

## 糖尿病足溃疡患者创面 Yap、TAZ 蛋白表达的临床意义

高剑, 郑晓慧, 王娅, 巩凡, 马国续

宁夏回族自治区人民医院手足和重建显微外科, 宁夏银川 750001

**[摘要]** 目的 研究糖尿病足溃疡(DFU)患者创面 Yes-相关蛋白(Yap)、转录共刺激因子(TAZ)蛋白表达的临床意义。方法 选取 DFU 患者 303 例, 根据其预后情况分为预后良好组 215 例和预后不良组 88 例; 根据病变程度分为轻度组 110 例、中度组 148 例和重度组 45 例。比较各组临床资料及 Yap、TAZ 蛋白表达水平。采用 Spearman 相关性分析 Yap、TAZ 与病变程度的相关性; 采用多因素 Logistic 回归方程分析影响因素, 采用 ROC 曲线分析 Yap、TAZ 对预后的影响。结果 Yap、TAZ 蛋白阳性表达率轻度组>中度组>重度组( $P<0.05$ )。DFU 患者 Yap、TAZ 蛋白阳性表达与病变程度呈负相关( $P<0.001$ )。预后不良组年龄、重度 DFU 比例、DFU 病程、空腹血糖(FBG)、C 反应蛋白(CRP)、降钙素原均较预后良好组高, Yap 和 TAZ 蛋白阳性表达率及水凝胶清创比例均较预后良好组低( $P<0.05$ )。年龄、DFU 病变程度、FBG、CRP 均为预后的危险因素, Yap、TAZ 蛋白表达及水凝胶清创为预后的保护因素( $P<0.05$ )。Yap、TAZ 蛋白表达对预后均具有一定预测价值( $P<0.05$ )。结论 DFU 患者 Yap、TAZ 蛋白高表达与病变程度呈负相关, Yap、TAZ 蛋白表达对 DFU 患者预后均具有一定预测价值。

**[关键词]** 糖尿病足溃疡; 创面; Yap 蛋白; TAZ 蛋白

**[中图分类号]** R587.2

**[文献标识码]** A

### Clinical significance of Yap and TAZ protein expression in wounds of diabetic foot ulcer patients

GAO Jian, ZHENG Xiaohui, WANG Ya, GONG Fan, MA Guoxu

Department of Hand, Foot and Reconstructive Microsurgery, People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan 750001, Ningxia, China

**[ABSTRACT]** **Aim** To investigate the clinical significance of Yes-associated protein (Yap) and transcriptional co-activator with PDZ-binding motif (TAZ) protein expression in wounds of diabetic foot ulcer (DFU) patients. **Methods** A total of 303 DFU patients were enrolled. Based on prognosis outcomes, they were divided into a good prognosis group ( $n=215$ ) and a poor prognosis group ( $n=88$ ). Based on lesion severity, they were divided into mild ( $n=110$ ), moderate ( $n=148$ ), and severe ( $n=45$ ) groups. Clinical data and Yap/TAZ protein expression levels were compared among groups. Spearman correlation analysis was used to assess the correlation between Yap/TAZ expression and lesion severity. Multivariate Logistic regression was employed to analyze the influencing factors, and ROC analysis was used to evaluate the impact of Yap/TAZ expression on prognosis. **Results** The positive expression rates of Yap and TAZ proteins were in an order of the mild group > the moderate group > the severe group ( $P<0.05$ ). In DFU patients, the positive expression of Yap and TAZ proteins was negatively correlated with the severity of the lesions ( $P<0.001$ ). Compared with the good prognosis group, the poor prognosis group had higher age, a higher proportion of severe DFU, longer DFU duration, higher fasting blood glucose (FBG), C-reactive protein (CRP), procalcitonin levels, while the positive expression rates of Yap and TAZ proteins and the proportion of hydrogel debridement were lower ( $P<0.05$ ). Age, DFU severity, FBG, and CRP were risk factors for prognosis, whereas Yap and TAZ protein expression and hydrogel debridement were protective factors ( $P<0.05$ ). The expression of Yap and TAZ proteins had certain predictive value for prognosis ( $P<0.05$ ). **Conclusion** High expression of Yap and TAZ proteins in DFU patients is inversely correlated with lesion severity. Both Yap and TAZ protein expression demonstrate predictive value for the prognosis of DFU patients.

