辛岳,刘静,高紫薇,等. CircRNA STT3B 对糖尿病创面愈合的作用及机制研究［J］. 中国比较医学杂志, 2026, 36(19): 16-26.
Xin Y, Liu J, Gao ZW, et al. The role and mechanism of circular RNA STT3B in diabetic wound healing［J］. Chin J Comp Med, 2026, 36(19): 16-26.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2026.19.002

CircRNA STT3B 对糖尿病创面愈合的作用及机制研究

辛　岳[1],刘　静[1],高紫薇[1],魏韩笑[2*]

(1.徐州医科大学,江苏 徐州　221004; 2.徐州医科大学附属医院,江苏 徐州　221006)

【摘要】 目的　探讨人源毛囊真皮干细胞外泌体(HFDSC-Exos)中环状 RNA STT3B(circRNA STT3B)对人角质形成细胞(HaCaT)氧化应激损伤的保护及糖尿病创面愈合的作用,阐明其潜在分子机制。**方法**　通过检测氧化应激相关因子明确 HFDSC-Exos 对 HaCaT 抗氧化作用;测序筛选 HFDSC-Exos 作用于 HaCaT 后差异表达的基因;RNA pull-down、ELISA、RT-qPCR 等实验探究 circRNA STT3B 与 BACH1 的相互作用及其对 *HO*-1 的调控;建立糖尿病小鼠创面模型,观察 circRNA STT3B 对创面愈合的影响。**结果**　HFDSC-Exos 显著下调 HaCaT 氧化应激因子水平($P<0.05$)。测序筛选出 circRNA STT3B,其通过 HFDSC-Exos 传递至 HaCaT 发挥作用。CircRNA STT3B 可与 BACH1 蛋白结合,导致 BACH1 入核减少,HO-1 表达增加($P<0.05$)。糖尿病小鼠创面实验显示,circRNA STT3B 过表达组创面愈合速度更快,上皮细胞增生明显,胶原蛋白沉积丰富($P<0.05$)。**结论**　CircRNA STT3B 通过 HFDSC-Exos 与 HaCaT 细胞质中 BACH1 结合,导致 BACH1 入核减少,解除了 *HO*-1 等抗氧化应激因子的抑制,HO-1 表达增加,减少 HaCaT 氧化应激损伤,促进糖尿病小鼠创面愈合。

【关键词】 circRNA STT3B;毛囊真皮干细胞;外泌体;氧化应激;糖尿病创面
【中图分类号】R587.2;R641;R34　**【文献标识码】**A　**【文章编号】**1671-7856 (2026) 19-0016-11

The role and mechanism of circular RNA STT3B in diabetic wound healing

XIN Yue[1], LIU Jing[1], GAO Ziwei[1], WEI Hanxiao[2*]
(1. Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China.
2. Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221006)

【Abstract】 Objective　To investigate the protective effect of circular RNA STT3B (circRNA STT3B) from human hair follicle dermal stem cell-derived exosomes (HFDSC-Exos) against oxidative stress damage in human keratinocytes (HaCaT), as well as assess its role in diabetic wound healing and elucidate the underlying molecular mechanisms involved. **Methods**　The antioxidant effect of HFDSC-Exos on HaCaT cells was determined by measuring oxidative stress-related factors. Sequencing and screening of differentially expressed genes in HaCaT cells treated with HFDSC-Exos, RNA pull-down, enzyme-linked immunosorbent assay, and quantitative polymerase chain reaction were

[**基金项目**]国家自然科学基金(82172224);徐州市卫健委医学科技创新面上项目(XWKYHT20230063)。
[**作者简介**]辛岳(2002—),女,在读硕士研究生,研究方向:创面愈合。E-mail:xinyue071502@163.com
[**通信作者**]魏韩笑(1989—),女,博士,副主任医师,硕士生导师,研究方向:毛囊干细胞促进创面愈合及机制研究。E-mail:whx87138528@163.com

used to explore the interaction between circRNA STT3B and BACH1, as well as its regulation of *HO*-1. A diabetic mouse wound model was established to observe the impact of circRNA STT3B on wound healing. **Results** HFDSC-Exos significantly reduced oxidative stress factor levels in HaCaT cells ($P<0.05$). CircRNA STT3B was identified by sequencing and exerted its function through delivery to HaCaT cells by HFDSC-Exos. CircRNA STT3B bound to BACH1 protein, reducing BACH1 nuclear translocation and increasing HO-1 expression ($P<0.05$). CircRNA STT3B overexpression accelerated wound healing in diabetic mice, enhanced epithelial cell proliferation, and increased collagen deposition ($P<0.05$). **Conclusions** HFDSC-Exos circRNA STT3B bound to BACH1 in HaCaT cell cytoplasm, inhibiting BACH1 nuclear entry and relieving its suppression of antioxidant factors such as *HO*-1. This upregulated HO-1 expression, mitigating oxidative stress damage in HaCaT cells and promoting diabetic wound healing.

