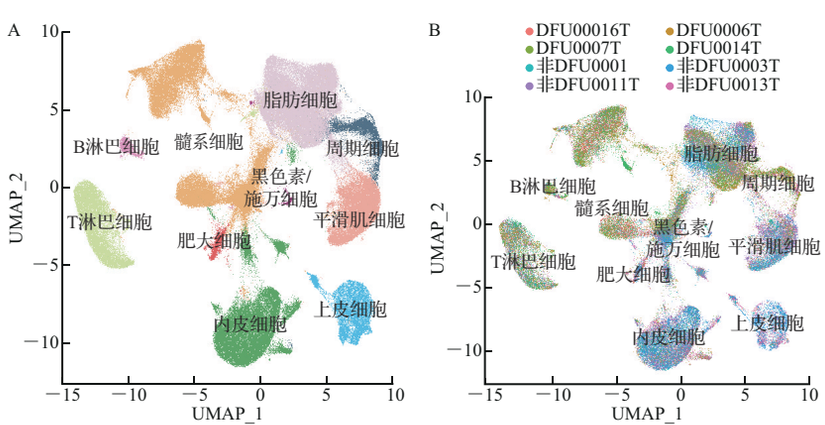
全部数据分析均在R语言（版本4.3.0）中完成，所有统计图及可视化均使用R包ggplot2（版本3.5.1）绘制，并借助Patchwork（版本1.3.0）进行图形整合和注释。使用Mann-Whitney U检验比较DFU组与非DFU组间的基因表达差异，$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 DFU组与非DFU组的细胞组成差异

在DFU组中可识别到多个细胞群，根据经典标志基因注释为脂肪细胞、内皮细胞、髓系细胞、平滑肌细胞、T淋巴细胞、上皮细胞、周期细胞、肥大细胞、B淋巴细胞以及黑色素/施万细胞（图1A、附图1）。应用Harmony校正后，各标本细胞混合良好（图1B），说明批次效应已成功去除。

附图2显示不同患者间主要细胞类型的比例存在差异，提示个体间存在异质性。DFU组与非DFU组的细胞组成分布呈现明显差异：内皮细胞、平滑肌细胞及上皮细胞在非DFU组中富集，而髓系细胞在DFU组中显著富集，表明疾病相关



A：DFU组scRNA-seq数据的UMAP图；B：DFU组和非DFU组经Harmony校正后所有样本scRNA-seq数据的UMAP图. DFU：糖尿病足溃疡；scRNA-seq：单细胞RNA测序；UMAP：统一流形逼近与投影.

图1 DFU与非DFU皮肤组织scRNA-seq数据的UMAP图

Figure 1 UMAP plot of scRNA-seq data for DFU and non-DFU skin tissues

的细胞组成改变(附图3)。

对各细胞类型的标志基因进行GO富集分析发现,髓系细胞富集于细胞质翻译、转化生长因子β应答等过程;上皮细胞富集于ECM组织、细胞黏附及上皮细胞迁移;内皮和平滑肌细胞富集于肌动蛋白骨架相关通路;周期细胞则涉及有丝分裂过程,如染色体分离及RNA剪接。上述结果见附图4。提示不同细胞类型在DFU中发生功能改变,导致愈合受阻和慢性炎症。

