

鲍丹,郭蕊,侯道荣.角蛋白17基因敲除加剧糖尿病小鼠的创面愈合障碍[J].中国比较医学杂志,2023,33(10):54-60.
Bao D, Guo R, Hou DR. Keratin 17 knockout aggravates wound healing in diabetic mice [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(10): 54-60.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.10.008

角蛋白17基因敲除加剧糖尿病小鼠的创面愈合障碍

鲍丹¹,郭蕊¹,侯道荣^{2*}

(1.中国医学科学院皮肤病医院(中国医学科学院皮肤病研究所),北京协和医学院,南京 210000;
2.南京医科大学,南京 210000)

【摘要】 目的 探究角蛋白17(keratin 17, *Krt17*)基因敲除对糖尿病小鼠创面愈合的影响。方法 取6周龄野生型小鼠和 *Krt17* 基因敲除小鼠,利用60%高脂饲料喂养4周和腹腔注射链脲佐菌素(40 mg/(kg·d),连续5 d)联合诱导建立糖尿病小鼠模型;于造模成功后1周,小鼠异氟烷全身麻醉,背部剃毛,用6 mm环钻制造在体的皮肤圆形损伤;于制造创面后第8天,利用Western blot和免疫荧光染色检测KRT17在创面近端中的表达和定位及病理组织学分析;并于制造创面后第0、2、4、6和8天拍照记录,计算伤口愈合速率。结果 在正常生理情况下,KRT17主要在小鼠毛囊中表达;当皮肤受到损伤时,创面近端的角质形成细胞中KRT17的表达显著升高;而糖尿病小鼠创面中KRT17的表达较对照组小鼠显著下调。与野生型小鼠相比,*Krt17*基因敲除小鼠的伤口愈合速率显著降低;创面局部炎症反应更持续。结论 *Krt17*基因敲除加剧了糖尿病小鼠的创面愈合障碍,*Krt17*可能是参与该病理进程的重要调控基因之一。

【关键词】 角蛋白17;糖尿病创面;创面愈合

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2023)10-0054-07

Keratin 17 knockout aggravates wound healing in diabetic mice

BAO Dan¹, GUO Rui¹, HOU Daorong^{2*}

(1. Institute of Dermatology & Hospital for Skin Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Nanjing 210000, China. 2. Nanjing Medical University, Nanjing 210000)

【Abstract】 Objective To explore the effects of keratin 17 (*Krt17*) knockout on wound healing in diabetic mice. **Methods** To establish the diabetic model, a 60% high fat diet was provided and streptozotocin was administered intraperitoneally at 40 mg/kg once per day for 5 consecutive days in wild type (WT) and *Krt17* knockout (*Krt17*^{-/-}) mice at 6 weeks of age. The mice were anesthetized with isoflurane, the back was shaved, and a 6 mm circular skin lesion was made *in vivo* at 1 week after successful modeling. Western blot and immunofluorescence staining were used to assess the expression and localization of KRT17, and histopathology of wound healing was analyzed on day 8. Images were taken at 0, 2, 4, 6, and 8 days after wounding, and the wound healing rate was calculated. **Results** KRT17 was mainly expressed in mouse hair follicles under physiological conditions. When skin was injured, KRT17 expression in keratinocytes in the proximal wound was increased significantly. However, KRT17 expression in wounds of diabetic mice was significantly

[作者简介]鲍丹(1987—),女,博士,研究方向:糖尿病相关动物模型的建立与相关调节基因功能分析及分子机制研究。

E-mail:baodan@pumcdern.cams.cn

[通信作者]侯道荣(1979—),男,博士,研究方向:动物模型的表型分析。E-mail:houdaorong@njmu.edu.cn

downregulated compared with that of control mice. The wound healing rate of *Krt17*^{-/-} mice was significantly reduced and the local inflammatory reaction was more persistent compared with WT mice. **Conclusions** *Krt17* knockout aggravates wound healing in diabetic mice. *Krt17* may be an important modifier gene of diabetic wound healing.