【Keywords】 circRNA STT3B; hair follicle dermal stem cells; exosomes; oxidative stress; diabetic wounds

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

糖尿病是继肿瘤、心血管疾病之后，严重威胁人类健康的重大疾病。中国是糖尿病患者人数最多的国家，预计至 2045 年患者数量将超过 1.74 亿[1]。糖尿病患者一生发生糖尿病创面的概率是 25%，该创面易复发且致死、致残率高[2,3]。高糖环境扰乱细胞稳态，造成局部代谢废物堆积，促使微环境中活性氧（reactive oxygen species, ROS）爆发，触发过度的氧化应激反应，成为糖尿病创面迁延不愈的核心环节[4]。因此，重塑创面微环境是目前亟待突破的治疗关键。

糖尿病创面的生物治疗已历经长期探索。脂肪或脐带来源间充质干细胞及相关外泌体、富血小板血浆等生物制剂虽被证实可加速愈合，但仍存在来源受限、效力不稳、潜在异质性等瓶颈[5-8]。人源毛囊真皮干细胞（human hair follicle dermal stem cells，HFDSCs）促进表皮细胞的分化和细胞外基质重建[9]，减少纤维化[10]，有效降低糖尿病环境对细胞的有害影响，但具体作用机制尚不明确。本研究通过测序筛选人源毛囊真皮干细胞外泌体（human hair follicle dermal stem cell derived exosomes, HFDSC-Exos）作用于人角质形成细胞（human immortalized keratinocytes, HaCaT）后差异表达的基因，聚焦环状 RNA STT3B（circular RNA STT3B, circRNA STT3B），探究其能否通过 HFDSC-Exos 减轻 HaCaT 的氧化应激损伤，明确其与 BTB-CNC 同源蛋白 1（BTB and CNC homology 1，BACH1）的相互作用及其对血红素氧合酶-1（heme oxygenase-1, *HO*-1）的调控机制；通过动物实验验证 circRNA STT3B 对糖尿病创面愈合的影响，为开发新型创面修复治疗策略提供实验依据。

1　材料和方法

1.1　实验材料

1.1.1　实验动物

SPF 级 8 周龄 BALB/c 裸鼠 24 只，体质量（22.0±1.5）g，性别不限，购自徐州医科大学［SCXK（苏）2025-0013］。动物饲养于徐州医科大学实验动物中心 SPF 级动物房［SYXK（苏）2021-0038］，温度（22±2）℃，湿度（55±5）%，12 h 光照/12 h 黑暗循环，自由饮食、饮水条件下适应性喂养，本研究由徐州医科大学实验动物伦理委员会审批通过（IACUC-202410T028），实验动物饲养和实验过程按 3R 原则给予人道关怀。

1.1.2　细胞

HaCaT（货号：BES211HC）购自上海博尔森生物科技有限公司；HFDSCs（货号：LZ-YX9482）购自上海联祖生物科技有限公司。

1.2　主要试剂与仪器

ExoQuick-TC 外泌体提取试剂盒（货号：EXOTC50A-1）、DAPI 染色液（货号：D1306）、抗荧光淬灭封片液（货号：P36930）购自美国 Invitrogen 公司；DCFH-DA 探针（货号：S0033）、ROS 检测试剂盒（货号：S0033S）购自上海碧云天生物技术有限公司；PKH26 染料（货号：MINI26）购自德国 Sigma-Aldrich 公司；抗 BACH1 抗体（货号：14010S）、抗 HO-1 抗体（货号：43966S）及蛋白 A/G 磁珠（货号：88803）购自美国 Cell Signaling Technology 公司；外泌体抑制剂 GW4869（货号：S1917-25 mg）购自上海碧云天生物技术有限公司；细胞 RNA 快速提取试剂盒（货号：400-100）购自广州信天翁生物科技有限公司。