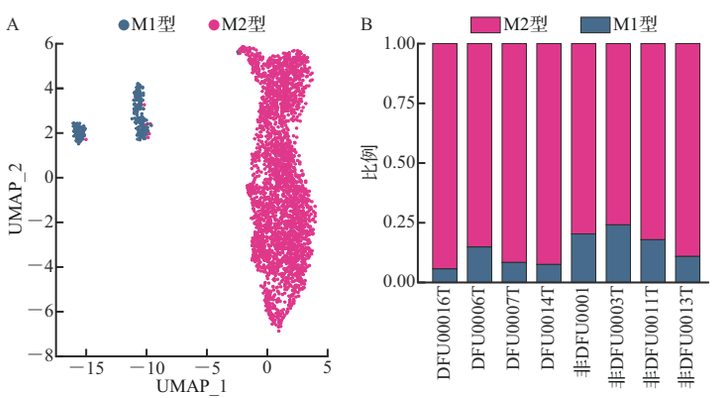
2.2 巨噬细胞亚群动态及功能变化

基于经典标志基因将髓系细胞进一步注释为五个亚群:中性粒细胞、树突状细胞、M1型巨噬细胞、M2型巨噬细胞和单核细胞(附图5)。鉴于巨噬细胞在组织修复和炎症中的核心作用,后续分析聚焦于M1型和M2型巨噬细胞。在所有标本中,M2型巨噬细胞数均多于M1型巨噬细胞数(图2)。在DFU皮肤组织中,M1型巨噬细胞中炎症相关基因*S100A8*、*S100A9*等表达上调,M2型巨噬细胞中与金属离子调节相关的基因*MT1X*、*MT1E*等表达上调(图3)。功能富集分析显示,M1型巨噬细胞差异表达基因富集于慢性炎症反应、胶原组织和皮肤发育(附图6A),M2型巨噬细胞差异表达基因富集于金属离子的应激反应、细胞内锌离子稳态(附图6B)。结果表明,两种亚型在DFU皮肤组织中均发生功能重编程,可能导致溃疡愈合受损和慢性炎症。

2.3 DFU皮肤组织中M1型巨噬细胞的共表达模块鉴定

本研究构建了M1型巨噬细胞的共表达网络,并识别多个独立基因模块。其中,M17模块与M1型巨噬细胞标志基因重叠度最高,内含*COL1A1*、*COL3A1*、*COL5A2*等与ECM相关的枢纽基因;M8、M28和M29模块与M1型巨噬细胞标志基因的重叠度也较高,见图4和附图7。

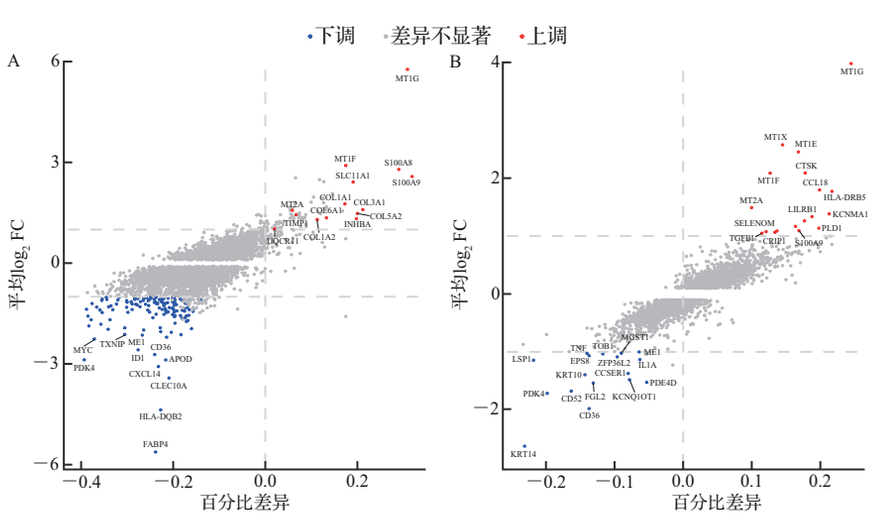
M17模块的内部网络显示ECM相关基因之间紧密互作,GO分析证实M17模块主要富集于胶原纤维组织、ECM组织及负向调控单核细胞趋化等过程;M8模块富集于三尖瓣发生、肾小球血管发育及上皮–间充质转化调控;M28模块与生长因子受体信号、视网膜血管发育和纤毛组



A:M1型和M2型巨噬细胞UMAP图;B:各标本中M1型与M2型巨噬细胞比例. UMAP:统一流形逼近与投影;DFU:糖尿病足溃疡.