具有重要的临床意义<sup>[1]</sup>。DFU 发病机制复杂,目前认为与持续高糖状态引发的微血管病变、慢性炎症反应、氧化应激损伤等多种因素密切相关<sup>[2]</sup>。创面修复是一个复杂的生物学过程,涉及炎症期、增殖期和重塑期等多个阶段,其中角质形成细胞和成纤维细胞的增殖迁移对创面愈合至关重要<sup>[3]</sup>。Yes 相关蛋白(Yes-associated protein, Yap)和具有 PDZ 结合基序的转录共激活因子(transcriptional co-activator with PDZ-binding motif, TAZ)是 Hippo 信号通路的关键下游效应分子,在调控细胞增殖、分化和组织再生中发挥核心作用<sup>[4]</sup>。近年研究发现, YAP/TAZ 可通过调控表皮干细胞增殖参与创伤修复过程<sup>[5]</sup>,因此,本研究通过检测 DFU 患者创面组织中 Yap、TAZ 蛋白的表达水平,分析其与溃疡严重程度和预后的关系,为 DFU 早期干预和靶向治疗提供新的理论依据。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

选取 2021 年 1 月—2024 年 9 月本院收治的 DFU 患者 303 例,其中男性 184 例,女性 119 例,年龄(57.25±4.22)岁。纳入标准:①依据文献<sup>[6]</sup>诊断标准确诊为 2 型糖尿病,且为首次发病;②自愿参与并配合随访,患者及家属均签署知情同意书。排除标准:①下肢静脉性溃疡、明显坏死或截肢史;②严重感染、创伤或急性炎症;③伴有肝肾功能不全、免疫缺陷等可能引发周围血管病变的疾病;④恶性肿瘤;⑤有生长因子或免疫抑制剂治疗史;⑥近 3 个月内发生溃疡癌变或接受大手术;⑦存在精神障碍影响治疗配合;⑧妊娠或哺乳期妇女。本研究经医院伦理委员会审核批准。收集患者入院时基线资料、实验室指标和治疗相关资料。

### 1.2 DFU 病变程度评估

根据 DFU 病变程度分级标准<sup>[7]</sup>对患者进行评估并分组。1 级为浅表全层皮肤溃疡,未累及真皮层;2 级为溃疡较深,常伴随软组织感染;3 级为深度感染,已存在脓腔,且出现大量坏死组织,未出现明显骨组织破坏;4 级为局限性坏疽,易出现明显骨质破坏及骨髓炎,部分脚趾已发生坏疽病变;5 级为全足坏疽。其中 1 级 110 例纳入轻度组;2~3 级 148 例纳入中度组,4~5 级 45 例纳入重度组。

### 1.3 Yap、TAZ 蛋白表达检测

采用免疫组织化学法检测足部溃疡创面组织 Yap 和 TAZ 蛋白的表达水平,主要仪器和试剂:德

国 Slee 公司石蜡切片烤片机(CUT4062)、日本 SAnYo 公司台式电热恒温干燥箱(MOV-112)、兔抗人 Yap 单克隆抗体及兔抗人 TAZ 多克隆抗体(南京德泰生物工程有限公司)。取石蜡包埋溃疡创面组织标本,经切片、脱蜡水化后,进行抑酶处理及抗原修复,随后封闭非特异性结合位点,滴加一抗(Yap/TAZ 抗体)孵育,二抗显色,苏木精复染,最后脱水、透明并封片。阳性判定标准为细胞核或细胞质中出现黄棕色颗粒,采用专业图像分析软件对染色结果进行灰度值定量分析。

### 1.4 预后评估

纳入患者均随访 6 个月,根据随访期间患者足部溃疡恢复情况<sup>[8]</sup>进行预后评估,将溃疡愈合者纳入预后良好组(215 例);溃疡一直未愈合或发展成截肢、死亡等不良事件者纳入预后不良组(88 例)。