细胞培养箱、实时荧光定量 PCR 仪(311、QuantStudio Q3,Thermo Fisher Scientific,美国);酶标仪(Synergy H1,Bio Tek Instruments,美国);激光扫描共聚焦显微镜(LSM910,Carl Zeiss AG,德国);透射电子显微镜、垂直电泳槽仪、垂直电泳槽、电泳仪电源(GP2007、SVE-2、SVT-2、SPW-6S,武汉塞维尔生物科技有限公司);纳米颗粒跟踪分析仪(Nanosight NS300,Malvern Panalytical,英国);流式细胞仪(NovoCyte 2060R,Agilent Technologies,美国)。

1.3 实验方法

1.3.1 HFDSC-Exos 获取

取第 3~5 代处于对数生长期的 HFDSCs,以含 10%无外泌体胎牛血清(exosome-depleted fetal bovine serum,Exosome-depleted FBS)的 DMEM/F12 培养基预培养 24 h,以清除血清来源外泌体的干扰,随后更换为新鲜无外泌体培养基继续培养 48 h,收集培养上清液。上清液依次于 4 ℃、780 r/min 离心 10 min 去除细胞沉淀,2 880 r/min 离心 20 min 去除细胞碎片,经 0.22 μm 滤膜过滤去除残留碎片及微囊泡。随后按照 ExoQuick-TC 外泌体提取试剂盒说明书进行外泌体沉淀:向过滤后上清液中加入 1/5 体积试剂,混匀后 4 ℃静置过夜;次日 4 ℃、2 160 r/min 离心 30 min,弃上清液,再次离心 5 min 充分去除残留试剂,以适量磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline,PBS)重悬,即得 HFDSC-Exos。采用透射电子显微镜观察外泌体形态,纳米颗粒跟踪分析仪检测粒径分布。

1.3.2 细胞分组与处理

取对数生长期的 HaCaT 细胞,以 2×10^5/孔的密度接种于 6 孔板中,将含 10% Exosome-depleted FBS 的 DMEM 高糖培养基于 37 ℃、5% CO_2 培养箱内常规培养,待细胞融合度达 70%~80%时进行实验。弃去原有培养基,PBS 轻柔洗涤细胞 2 次,加入含 100 μg/mL 高糖的无血清 DMEM 培养基,继续培养 48 h 以诱导细胞氧化应激损伤,构建氧化应激模型。造模完成后将细胞随机分为 4 组:HaCaT 组(给予等体积 PBS)、HaCaT+高浓度 Exos 组(5.0×10^8 particles/mL,HFDSC-Hi-Exos)、HaCaT+低浓度 Exos 组(5.0×10^4 particles/mL,HFDSC-Low-Exos)、HaCaT+Exos 抑制剂组(20 μmol/L GW4869),每组设置 3 个复孔,分组处理后进行后续检测。

1.3.3 相关指标检测

ROS 检测:收集各组处理后的 HaCaT 细胞,预冷 PBS 洗涤 2 次,去除培养基残留。将细胞重悬于含 10 μmol/L 2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯(2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate,DCFH-DA)ROS 荧光探针的无血清培养基中并充分混匀。置于 37 ℃、5% CO_2 培养箱中避光孵育 20 min,期间每隔 5 min 轻轻摇晃 1 次,确保探针与细胞充分接触。孵育结束后,预冷 PBS 洗涤细胞 3 次,去除未进入细胞的探针。立即于荧光显微镜(激发波长 488 nm,发射波长 525 nm)下观察并采集图像,随机选取视野进行拍照。荧光强度使用 ImageJ 1.54f 软件进行定量分析,每组随机选取 5 个视野,以平均相对荧光强度表示细胞内 ROS 的相对水平。

酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)检测:按试剂盒说明书进行操作,酶标仪检测 450 nm 处吸光度值,计算晚期糖基化终产物(advanced glycation end-product,AGE)、HO-1 的表达水平。