图2 DFU与非DFU皮肤组织中M1和M2型巨噬细胞的表征及比例分析

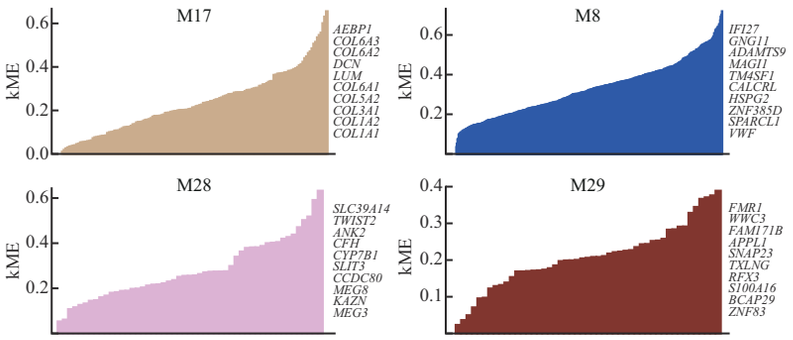
Figure 2 Characterization and proportional analysis of M1 and M2 macrophages in DFU and non-DFU skin tissues



A:M1型巨噬细胞差异表达基因;B:M2型巨噬细胞差异表达基因. DFU:糖尿病足溃疡;FC:倍数变化.

图3 DFU与非DFU皮肤组织中M1型和M2型巨噬细胞差异表达基因火山图

Figure 3 Volcano plots displaying differentially expressed genes between DFU and non-DFU skin tissues for M1 and M2 macrophages



kME：基于模块特征基因的连接度.

图4 M1型巨噬细胞共表达模块M17、M8、M28、M29的核心基因

Figure 4 Top-ranked genes within the M17, M8, M28, and M29 modules

装相关；M29模块则富集于蛋白质分解代谢、代谢调节、凋亡信号和神经冲动传导。附图8。

综上，M1型巨噬细胞包含功能不同的模块，其中M17模块与ECM重塑密切相关，其他模块涉及炎症及脂质代谢，突显了DFU等慢性难愈性创面中M1型巨噬细胞反应的复杂性和异质性。

2.4 M1型巨噬细胞通过多条信号通路协调DFU中的细胞间通信

本研究绘制了由COMPLEMENT信号通路和SPP1信号通路介导的全细胞间通信网络（图5）。在COMPLEMENT信号通路中，M1型巨噬细胞主要与脂肪细胞和周期细胞通信；在SPP1信号通路中，M1型巨噬细胞则与脂肪细胞、内皮细胞和上皮细胞等形成更广泛的互作，提示M1型巨噬细胞通过COMPLEMENT和SPP1信号通路积极组织DFU微环境中的关键通信。在COMPLEMENT信号通路介导的通信网络中，M1型巨噬细胞作为信号接受者和影响者，主要接收来自脂肪细胞和周期细胞的输入，并调控下游通信；在SPP1信号通路介导的通信网络中，M1型巨噬细胞还扮演信号发送者和介导者的核心角色，强调其在DFU中启动和传播细胞间通信的重要性（附图9）。

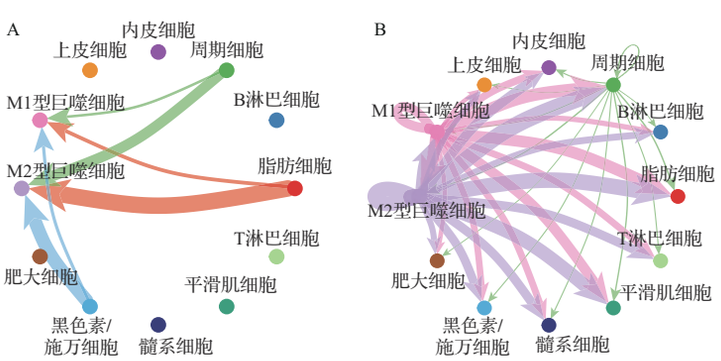
进一步解析COMPLEMENT和SPP1信号通路的关键配体–受体互作（图6）。COMPLEMENT信号通路的主要配对包括C3-（ITGAX+ITGB2）、C3-（ITGAM+ITGB2）和C3-C3AR1，主要由M1型巨噬细胞作为受体介导，凸显其感知补体信号的能力；SPP1信号通路中，主要配对为SPP1-CD44和SPP1-（ITGAV+ITGB1），M1型巨噬细胞是配体SPP1的主要来源，说明其通过SPP1信号主动影响周围结构细胞，证实了M1型巨噬细胞主要作为信号发送者的结果。