### 1.5 统计学方法

采用 SPSS 26.0 统计学软件分析数据。计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,采用 *t* 检验和单因素方差分析;计数资料以例(%)表示,采用  $\chi^2$  检验。采用 Spearman 相关性分析 Yap、TAZ 与病变程度的相关性;采用多因素 Logistic 回归方程分析影响因素,采用 ROC 曲线分析 Yap、TAZ 对预后的影响。 $P<0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 不同病变程度 DFU 患者 Yap、TAZ 的比较

Yap、TAZ 蛋白阳性表达率轻度组>中度组>重度组( $P<0.05$ ;表 1)。经 Spearman 相关性分析显示,DFU 患者 Yap 蛋白阳性表达( $r=-0.459, P<0.001$ )、TAZ 蛋白阳性表达( $r=-0.442, P<0.001$ )与病变程度呈负相关。

表 1 不同病变程度 DFU 患者 Yap、TAZ 蛋白

| 分组  | n   | 阳性表达的比较 例(%)            |                         |
|-----|-----|-------------------------|-------------------------|
|     |     | Yap                     | TAZ                     |
| 轻度组 | 110 | 95(86.36)               | 91(82.73)               |
| 中度组 | 148 | 103(69.59) <sup>a</sup> | 101(68.24) <sup>a</sup> |
| 重度组 | 45  | 19(42.22) <sup>ab</sup> | 15(33.33) <sup>ab</sup> |

注:a 为  $P<0.05$ ,与轻度组比较;b 为  $P<0.05$ ,与中度组比较。

### 2.2 DFU 患者预后的单因素分析

预后不良组患者年龄、重度 DFU 比例、DFU 病程、空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、降钙素原均较预后良好组高, Yap 和 TAZ 蛋白阳性表达率及水凝胶清创比例均较预后良好组低( $P<0.05$ ;表 2)。

表 2 DFU 患者预后的单因素分析

| 指标                           | 预后良好组<br>(n=215) | 预后不良组<br>(n=88)         |
|------------------------------|------------------|-------------------------|
| 年龄/岁                         | 56.08±5.15       | 60.12±4.23 <sup>a</sup> |
| 性别/[例(%)] 男                  | 129(60.00)       | 55(62.50)               |
| 女                            | 86(40.00)        | 33(37.50)               |
| 体质指数/(kg/m <sup>2</sup> )    | 23.11±1.15       | 23.12±1.10              |
| 受教育程度/[例(%)]                 |                  |                         |
| 初中及以下                        | 20(9.30)         | 17(19.32)               |
| 中专及高中                        | 130(60.47)       | 47(53.41)               |
| 大专及以上                        | 65(30.23)        | 24(27.27)               |
| 婚姻状态/[例(%)]                  |                  |                         |
| 已婚                           | 158(73.49)       | 58(65.91)               |
| 未婚/离异/丧偶                     | 57(26.51)        | 30(34.09)               |
| 糖尿病病程/年                      | 9.47±2.48        | 10.06±2.12 <sup>a</sup> |
| DFU 病程/年                     | 4.47±1.21        | 6.03±1.21               |
| DFU 病变程度/[例(%)]              |                  |                         |
| 轻度                           | 69(32.09)        | 41(46.59) <sup>a</sup>  |
| 中度                           | 134(62.33)       | 14(15.91) <sup>a</sup>  |
| 重度                           | 12(5.58)         | 33(37.50) <sup>a</sup>  |
| 白细胞计数/(×10 <sup>9</sup> 个/L) | 10.77±3.43       | 11.35±3.87              |
| FBG/(mmol/L)                 | 9.62±1.15        | 10.69±1.18 <sup>a</sup> |
| 糖化血红蛋白/%                     | 7.68±1.88        | 8.13±1.97               |
| CRP/(mg/L)                   | 30.33±6.62       | 52.49±8.72 <sup>a</sup> |
| 降钙素原/(μg/L)                  | 0.43±0.16        | 0.59±0.31 <sup>a</sup>  |
| Yap 蛋白阳性表达/[例(%)]            | 176(81.86)       | 41(46.59) <sup>a</sup>  |
| TAZ 蛋白阳性表达/[例(%)]            | 170(79.07)       | 37(42.05) <sup>a</sup>  |
| 清创方式/[例(%)]                  |                  |                         |
| 水凝胶清创                        | 88(40.93)        | 22(25.00) <sup>a</sup>  |
| 纱布敷料清创                       | 65(30.23)        | 35(39.77)               |
| 外科清创                         | 62(28.84)        | 31(35.23)               |