[Keywords] keratin 17; diabetic wound; wound healing

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种由于胰岛素分泌缺陷和/或胰岛素生物作用受损所致的,以高血糖为特征的代谢性疾病。国际糖尿病联合会最新数据统计显示,2021年,全球20~79岁的人群DM患病率为10.5%(5.366亿人),预计到2045年将上升至12.2%(7.832亿人)^[1]。据报道,全球30%~97%DM患者可能有皮肤病变或并发皮肤病^[2]。在中国大庆糖尿病研究中,DM患者皮肤病的患病率为93.7%,75.7%的DM患者有两种或两种以上的皮肤病^[3],且DM患者的皮肤病变多发生在DM诊断之前^[4],因此,皮肤的病理性改变对DM的初步识别和诊断具有重要意义。

创面愈合障碍是DM最常见、最严重的皮肤并发症之一,也是当前DM治疗中的一个重要医学问题。DM患者更容易出现慢性伤口,如糖尿病腿和足溃疡。研究报道,DM患者慢性伤口的终生患病风险为12%~25%^[5]。DM患者的慢性创伤已成为非创伤性下肢截肢的主要原因(在美国,每年约有65700例),并造成严重的经济负担^[6]。现阶段,关于DM创面愈合障碍发生发展的分子机制仍不完全清楚。

本实验室的前期研究发现,当皮肤受到损伤时,创面近端的角质形成细胞中角蛋白17(keratin 17, KRT17)的表达显著升高;而T2DM小鼠创面中KRT17的表达较对照组小鼠显著下调。KRT17是一种I型角蛋白,在正常生理情况下,KRT17主要表达于皮肤的附属物中;在某些疾病,如银屑病、乳腺癌、口腔鳞状细胞癌、胃癌等恶性肿瘤中,KRT17异常过表达^[7-8]。现阶段,关于KRT17的研究主要集中在其对银屑病的调控作用和潜在的临床治疗方面。在银屑病的皮肤中,上调的KRT17与T细胞及细胞因子形成一个自身免疫环路^[9];下调KRT17的表达可减轻银屑病模型小鼠皮损的严重程度^[10]。然而,KRT17在T2DM创面愈合中的研究仍较少,因此,本文旨在结合前期研究结果通过*Krt17*基因敲除小鼠(*Krt17*^{-/-})分析*Krt17*基因敲除对T2DM小鼠的创面愈合的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

本实验所使用的实验动物为野生型(wild type, WT)C57BL/6J(雄性30只)SPF级小鼠和*Krt17*^{-/-}(雄性30只)SPF级小鼠,5~6周龄,体重18~20g,由南京医科大学医药实验动物中心提供[SCXK(苏)2021-0001],小鼠饲养于中国医学科学院皮肤病医院(中国医学科学院皮肤病研究所)实验动物中心SPF级屏障设施的饲养间[SYXK(苏)2022-0017],饲养间温度(23±2)℃,12h/12h明/暗光照,动物自由饮水和摄食。实验中涉及动物操作程序均遵循3R原则并已取得中国医学科学院皮肤病医院(中国医学科学院皮肤病研究所)实验动物福利伦理审查委员会的批准(2022-DW-026)。

1.2 主要试剂与仪器

链脉佐菌素(streptozotocin, STZ)(S0130)购自美国Sigma-Aldrich公司;柠檬酸钠(#C12931024)和柠檬酸(#C13056322)购自上海麦克林生化科技有限公司;KRT17抗体(#4543)购自美国Cell Signaling Technology公司;60%高脂饲料购自江苏省协同医药生物工程有限责任公司。电泳仪和电泳槽购自Bio-Rad公司;组织脱水机、石蜡包埋机、石蜡切片机和荧光显微镜均购自德国Leica公司。

1.3 实验方法

1.3.1 高脂饮食和STZ联合诱导T2DM小鼠模型并建立创面模型

选用5周龄雄性WT小鼠和*Krt17*^{-/-}小鼠普通饲料饲养1周适应环境后,随机分成6组:WT空白组、*Krt17*^{-/-}空白组、WT对照组、*Krt17*^{-/-}对照组、WT-T2DM组和*Krt17*^{-/-}-T2DM组($n=10$)。空白组小鼠普通饲料喂养且不制造任何伤口;对照组小鼠继续普通饲料喂养,T2DM组小鼠60%高脂饲养喂养;4周后,T2DM组小鼠腹腔注射STZ,剂量为40mg/(kg·d),连续注射5d,对照组小鼠腹腔注射同等量的生理盐水;STZ注射1周后,对照组和T2DM组小鼠禁食12h后检测血糖,空腹血糖值 ≥ 11.1 mmol/L视为T2DM造模成功^[11-13]。T2DM造模成