表达分布分析显示，SPP1、CD44等关键信号分子在M1型巨噬细胞中高表达，在M2型巨噬细胞及其他结构细胞中表达较低或呈散在分布（附图10），证实M1型巨噬细胞在慢性创面通信网络中的主导地位。

综上可见，M1型巨噬细胞通过补体信号感知和活跃的SPP1信号传递在DFU微环境中建立复杂且功能特异的细胞间通信网络，是DFU中慢性免疫激活和组织修复受阻的核心枢纽。

3 讨 论

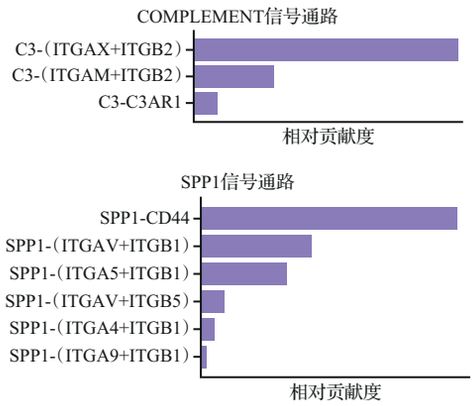
DFU一直是医学研究中的重要课题。本研究借助scRNA-seq对DFU与非DFU皮肤组织展开了全面且系统的深入探究，详细描绘了这两种组织的细胞图谱。结果显示，DFU皮肤组织微环境重塑显著，髓系细胞扩增明显，而内皮细胞、平滑肌细胞和上皮细胞等结构细胞减少。这种局部微环境向免疫细胞为主的转变提示DFU以慢性炎症状态和血管–上皮完整性损害为特征，而这两者均是创面愈合所必需的[5, 7]。



A：COMPLEMENT信号通路介导的通信网络；B：SPP1信号通路介导的通信网络. SPP：分泌性磷蛋白.

图5 COMPLEMENT和SPP1信号通路介导的细胞通信网络

Figure 5 Cell-cell communication networks mediated by COMPLEMENT and SPP1 pathways



SPP:分泌性磷蛋白;ITG:整合素;C3AR:C3a受体;CD:分化抗原.

图6 COMPLEMENT和SPP1信号通路的主要配体–受体贡献

Figure 6 Major ligand-receptor pair contributions to COMPLEMENT and SPP1 pathways

值得注意的是,本研究通过4份DFU标本和4份非DFU标本构建了单细胞图谱,发现不同患者间主要细胞类型的比例差异显著(如髓系细胞占比15%~40%),提示结论外推需谨慎。这种差异可能源于患者临床特征的多样性,如Wagner分级较高或血糖控制不佳的患者可能表现出更显著的M1型巨噬细胞扩增及内皮细胞耗竭[25]。尽管采用Harmony校正了批次效应,样本量仍可能限制对DFU亚型的全面覆盖。DFU标本中普遍富集免疫细胞,表明炎症是DFU发病的一个核心且保守的病理特征。

本文资料显示,DFU标本中巨噬细胞群体发生显著改变,具体表现为M1型巨噬细胞增多,M2型巨噬细胞减少。该失衡与M1型巨噬细胞持续活化引发的慢性炎症及组织修复受阻一致[16]。在分子水平上,DFU中M1型巨噬细胞上调*S100A8*、*S100A9*等基因,从而促进中性粒细胞招募和炎症扩增;M2型巨噬细胞上调*MT1G*、*MT1X*等基因,从而表现出细胞内锌离子稳态等失调。这些结果提示DFU中巨噬细胞功能可塑性受损,M1型巨噬细胞驱动炎症持续,而M2型巨噬细胞修复功能不足。通过对M1型巨噬细胞进行共表达网络分析,进一步识别了调控炎症反应、ECM组织及氧化应激的不同基因模块。*S100A8*、*S100A9*等关键枢纽基因是DFU中M1型巨噬细胞的潜在驱动因子。模块富集结果表明,M1型巨噬细胞同时参与免疫激活和异常组织重塑,共同促成慢性创面的病理过程。