1.3.4 CircRNA 筛选与验证

将 HaCaT 细胞分为 HaCaT 组和 HaCaT+Exos 组,其中 HaCaT 组给予等体积 PBS 处理,HaCaT+Exos 组加入 HFDSC-Exos(5.0×10^8 particles/mL),共培养 48 h。处理结束后提取各组细胞总 RNA,采用 RNA 测序(RNA-sequencing,RNA-seq)技术筛选差异表达的 circRNAs。根据 RNA-seq 结果筛选候选 circRNAs,并进一步采用逆转录-实时荧光定量聚合酶链反应(reverse transcription quantitative real-time polymerase chain reaction,RT-qPCR)进行验证。筛选出目标 RNA 后,将高、中、低不同浓度(5.0×10^8 particles/mL、5.0×10^6 particles/mL、5.0×10^4 particles/mL)的 HFDSC-Exos 与 HaCaT 细胞共培养 48 h 后,提取不同浓度 HFDSC-Exos 下 HaCaT 细胞与 HaCaT 组细胞(给予等体积 PBS)各自总 RNA 进行逆转录反应,合成 cDNA。以 cDNA 为模板,采用 SYBR Green 荧光定量 PCR 体系进行 RT-qPCR 检测。反应结束后,根据扩增曲线和熔解曲线分析目的 circRNA 的扩增特异性。以 *GAPDH* 为内参基因,通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目标基因相对表达量。引物序列见表 1。

表 1　RT-qPCR 检测 circRNA 引物
Table 1　Primers for RT-qPCR of circRNA

项目 Item		引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	长度/bp Length/bp
CircRNA STT3B	正义链 Sense primer	GCTGTTAACGGGAAAGGTTG	148
	反义链 Antisense primer	TGTCGTCCTCGCTGTCATAG	
GAPDH	正义链 Sense primer	GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG	121
	反义链 Antisense primer	ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA	

1.3.5　CircRNA STT3B 环状结构的确定和细胞定位

通过 Sanger 测序找到 circRNA STT3B 环化位点,确定其成环。核糖核酸外切酶 RNase R 处理细胞,RT-qPCR 检测 circRNA STT3B 表达。采用 PKH26 红色荧光染料标记外泌体,异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate,FITC)进行 HaCaT 细胞骨架染色,4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole,DAPI)进行细胞核染色。使用激光扫描共聚焦显微镜观察 HaCaT 对外泌体的摄取情况。以 *GAPDH* 作为细胞质内参、*U6* 作为细胞核内参,采用琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物,分析 circRNA STT3B 在 HaCaT 中的细胞定位。

1.3.6　STT3B 和 BACH1 结合位点的预测与验证

利用慢病毒包装系统将 circRNA STT3B 过表达质粒或空载体对照分别转染至目标细胞,经筛选后获得 circRNA STT3B 过表达(circRNA STT3B^{OE})组及对照(Control)组细胞。在此基础上,提取两组细胞的的总 RNA 进行 RNA-Seq,并通过 RT-qPCR 筛选差异表达的 mRNA。采用 catRAPID 工具预测 circRNA STT3B 与 BACH1 的相互作用位点;通过 RNA 下拉实验(RNA pull-down)进行体外转录生物素标记 circRNA STT3B 探针,与 HaCaT 细胞裂解液共同孵育,采用链霉亲和素磁珠沉淀,蛋白免疫印迹(Western blot)检测结合蛋白,验证二者体外相互结合。

1.3.7　STT3B/BACH1/HO-1 关系的确立

构建 circRNA STT3B 过表达质粒及空载体,与辅助质粒共转染包装慢病毒,筛选获得 circRNA STT3B 过表达细胞株。在此基础上,利用特异性 siRNA 下调该细胞中的 BACH1 表达,并通过 RT-qPCR 检测 *HO*-1 基因的转录水平。将细胞分为对照(Control)组、circRNA STT3B 过表达(circRNA STT3B^{OE})组和 circRNA STT3B 过表达+下调 BACH1(CircRNA STT3B^{OE} + siBACH1)组。

1.3.8　糖尿病小鼠创面模型建立

BALB/c 裸鼠腹腔注射 1% 的链脲佐菌素(150 mg/kg),以血糖≥16.7 mmol/L 并出现多饮、多食、多尿"三多"症状作为糖尿病模型造模成功标准;采用戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉后,于背部脊柱两侧制备 1 cm×1 cm 全层皮肤缺损创面。将造模成功小鼠随机分为 4 组:PBS 组、HaCaT+Exos 组、HaCaT+circRNA STT3B 过表达(HaCaT+circRNA STT3B^{OE})组、HaCaT+circRNA STT3B 敲低(HaCaT+circRNA STT3B^{KD})组,皮内注射各组细胞悬液至创面四周,予以无菌敷料覆盖,常规饲养 14 d。术后第 0、7、14 天(post-operative day,POD,POD0、POD7、POD14)拍照记录创面,采用 ImageJ 1.54f 软件测量创面面积;术后第 14 天处死小鼠,取创面皮肤组织进行 HE 染色,观察组织形态学变化。