功后 1 周,小鼠异氟烷全身麻醉,背部剃毛,用 6 mm 环钻制造在体的皮肤圆形损伤,T2DM 组分为 T2DM 空白组(未制造创面)和 T2DM 对照组(制造创面)。

1.3.2 免疫荧光染色和 Western blot 检测 KRT17 在创面愈合中的定位和表达

于制造创面后第 8 天,安乐死牺牲小鼠,取对照组和 T2DM 组小鼠创面周围 2 mm 的皮肤组织,一部分进行 4%多聚甲醛固定 24 h 后进行修块、脱水、包埋和切片;一部分进行 RIPA 裂解液裂解、匀浆提取皮肤总蛋白。免疫荧光染色和 Western blot 检测 KRT17 的定位和表达。

1.3.3 创面愈合速率的计算

于制造创面后的第 0、2、4、6 和 8 天拍照记录,运用 ImageJ 软件定量分析创面愈合速率,创面愈合速率=(基线创面面积-第 n 天创面面积)/基线创面面积 $\times 100\%$ 。

1.3.4 创面愈合近端皮肤的病理组织学观察

于制造创面后第 8 天,安乐死牺牲小鼠,取对照组和 T2DM 组小鼠创面周围 2 mm 的组织,进行 4%多聚甲醛固定 24 h 后进行修块、脱水、包埋、切片和苏木素-伊红(haematoxylin-eosin, HE)染色。

1.4 统计学方法

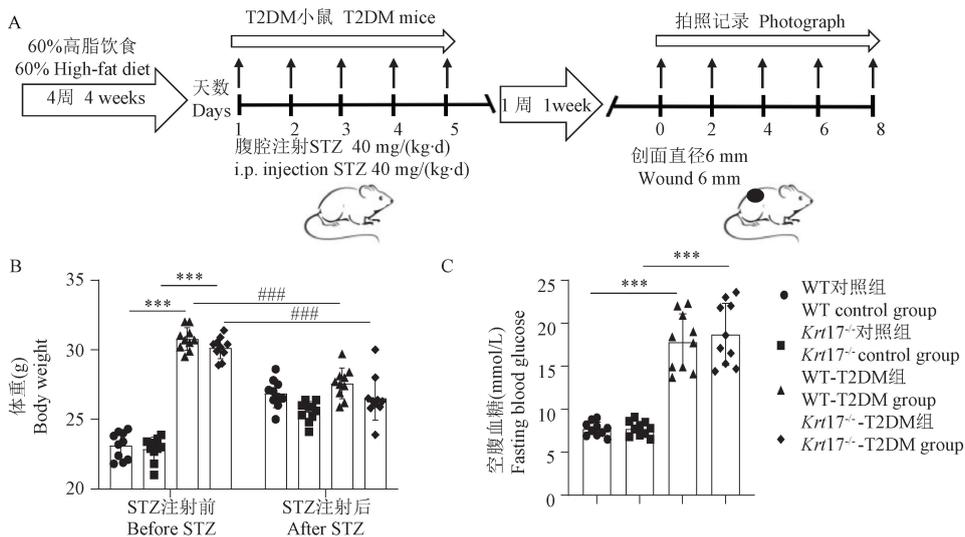
实验数据以平均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据运用 SPSS 16.0 统计软件处理。如果数据符合正态

分布,采用单因素方法分析(One-way ANOVA)进行组间比较,若组间差异有统计学意义,进一步采用 Tukey's post-hoc 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高脂饮食和 STZ 联合诱导 T2DM 小鼠和创面愈合模型的建立

本研究采用高脂饮食和 STZ 联合诱导的方法建立 T2DM 小鼠模型,T2DM 造模成功后,再进行创面愈合模型的建立(图 1A)。STZ 注射前,与正常饮食的对照组小鼠相比,WT-T2DM 和 $Krt17^{-/-}$ -T2DM 组小鼠 60%高脂饮食 4 周后,均表现出体重显著升高的表型($P < 0.001$,图 1B);STZ 注射后 1 周,与 STZ 注射前相比,WT-T2DM 和 $Krt17^{-/-}$ -T2DM 组小鼠的体重均显著下降($P < 0.001$,图 1B),呈现临床上 T2DM 患者体重减轻的表型。于 STZ 注射 1 周后,对 4 组小鼠禁食 12 h 后的空腹血糖检测发现,与 WT 对照组和 $Krt17^{-/-}$ 对照组小鼠相比,WT-T2DM 组和 $Krt17^{-/-}$ -T2DM 组小鼠的空腹血糖值均显著升高,且均 ≥ 11.1 mmol/L($P < 0.001$,图 1C),表明高脂饮食和 STZ 联合诱导 T2DM 小鼠造模成功。