相较于早先的DFU单细胞研究,如Theocharidis等[26]、Chen等[27]聚焦成纤维细胞在DFU免疫失调中的作用,本研究的不同在于阐明了SPP1信号通路在M1型巨噬细胞介导的微环境重塑中的枢纽地位,即M1型巨噬细胞通过SPP1-CD44配体–受体对主动调控内皮细胞和上皮细胞功能,而既往研究仅报道SPP1在成纤维细胞中的表达;同时揭示M1型巨噬细胞在COMPLEMENT信号通路中兼具信号接收者(通过C3AR1感知炎症)和影响者(驱动下游网络)的双重角色,突破了其作为终末效应细胞的传统认知。这些发现为靶向C3-(ITGAM+ITGB2)和SPP1-CD44干预慢性炎症提供了新思路。

本研究通过scRNA-seq揭示了DFU中巨噬细胞重编程和免疫微环境重塑的病理特征,仍存在若干局限。首先,本研究为横断面设计,无法捕捉创面进程中的动态变化:M1型巨噬细胞向M2型转化的时序规律、补体–炎症级联的启动等关键事件可能随溃疡进展而变化,未来须结合多时间点纵向采样及拟时序分析,以更好地揭示巨噬细胞的可塑性及细胞表型转变。其次,scRNA-seq虽提供高分辨率图谱,但对关键分子机制缺乏功能验证,如虽然hdWGCNA能识别出M17模块的ECM重构枢纽基因(*COL1A1*/*COL3A1*)以及SPP1-CD44介导的细胞互作网络,但其对内皮迁移障碍调控作用仍需通过体外siRNA基因沉默或基于siRNA基因敲除的糖尿病小鼠模型进行阻断实验验证。最后,本研究样本量较小,无法覆盖更广泛人群的DFU异质性,未来将扩大队列并实施分层分析,以增强结果的普适性。

综上,本研究绘制了DFU皮肤组织的详细单细胞图谱,揭示细胞组成深刻改变,并强调免疫失调——特别是巨噬细胞M1/M2型失衡——在疾病病理中的关键作用,首次阐明M1型巨噬细胞通过SPP1通路主导炎性微环境重塑。C3-(ITGAM+ITGB2)和SPP1-CD44可能为干预免疫失调的潜在靶点。这些发现为开发靶向巨噬细胞极化、恢复组织完整性的精准治疗策略提供了依据。

本文附加文件见电子版。

志谢 本研究得到山东省中医药科技项目(M20241812)支持.部分生物信息学分析在山东中医药大学蒋润泽老师和王明玮老师的帮助下完成

Acknowledgements This study was supported by Traditional Chinese Medicine Science and Technology Project of Shandong Province (M20241812). The bioinformatic analysis was partially completed with the help of JIANG Runze and WANG Mingwei from Shandong University of Traditional Chinese Medicine

作者贡献 黄春丽、姜昱、焦伟、隋颖、王春雷和苏永涛参与论文选题和设计或参与资料获取、分析或解释,起草研究论文或修改重要智力性内容.所有作者均已阅读并认可最终稿件,并对数据的完整性和安全性负责.具体见电子版

Author Contributions HUANG Chunli, JIANG Yu, JIAO Wei, SUI Ying, WANG Chunlei and SU Yongtao participated in brewing and designing experiments, or acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; drafting the work, or revising it critically for important intellectual content. All authors have read and approved the final manuscript, and take responsibility for the integrity and security of the data. See the electronic version for details

数据可用性 本研究的相关数据可根据合理请求从通信作者(E-mail:yongtaosu@126.com)处获得

Data Availability All relevant data supporting the findings of this study can be accessed upon reasonable request from the corresponding author at yongtaosu@126.com

医学伦理 本研究通过北大医疗鲁中医院医学伦理委员会审查(2025-KY-001)并符合1964年《赫尔辛基宣言》及之后的修订版或类似的伦理标准.所有参与者均签署知情同意书

Ethical Approval All procedures performed in this study involving human participants were in accordance with the ethical standards of PKUCare Luzhong Hospital (2025-KY-001), and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. All participants had signed an informed consent form

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2025. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

参考文献(References)

[1] AKKUS G, SERT M. Diabetic foot ulcers: a devastating complication of diabetes mellitus continues non-stop in spite of new medical treatment modalities[J]. **World J Diabetes**, 2022, 13(12): 1106-1121.