注:a 为 P<0.05,与预后良好组比较。

### 2.3 DFU 患者预后的多因素分析

经 Logistic 回归分析显示,年龄、DFU 病变程度、FBG、CRP 均为影响 DFU 患者预后的危险因素, Yap、TAZ 蛋白表达及水凝胶清创为其预后的保护因素(P<0.05;表 3)。

表 3 DFU 患者预后的多因素分析

| 指标       | β      | SE    | wald χ <sup>2</sup> | OR(95% CI)         | P      |
|----------|--------|-------|---------------------|--------------------|--------|
| 年龄       | 0.415  | 0.197 | 4.438               | 1.514(1.029~2.228) | 0.036  |
| DFU 病变程度 | 0.671  | 0.265 | 6.411               | 1.956(1.164~3.288) | 0.012  |
| FBG      | 0.581  | 0.266 | 4.771               | 1.788(1.061~3.011) | 0.029  |
| CRP      | 0.617  | 0.243 | 6.447               | 1.853(1.151~2.984) | 0.011  |
| Yap 蛋白   | -0.199 | 0.080 | 6.188               | 0.820(0.701~0.959) | 0.013  |
| TAZ 蛋白   | -0.201 | 0.058 | 12.010              | 0.818(0.730~0.916) | 0.001  |
| 清创治疗     | -0.291 | 0.068 | 18.313              | 0.748(0.654~0.854) | <0.001 |

### 2.4 Yap、TAZ 蛋白表达对预后的预测价值

ROC 曲线分析显示,Yap、TAZ 蛋白表达对 DFU 患者预后均具有一定预测价值(P<0.05;表 4 和图 1)。

表 4 DFU 患者 Yap、TAZ 蛋白表达对预后的预测价值

| 指标     | AUC(95% CI)        | 灵敏度  | 特异度  | P     |
|--------|--------------------|------|------|-------|
| Yap 蛋白 | 0.668(0.579~0.756) | 0.52 | 0.82 | 0.004 |
| TAZ 蛋白 | 0.689(0.599~0.775) | 0.58 | 0.80 | 0.001 |

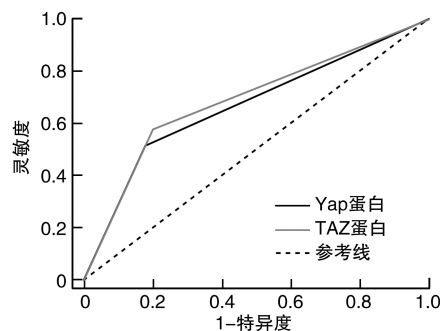


图 1 Yap、TAZ 蛋白表达预测 DFU 患者预后的 ROC 曲线

## 3 讨论

DFU 创面可为病原菌感染提供条件,导致病变迁延不愈,且容易向足部纵深部位发展,从而引发坏疽甚至截肢等不良后果<sup>[9]</sup>。因此对 DFU 进行深入研究,探寻新的预防和治疗靶点在临床具有重要临床意义。