注:A:高脂饮食和 STZ 联合诱导 T2DM 小鼠和创面愈合模型的实验设计;B:STZ 注射前后的体重;C:STZ 注射 1 周后的空腹血糖。与 WT 对照组和 $Krt17^{-/-}$ 对照组相比,*** $P < 0.001$;与处理前后相比,### $P < 0.001$ 。

图 1 高脂饮食和 STZ 联合诱导 T2DM 小鼠和创面愈合模型的建立

Note. A, Experimental design of high-fat diet combined with STZ to induce T2DM mice and wound healing models. B, Body weight before and after STZ injection. C, Fasting blood glucose after STZ injection 1 week. Compared with WT control group and $Krt17^{-/-}$ control group, *** $P < 0.001$. Compared with before and after treatment, ### $P < 0.001$.

Figure 1 Establishment of T2DM and wound healing mice model induced by high-fat diet combined with STZ

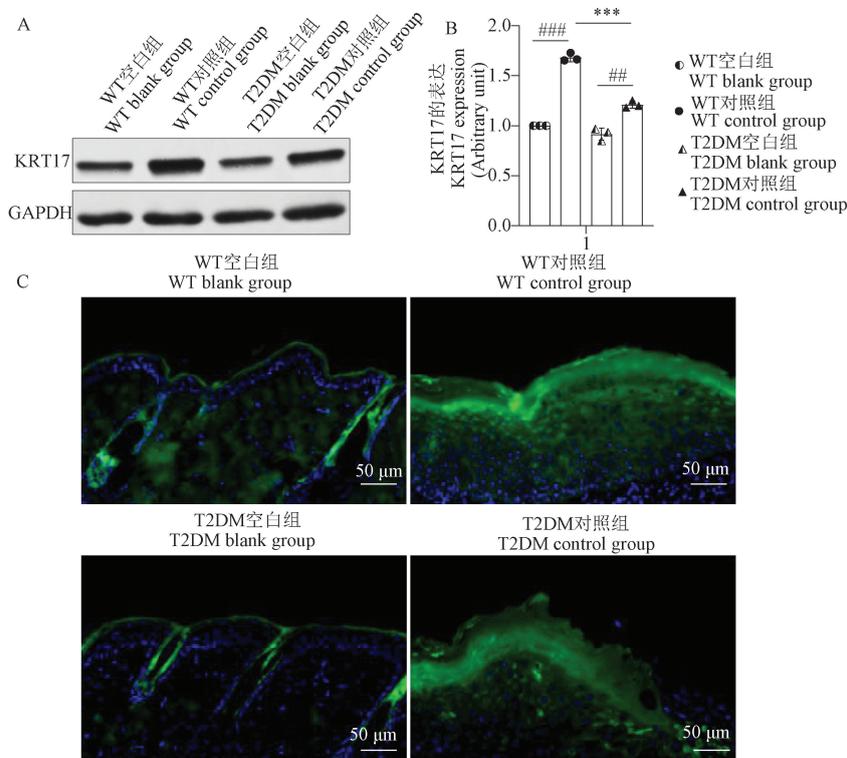
2.2 KRT17 在 T2DM 小鼠创面皮肤组织中的表达显著下调

高脂饮食和 STZ 联合诱导 T2DM 小鼠造模成功后,对 WT 和 T2DM 组小鼠在背部制造 6 mm 在体的皮肤圆形损伤,于制造创面后第 8 天,取 WT 空白组和 T2DM 空白组小鼠的皮肤及 WT 对照组和 T2DM 对照组小鼠创面周围 2 mm 的皮肤组织,检测 KRT17 的表达水平。结果显示,在未制造创面的情况下,WT 和 T2DM 小鼠皮肤组织中 KRT17 的表达水平无显著差别;制造在体皮肤创面后,WT 和 T2DM 小鼠创面周围皮肤组织中 KRT17 的表达水平均显著升高 ($P < 0.001$, $P < 0.01$, 图 2);但与 WT 对照组小鼠相比,T2DM 小鼠创面周围皮肤组织中