[2] WANG X, YUAN C X, XU B, et al. Diabetic foot ulcers: classification, risk factors and management[J]. **World J Diabetes**, 2022, 13(12): 1049-1065.

[3] LO Z J, SURENDRA N K, SAXENA A, et al. Clinical and economic burden of diabetic foot ulcers: a 5-year longitudinal multi-ethnic cohort study from the tropics [J]. **Int Wound J**, 2021, 18(3): 375-386.

[4] DASARI N, JIANG A, SKOCHDOPOLE A, et al. Updates in diabetic wound healing, inflammation, and scarring[J]. **Semin Plast Surg**, 2021, 35(3): 153-158.

[5] DENG H, LI B, SHEN Q, et al. Mechanisms of diabetic foot ulceration: a review[J]. **J Diabetes**, 2023, 15(4): 299-312.

[6] HUANG F, LU X, YANG Y, et al. Microenvironment-based diabetic foot ulcer nanomedicine[J/OL]. **Adv Sci**, 2023, 10(2): e2203308.

[7] MONAGHAN M G, BORAH R, THOMSEN C, et al. Thou shall not heal: overcoming the non-healing behaviour of diabetic foot ulcers by engineering the inflammatory microenvironment[J]. **Adv Drug Deliv Rev**, 2023, 203: 115120.

[8] SAWAYA A P, STONE R C, BROOKS S R, et al. Deregulated immune cell recruitment orchestrated by FOXM1 impairs human diabetic wound healing[J]. **Nat Commun**, 2020, 11(1): 4678.

[9] SCHILRREFF P, ALEXIEV U. Chronic inflammation in non-healing skin wounds and promising natural bioactive compounds treatment[J]. **Int J Mol Sci**, 2022, 23(9): 4928.

[10] MAHDAVIAN DELAVARY B, VAN DER VEER W M, VAN EGMOND M, et al. Macrophages in skin injury and repair[J]. **Immunobiology**, 2011, 216(7): 753-762.

[11] TORREGROSSA M, KAKPENOVA A, SIMON J C, et al. Modulation of macrophage functions by ECM-inspired wound dressings—a promising therapeutic approach for chronic wounds[J]. **Biol Chem**, 2021, 402 (11): 1289-1307.

[12] SOTTERO B, TESTA G, GAMBA P, et al. Macrophage polarization by potential nutraceutical compounds: a strategic approach to counteract inflammation in atherosclerosis[J]. **Free Radic Biol Med**, 2022, 181: 251-269.

[13] CHEN S, SAEED A F U H, LIU Q, et al. Macrophages in immunoregulation and therapeutics[J]. **Signal Transduct Target Ther**, 2023, 8(1): 207.

[14] GUAN F, WANG R, YI Z, et al. Tissue macrophages: origin, heterogenity, biological functions, diseases and