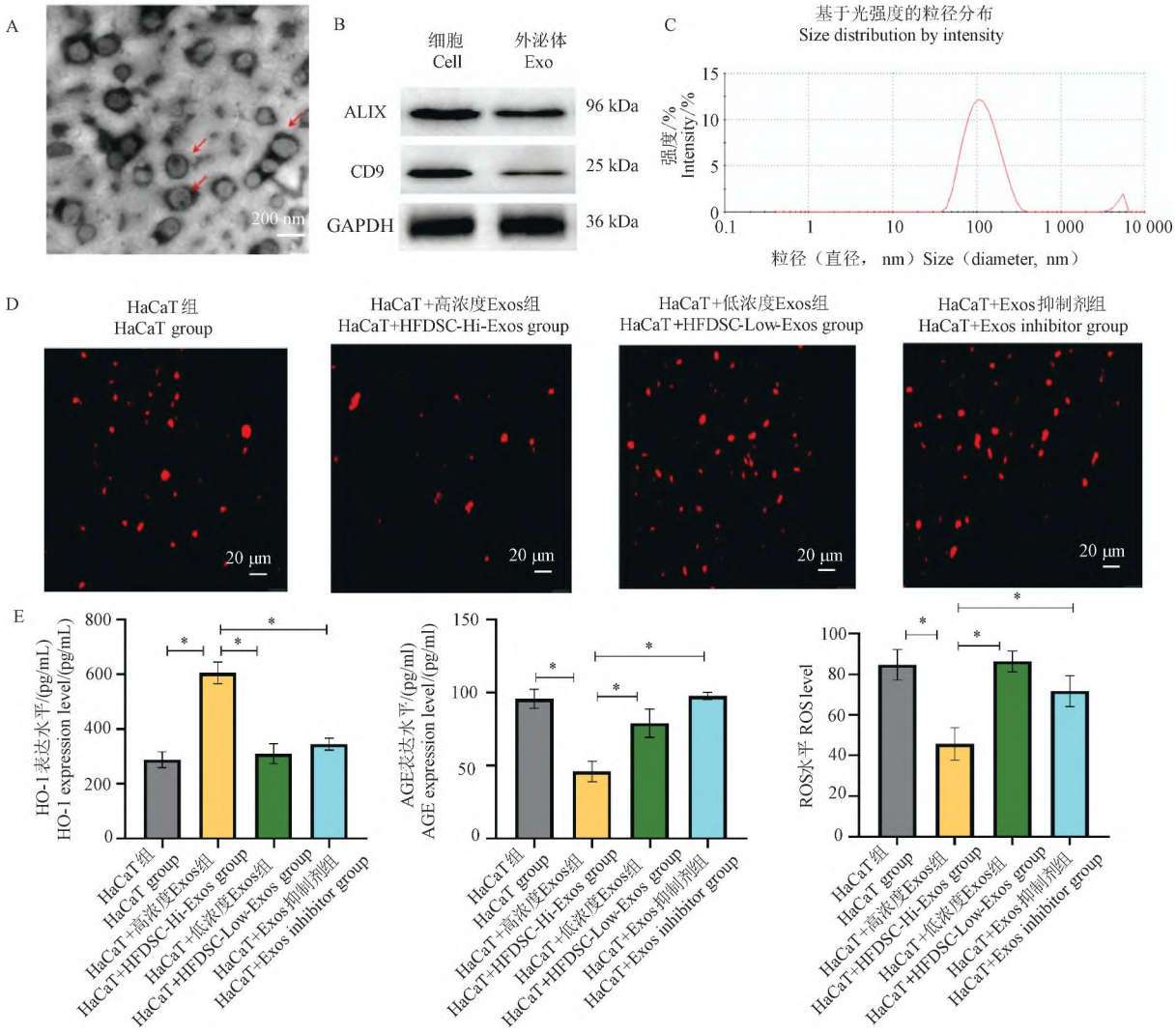
1.4　统计学方法

数据采用 SPSS 26.0 及 GraphPad Prism 9.5.0 软件分析,数据以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组比较用 t 检验,多组比较用单因素方差分析(One-way ANOVA),$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　HFDSC-Exos 减轻 HaCaT 氧化应激反应