KRT17 的表达显著降低 ($P < 0.001$, 图 2)。IF 染色的检测结果与 Western blot 结果趋势一致,即在未制造创面情况下,KRT17 主要定位在毛囊中,WT 和 T2DM 小鼠无显著差异;制造在体皮肤创面后,WT 和 T2DM 小鼠创面近端的角质形成细胞中 KRT17 的表达均显著升高,但与 WT 小鼠相比,T2DM 小鼠创面近端的角质形成细胞中 KRT17 的表达水平较低(图 2C)。

2.3 *Krt17* 基因敲除减慢 T2DM 小鼠的创面愈合速率

于制造创面后的第 0、2、4、6 和 8 天分别对 4 组小鼠的创面拍照记录,运用 ImageJ 软件定量分析创面愈合速率发现,在正常生理情况下,与 WT 组小鼠



注:A:Western blot 检测 KRT17 在 WT 空白组和 T2DM 空白组(未制造创面)皮肤组织及 WT 对照组和 T2DM 对照组小鼠创面周围皮肤组织中的表达,内参:GAPDH;B:运用 ImageJ 软件分析密度定量 KRT17 的相对表达水平;C:IF 检测 KRT17 在 WT 和 T2DM 空白组及 WT 和 T2DM 对照组小鼠创面周围皮肤组织中的表达。蓝色:DAPI,细胞核;绿色:KRT17。与 WT 空白组和 T2DM 空白组相比, $^{##}P < 0.01$, $^{###}P < 0.001$;与 WT 对照组相比, $^{***}P < 0.001$ 。

图 2 KRT17 在正常小鼠和 T2DM 小鼠创面愈合皮肤中的表达

Note. A, Expression of KRT17 in skin tissue of WT blank group, T2DM blank group, WT control group and T2DM control group mice detected by Western blot, using GAPDH as normalization. B, Relative expression level of KRT17 quantified by densitometric analysis using ImageJ software. C, Expression of KRT17 in skin tissue of WT blank group, T2DM blank group, WT control group and T2DM control group mice detected by IF. Blue, DAPI, cell nucleus. Green, KRT17. Compared with WT blank group and T2DM blank group, $^{##}P < 0.01$, $^{###}P < 0.001$. Compared with WT control group, $^{***}P < 0.001$.

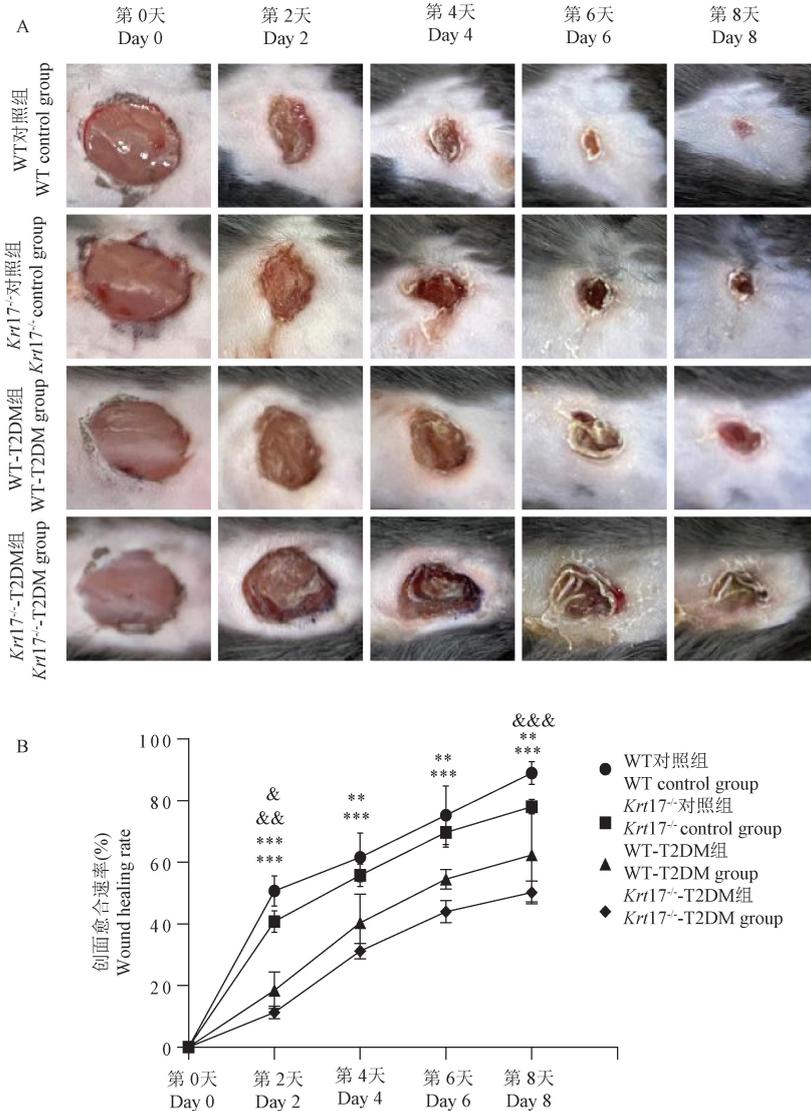
Figure 2 Expression of KRT17 in wound healing skin tissue of normal and T2DM mice