本研究结果中,Yap、TAZ 蛋白阳性表达率轻度组>中度组>重度组;经 Spearman 相关性分析显示,DFU 患者 Yap 蛋白阳性表达、TAZ 蛋白阳性表达与病变程度呈负相关。炎症是导致 DFU 发生发展的重要机制之一。DFU 病变发生后,先由血浆中血小板分泌细胞因子,刺激嗜中性粒细胞向创面聚集并大量释放炎症因子,形成炎症反应<sup>[10]</sup>。Yap、TAZ 蛋白可与组蛋白脱乙酰基酶 7(HDAC7)形成复合体,抑制环氧合酶-2 基因转录,减轻炎症反应。有研究发现,Yap、TAZ 可通过对核因子-κB 进行调节而降低肺部炎症持续时间<sup>[11]</sup>。因此,在 DFU 患者中 Yap、TAZ 蛋白阳性表达率越高,越有利于调控炎症反应,改善患者病情。且本研究结果中,预后不良组 Yap、TAZ 蛋白阳性表达率均较预后良好组低,结果表明 DFU 患者 Yap、TAZ 蛋白对其预后具有重要影响作用。Yap、TAZ 蛋白表达对 DFU 患者预后影响主要体现在以下 3 个方面:①Yap、TAZ 蛋白表达对成纤维细胞具有调控作用。有研究发现,创面修

复过程经由多种纤维细胞参与<sup>[12]</sup>,如网络状成纤维细胞,其可分泌胶原纤维,组成肉芽组织的细胞外基质,对肉芽组织发挥支撑作用,而 Yap、TAZ 蛋白对于成纤维细胞活化具有驱动作用。②Yap、TAZ 蛋白表达对基底细胞修复功能具有调控作用,有研究表明,Yap、TAZ 蛋白在受损皮肤基底细胞核中的表达会升高,且在 Yap 被敲除后,创面的愈合时间也相对延长<sup>[13]</sup>。③Yap、TAZ 蛋白表达对创面血管重建具有促进作用。有研究表明,Yap、TAZ 蛋白通过与血管抑素结合蛋白等相互作用而促进新生血管发育<sup>[14]</sup>,且 Yap 经血管内皮生长因子激活后与转录激活子 3 结合,可上调血管内皮细胞中血管生成素-2 的表达。DFU 患者通常存在代谢紊乱,容易损伤线粒体,导致干扰素调节因子 3 (IRF3) 被激活,而 IRF3 可激活 Hippo 信号通路,造成 Yap 失活,影响血管再生重建。而本研究结果经 Logistic 回归分析显示,Yap、TAZ 蛋白表达为其预后的保护因素;经 ROC 曲线分析显示,Yap、TAZ 蛋白表达对 DFU 患者预后均具有一定预测价值,进一步证实 Yap、TAZ 蛋白对 DFU 患者预后具有重要指导作用。

同时本研究也显示,预后不良组患者年龄、重度 DFU 比例、DFU 病程、FBG、CRP、PCT 均较预后良好组高,水凝胶清创治疗比例较预后良好组低,表明上述因素对于 DFU 患者预后也存在一定影响作用。DFU 患者年龄越大,病程越长,病情越严重,其机体免疫功能相对越差,因此术后恢复效果也会受到影响。CRP 及 PCT 水平越高反映患者炎症反应越严重,其可促使微血管病变进一步加剧,从而导致患者下肢缺血进一步加重<sup>[15]</sup>。水凝胶保湿性能较好,可维持创面湿润环境,为细胞迁移及伤口愈合提供良好条件,且水凝胶可通过形成凝胶而缓解患者疼痛,并促进上皮细胞生长,最终可加速创面愈合速度。而本研究也显示,经 Logistic 回归分析显示,年龄、DFU 病变程度、FBG、CRP 均为影响 DFU 患者预后的危险因素,进一步证实 DFU 患者年龄、病变程度以及 FBG、CRP 水平均为影响其预后的重要因素。

综上所述,DFU 患者 Yap、TAZ 蛋白表达均与其预后存在重要关联,对于临床早期评估患者预后并积极采取措施具有重要指导价值。但本研究亦存在局限性,如 Yap、TAZ 蛋白表达预测 DFU 患者预后的 AUC 均 $<0.7$ ,提示二者鉴别能力较为有限,可能与本研究样本量选取有限且来源单一等原因有关,后续可扩大样本量及样本来源进一步进行分析探讨;本研究未对 Yap、TAZ 蛋白相关性进行分析,