透射电镜下可见外泌体呈一侧凹陷的半球形茶托样结构;Western blot 检测到外泌体标志物 CD9、ALIX 的表达;纳米颗粒跟踪分析仪显示外泌体平均直径为 118.4 nm,上述结果证实 HFDSC-Exos 提取成功(图 1A~1C);高糖条件下,HaCaT+高浓度 Exos 组细胞内 ROS 水平降低、AGE 含量减少、HO-1 蛋白表达升高(图 1D、1E,$P<0.05$)。



注：A：通过透射电子显微镜观察到的外泌体形态学特征（40 000×），红色箭头标示典型的外泌体形态；B：Western blot 检测外泌体标志物 ALIX、CD9 的表达；C：纳米颗粒追踪分析显示外泌体粒径分布；D：各组 HaCaT 的 ROS 荧光染色情况（200×）；E：各组 HaCaT 中 HO-1、AGE 及 ROS 相对表达水平定量分析。与 HaCaT+高浓度 Exos 组相比，$^{*}P<0.05$。

图 1 HFDSC-Exos 对 HaCaT 氧化应激的影响

Note. A, Morphology of exosomes observed by transmission electron microscopy (40 000×). Red arrows indicate the typical exosome morphology. B, Expression of exosomal markers ALIX, CD9 and negative marker GAPDH detected by Western blot. C, Size distribution of exosomes measured by nanoparticle tracking analysis. D, Fluorescence staining of ROS levels in HaCaT cells of each group (200×). E, Quantitative analysis of HO-1, AGE and ROS relative expression levels in HaCaT cells of each group. Compared with the HaCaT+HFDSC-Hi-Exos group, $^{*}P<0.05$.

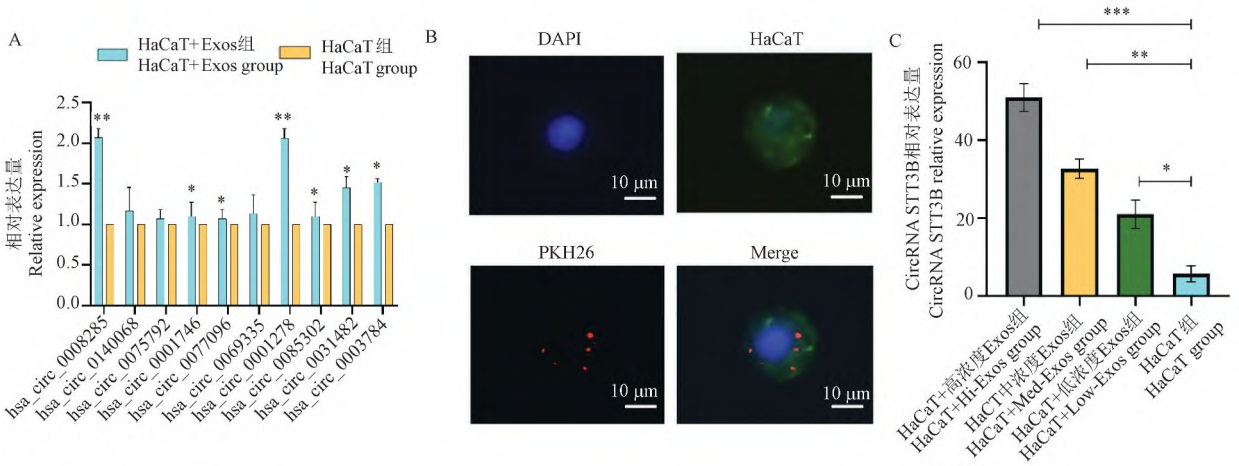
Figure 1 Effects of HFDSC-Exos on oxidative stress in HaCaT cells

2.2 HaCaT 摄取 HFDSC-Exos 并高表达 circRNA STT3B

通过 RNA-seq 筛选表达显著上调的前 10 个 circRNAs，其中 hsa_circ_0001278（circRNA STT3B）和 hsa_circ_0008285 在 HFDSC-Exos 中亦呈较高表达水平（图 2A）。激光扫描共聚焦显微镜观察显示，HaCaT 可有效摄取 PKH26 标记的 HFDSC-Exos（图 2B）。RT-qPCR 检测进一步表明，与 HaCaT 组相比，HaCaT+高浓度 Exos 组中 circRNA STT3B 的表达水平显著升高（图 2C，$P<0.001$）。