相比, *Krt17*^{-/-} 组小鼠的创面愈合速率显著减慢, 制造创面后的第 8 天, WT 组小鼠创面愈合率达到 88.94%, 而 *Krt17*^{-/-} 组小鼠仅为 78.06% ($P < 0.001$), 表明在正常生理情况下, *Krt17* 基因敲除对正常的创面愈合产生一定的影响。在糖尿病病理情况下, 与同一品系的对照组小鼠创面愈合率相比, WT-T2DM 和 *Krt17*^{-/-}-T2DM 模型小鼠的创面愈合速率分别显著减慢 37.65% 和 49.83% ($P < 0.01$, $P < 0.001$), 表明 T2DM 存在创面愈合障碍; 此外, 与

WT-T2DM 组小鼠相比, *Krt17*^{-/-}-T2DM 组小鼠的创面愈合速率显著减慢, 表明 *Krt17* 基因敲除加剧了 T2DM 创面愈合障碍的表型(图 3)。

2.4 *Krt17* 基因敲除小鼠创面病理组织学变化

于制造创面后第 8 天, 分别取 4 组小鼠创面周围 2 mm 的皮肤组织, 进行病理组织学表型分析(图 4)。结果显示, 对照组: WT 小鼠创面几乎完全愈合, 新生表皮较周围组织无显著差别; *Krt17*^{-/-} 组小鼠仍可见明显的创面床, 且创面新生表皮较周围组

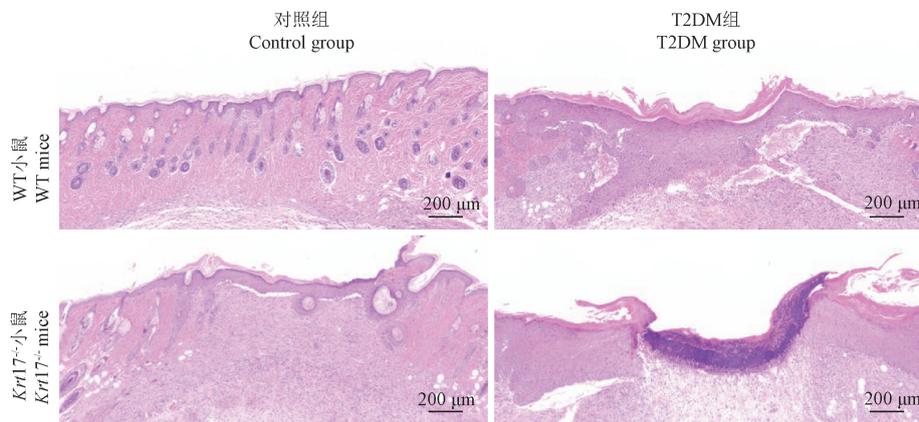


注: A: 制造创面后的第 0、2、4、6 和 8 天的照片; B: 运用 ImageJ 软件定量分析创面愈合速率。与 WT 对照组和 *Krt17*^{-/-} 对照组相比, $^{**} P < 0.01$, $^{***} P < 0.001$; 与 WT 对照组和 WT-T2DM 组相比, $^{\&} P < 0.05$, $^{\&\&} P < 0.01$, $^{\&\&\&} P < 0.001$ 。

图 3 WT 和 *Krt17*^{-/-} 小鼠在正常生理和糖尿病病理情况下的创面愈合速率

Note. A, Photos taken on days 0, 2, 4, 6 and 8 after wound made. B, Wound healing rate quantified by ImageJ software. Compared with WT control group and *Krt17*^{-/-} control group, $^{**} P < 0.01$, $^{***} P < 0.001$; Compared with WT control group and WT-T2DM group, $^{\&} P < 0.05$, $^{\&\&} P < 0.01$, $^{\&\&\&} P < 0.001$.