因此无法排除 Yap、TAZ 共线性对预测价值的潜在影响,后续可通过丰富样本,并使用抗共线算法取代传统回归分析进一步对 Yap、TAZ 在 DFU 预后中的预测价值进行分析验证。

#### [参考文献]

- [1] SCHAPER NICOLAAS C, 范国洽, 何亚非, 等. 糖尿病足溃疡患者合并周围动脉病变和感染: 不止双重打击[J]. 中华糖尿病杂志, 2024, 16(2): 202-206.
- [2] 方锦玲, 周迪军. 炎症因子与糖尿病足溃疡患者血清细胞间黏附因子 1 表达相关性的研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2024, 32(2): 113-116.
- [3] 任婕, 王立志, 王肇鑫, 等. 胶原酶软膏促进 II 型糖尿病大鼠皮肤溃疡创面修复的作用机制[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(19): 4746-4753.
- [4] 赵雁焕, 姚娜, 耿乾书, 等. 圣草酚调节 YAP/TAZ 信号通路对牙周炎牙周膜干细胞成骨分化的影响[J]. 河北医学, 2024, 30(7): 1105-1114.
- [5] 李伟, 江陶, 鄢玲, 等. 虎杖苷调节 Hippo/YAP 信号通路对冠心病大鼠心肌损伤的影响[J]. 西部医学, 2024, 36(10): 1444-1448.
- [6] 中华医学会, 中华医学会杂志社, 中华医学会全科医学分会, 等. 2 型糖尿病基层诊疗指南(实践版 2019)[J]. 中华全科医师杂志, 2019, 18(9): 810-818.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会, 中华医学会感染病学分会, 中华医学会组织修复与再生分会. 中国糖尿病足防治指南(2019 版)(II)[J]. 中华糖尿病杂志, 2019, 11(3): 161-189.
- [8] 张悦, 周冬梅, 李伟, 等. 影响糖尿病足的危险因素及溃疡严重程度对预后的影响[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(22): 4911-4914.
- [8] 王岗, 岳仁宋, 龚光明. 糖尿病足溃疡愈合后复发危险因素的病例对照研究[J]. 中国全科医学, 2023, 26(15): 1857-1862.
- [9] 陈待庆, 郑健生, 谢可, 等. 系统免疫炎症指数、C 反应蛋白/清蛋白比值评估糖尿病足溃疡病情严重程度和预后的价值[J]. 中国感染控制杂志, 2023, 22(8): 901-906.
- [10] 雷慧, 鲍亚玲, 鲍喜静, 等. 金丝桃苷对糖尿病足溃疡大鼠炎症反应、创面愈合及 AMPK/SIRT1 信号通路的影响[J]. 天津医药, 2023, 51(11): 1205-1210.
- [11] LACANNA R, LICCARDO D, ZHANG P, et al. Yap/Taz regulate alveolar regeneration and resolution of lung inflammation[J]. J Clin Invest, 2019, 129(5): 2107-2122.
- [12] 吴磊, 祁义民, 杨蓓勃, 等. 人工真皮联合重组人酸性成纤维细胞生长因子在指端皮肤缺损的临床应用[J]. 医学研究生学报, 2023, 36(1): 45-49.
- [13] 胡守一, 谢苏杰, 张佳怡, 等. YAP/TAZ 在皮肤创面修复中的作用[J]. 生命科学, 2021, 33(10): 1246-1251.
- [14] 陈芋洁, 黄霞, 邓铂林, 等. 金合欢素调节 Hippo 信号通路对糖尿病视网膜病变大鼠血管生成的影响[J]. 天津医药, 2024, 52(6): 578-583.
- [15] 郑美洁, 李贤, 高哲, 等. 血小板/淋巴细胞比值和 C 反应蛋白与糖尿病足溃疡严重程度及预后的关系[J]. 中国临床研究, 2022, 35(7): 938-942.

(此文编辑 朱雯霞)