therapeutic targets[J]. **Signal Transduct Target Ther**, 2025, 10(1): 93.
[15] PENG Y, ZHOU M, YANG H, et al. Regulatory mechanism of M1/M2 macrophage polarization in the development of autoimmune diseases[J]. **Mediators Inflamm**, 2023, 2023: 8821610.
[16] YAN L, WANG J, CAI X, et al. Macrophage plasticity: signaling pathways, tissue repair, and regeneration [J/OL]. **MedComm**, 2024, 5(8): e658.
[17] KOTWAL G J, CHIEN S. Macrophage differentiation in normal and accelerated wound healing[J]. **Results Probl Cell Differ**, 2017, 62: 353-364.
[18] KUNINAKA Y, ISHIDA Y, ISHIGAMI A, et al. Macrophage polarity and wound age determination[J]. **Sci Rep**, 2022, 12(1): 20327.
[19] MAHMOUD N N, HAMAD K, AL SHIBITINI A, et al. Investigating inflammatory markers in wound healing: understanding implications and identifying artifacts[J]. **ACS Pharmacol Transl Sci**, 2024, 7(1): 18-27.
[20] RAZIYEVA K, KIM Y, ZHARKINBEKOV Z, et al. Immunology of acute and chronic wound healing[J]. **Biomolecules**, 2021, 11(5): 700.
[21] SHARIFIAGHDAM M, SHAABANI E, FARIDI-MAJIDI R, et al. Macrophages as a therapeutic target to promote diabetic wound healing[J]. **Mol Ther**, 2022, 30(9): 2891-2908.
[22] ZHOU X, GUO Y L, XU C, et al. Macrophages: key players in diabetic wound healing[J]. **World J Diabetes**, 2024, 15(11): 2177-2181.
[23] JOVIC D, LIANG X, ZENG H, et al. Single-cell RNA sequencing technologies and applications: a brief overview[J/OL]. **Clin Transl Med**, 2022, 12(3): e694.
[24] YANG S, DENG C, PU C, et al. Single-cell RNA sequencing and its applications in pituitary research [J]. **Neuroendocrinology**, 2024, 114(10): 875-893.
[25] ATSMA F, ELWYN G, WESTERT G. Understanding unwarranted variation in clinical practice: a focus on network effects, reflective medicine and learning health systems[J]. **Int J Qual Health Care**, 2020, 32(4): 271-274.
[26] THEOCHARIDIS G, THOMAS B E, SARKAR D, et al. Single cell transcriptomic landscape of diabetic foot ulcers[J]. **Nat Commun**, 2022, 13(1): 181.
[27] CHEN R, ZOU L. Combined analysis of single-cell sequencing and bulk transcriptome sequencing reveals new mechanisms for non-healing diabetic foot ulcers [J/OL]. **PLoS One**, 2024, 19(7): e0306248.

［本文编辑　余　方　刘丽娜］

· 学术动态 ·

楼敏教授团队研究成果突破急性缺血性脑卒中静脉溶栓时间窗限制

2025年8月7日，浙江大学医学院附属第二医院神经内科楼敏教授团队在《美国医学会杂志》(*The Journal of the American Medical Association*)在线发表了题为“Alteplase for acute ischemic stroke at 4.5 to 24 hours: the hope randomized clinical trial”的临床研究论文(DOI：10.1001/jama.2025.12063)。该研究通过多中心随机对照试验验证了静脉阿替普酶溶栓在发病4.5~24 h急性缺血性脑卒中患者中的疗效和安全性，为延长静脉溶栓治疗时间窗提供证据。

HOPE研究历时三年，在全国26家卒中中心共纳入372例具有可挽救脑组织的急性缺血性脑卒中患者。研究结果显示，延长时间窗内接受阿替普酶溶栓的患者在90 d时获得无残疾功能结局(mRS 0~1)的比例为40.3%，显著高于对照组的26.3%(调整后相对风险1.52，P=0.004)。尽管溶栓组症状性颅内出血发生率有所增加(3.8% *vs* 0.5%)，但90 d全因死亡率两组间差异并无统计学意义(均为10.8%)。亚组分析结果显示，该策略在不同年龄、性别、发病时间段以及血管闭塞类型中均有获益趋势，尤其是在颅内动脉粥样硬化相关脑卒中患者中疗效更为显著。研究采用适用于各种CT灌注成像的后处理软件，这一策略大大提高了研究结果的推广价值，为影像学检测条件有限的卒中中心提供了可复制的临床路径。

长期以来，静脉溶栓治疗因时间窗受限而使大量患者错失机会。HOPE研究结果表明，通过影像学甄别具有存活脑组织的患者，即使在发病后24 h患者仍可能从静脉溶栓获益。这为临床脑卒中再灌注治疗提供了全新证据，有望推动国际脑卒中诊治指南的修订。

浙江大学医学院附属第二医院周颖和贺耀德主治医师、皇家墨尔本医院Bruce C. V. Campbell教授为论文第一作者。研究得到国家自然科学基金支持。