Figure 3 Wound healing rate in WT and *Krt17*^{-/-} mice under normal physiology and diabetic pathology



注:创面周围 2 mm 的皮肤 HE 染色观察。

图 4 WT 和 *Krt17*^{-/-} 小鼠在正常生理和糖尿病病理情况下的皮肤病理组织学表型分析

Note. Magnification of HE-stain sections of skin tissue around wound 2 mm.

Figure 4 Histopathological phenotyping analysis of WT and *Krt17*^{-/-} mice under normal physiology and diabetic pathology

织显著增厚。T2DM 组:与对照组小鼠相比,WT-T2DM 组和 *Krt17*^{-/-}-T2DM 组小鼠创面愈合均显著延迟,且 *Krt17*^{-/-}-T2DM 组小鼠创面近端有较多的炎性细胞浸润,创面局部仍处于持续的炎症状态。

3 讨论

本研究发现,在 T2DM 小鼠创面近端皮肤组织中,KRT17 的表达水平较 WT 对照组小鼠显著降低;Charles 等^[14]利用互补的 DNA 微阵列技术比较愈合的和未愈合的腿慢性伤口的差异表达基因时也发现,与正常皮肤创面愈合相比,在未愈合的慢性伤口中,*Krt17* 是前 15 个表达下调的基因之一;提示 KRT17 表达水平的下调可能阻碍了 T2DM 慢性伤口的创面愈合。随后,在对 WT 和 *Krt17*^{-/-} 小鼠进行 T2DM 创面造模后的观察中发现,与 WT 小鼠相比,*Krt17*^{-/-} 小鼠表现出明显的创面愈合延迟和炎症反应持续的表型,说明 *Krt17* 基因敲除加剧了 T2DM 小鼠的创面愈合障碍。

创面愈合由 4 个高度整合和重叠的阶段组成:止血、炎症、增殖和组织重构^[15],表皮层的角质形成细胞、真皮层的成纤维细胞和微血管内皮细胞^[16]以及各种炎症免疫细胞共同参与一系列的细胞和分子创面愈合过程。当皮肤发生损伤时,角质形成细胞能迅速被激活并产生各种重要的皮肤屏障损伤相关分子,吸引和/或激活免疫细胞对损伤信号提供及时和长期的保护。同时,创面近端的角质形成细胞也暂时中止末端分化,细胞大小形状、细胞之

间的联系和细胞与基质间的黏附等方面的蛋白翻译也发生巨大变化,为创面愈合的迁移和增殖做准备^[17]。

研究证实,KRT17 是关键的皮肤屏障损伤相关的重要分子之一^[17],皮肤损伤时,角质形成细胞中的 KRT17 迅速被激活,持续表达至创面愈合的重构阶段,直至皮肤屏障功能恢复。激活的磷酸化的 KRT17 与哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, Mtor)通路的正调控因子 14-3-3 σ 蛋白特异性相互作用^[18],通过激活 Mtor—蛋白激酶 B(protein kinases B, AKT)通路促进蛋白质的合成和角质形成细胞的增殖,促进创面愈合^[19]。本研究中 *Krt17*^{-/-}-T2DM 小鼠表现出明显的创面愈合延迟,可能与 *Krt17* 基因缺失后,Mtor-AKT 信号下调有关;此外,*Krt17*^{-/-}-T2DM 小鼠创面局部持续的炎症状态也是导致其创面愈合障碍的一个重要因素^[20]。

如前所述,角蛋白是创面愈合过程中角质形成细胞产生的第一波重要的皮肤屏障损伤相关的分子,为细胞提供锚定骨架、调节角质形成细胞增殖/分化和炎症反应^[21],在创面愈合中发挥重要作用。研究发现,角蛋白敷料可通过增强小鼠角质形成细胞的活化从而加速创面愈合和再上皮化^[22-23]。由此可见,角蛋白的补充在促进创面愈合方面有很大的前景。本研究发现 KRT17 在 T2DM 小鼠创面中表达下调,且敲除 *Krt17* 加剧了 T2DM 小鼠的创面愈合,这一发现为角蛋白在临床上治疗 T2DM 创面愈合障碍的应用研发提供了一定的理论和实验依据。

参考文献:

- [1] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183; 109119.
- [2] de Macedo GMC, Nunes S, Barreto T. Skin disorders in diabetes mellitus: an epidemiology and physiopathology review [J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2016, 8(1): 63.
- [3] Shen CB, Qian X, Yu RX, et al. Skin diseases in the Da Qing Diabetes Study: a cross-sectional study [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 134(10): 1191-1198.
- [4] Lima AL, Illing T, Schliemann S, et al. Cutaneous manifestations of diabetes mellitus: a review [J]. *Am J Clin Dermatol*, 2017, 18(4): 541-553.
- [5] Singh N, Armstrong DG, Lipsky BA. Preventing foot ulcers in patients with diabetes [J]. *JAMA*, 2005, 293(2): 217-228.
- [6] Burgess JL, Wyant WA, Abdo Abujamra B, et al. Diabetic wound-healing science [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2021, 57(10): 1072.
- [7] Yang L, Zhang S, Wang G. Keratin 17 in disease pathogenesis: from cancer to dermatoses [J]. *J Pathol*, 2019, 247(2): 158-165.
- [8] Samuelov L, Smith FJD, Hansen CD, et al. Revisiting pachyonychia congenita: a case-cohort study of 815 patients [J]. *Br J Dermatol*, 2020, 182(3): 738-746.
- [9] Lin Y, Zhang W, Li B, et al. Keratin 17 in psoriasis: current understanding and future perspectives [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2022, 128; 112-119.
- [10] Chang T, Sun L, Wang Y, et al. Inhibition of keratin 17 expression with antisense and RNAi strategies: exploring novel therapy for psoriasis [J]. *Exp Dermatol*, 2011, 20(7): 555-560.
- [11] Han L, Li T, Du M, et al. Beneficial effects of *Potentilla discolor* bunge water extract on inflammatory cytokines release and gut microbiota in high-fat diet and streptozotocin-induced type 2 diabetic mice [J]. *Nutrients*, 2019, 11(3): 670.
- [12] Li T, Chang R, Zhang H, et al. Water extract of *Potentilla discolor* bunge improves hepatic glucose homeostasis by regulating gluconeogenesis and glycogen synthesis in high-fat diet and streptozotocin-induced type 2 diabetic mice [J]. *Front Nutr*, 2020, 7; 161.
- [13] Yuan Q, Zhan B, Chang R, et al. Antidiabetic effect of casein glycomacropeptide hydrolysates on high-fat diet and STZ-induced diabetic mice via regulating insulin signaling in skeletal muscle and modulating gut microbiota [J]. *Nutrients*, 2020, 12(1): 220.
- [14] Charles CA, Tomic-Canic M, Vincek V, et al. A gene signature of nonhealing venous ulcers: potential diagnostic markers [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2008, 59(5): 758-771.
- [15] Sawaya AP, Stone RC, Brooks SR, et al. Deregulated immune cell recruitment orchestrated by FOXM1 impairs human diabetic wound healing [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4678.
- [16] Zhang S, Ke Z, Yang C, et al. High glucose causes distinct expression patterns of primary human skin cells by RNA sequencing [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12; 603645.
- [17] Zhang X, Yin M, Zhang LJ. Keratin 6, 16 and 17-critical barrier alarmin molecules in skin wounds and psoriasis [J]. *Cells*, 2019, 8(8): 807.
- [18] Beck T, Hall MN. The TOR signalling pathway controls nuclear localization of nutrient-regulated transcription factors [J]. *Nature*, 1999, 402(6762): 689-692.
- [19] Kim S, Wong P, Coulombe PA. A keratin cytoskeletal protein regulates protein synthesis and epithelial cell growth [J]. *Nature*, 2006, 441(7091): 362-365.
- [20] Hoke GD, Ramos C, Hoke NN, et al. Atypical diabetic foot ulcer keratinocyte protein signaling correlates with impaired wound healing [J]. *J Diabetes Res*, 2016, 2016; 1586927.
- [21] Toivola DM, Boor P, Alam C, et al. Keratins in health and disease [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2015, 32: 73-81.
- [22] Pechter PM, Gil J, Valdes J, et al. Keratin dressings speed epithelialization of deep partial-thickness wounds [J]. *Wound Repair Regen*, 2012, 20(2): 236-242.
- [23] Konop M, Sulejczak D, Czuwara J, et al. The role of allogenic keratin-derived dressing in wound healing in a mouse model [J]. *Wound Repair Regen*, 2017, 25(1): 62-74.

[收稿日期] 2022-10-27