2.3 CircRNA STT3B 呈环状结构稳定存在于 HaCaT 细胞质

如图 3 所示，通过 Sanger 测序鉴定 circRNA STT3B 的环化位点，证实该分子发生环化，图 3A

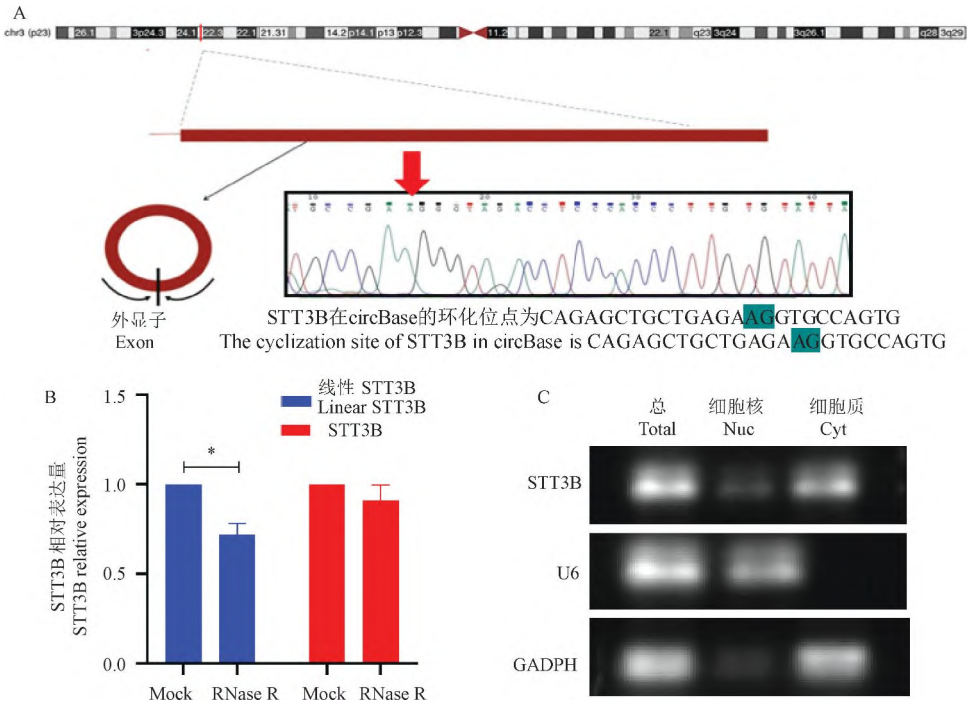


注：A：RNA-Seq 筛选 HaCaT 与 HFDSC-Exos 共培养后差异表达的 circRNAs；B：激光扫描共聚焦显微镜检测 HaCaT 对 PKH26 标记 HFDSC-Exos 的摄取情况（200×）；C：RT-qPCR 验证各组 circRNA STT3B 表达水平。与 HaCaT 组比，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$。

图 2　HaCaT 摄取 HFDSC-Exos 并高表达 circRNA STT3B

Note. A, RNA-Seq screening of differentially expressed circRNAs in HaCaT cells after co-culture with HFDSC-Exos. B, Laser scanning confocal microscopy detection of HaCaT cell uptake of PKH26-labeled HFDSC-Exos (200×). C, RT-qPCR validation of circRNA STT3B expression levels in each group. Compared with the HaCaT group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$.

Figure 2　HaCaT internalizes HFDSC-Exos with high circRNA STT3B expression



注：A：Sanger 测序鉴定 circRNA STT3B 的环化位点；B：RT-qPCR 检测 RNase R 处理前后线性 STT3B 与 circRNA STT3B 的相对表达量；C：琼脂糖凝胶电泳检测 circRNA STT3B 在细胞核（Nuc）和细胞质（Cyt）中的分布。与 Mock 相比，$^{*}P<0.05$。

图 3　CircRNA STT3B 的环状结构验证及亚细胞定位

Note. A, Identification of the cyclization site of circRNA STT3B by Sanger sequencing. B, RT-qPCR detection of relative expression levels of linear STT3B and circRNA STT3B before and after RNase R treatment. C, Agarose gel electrophoresis analysis of circRNA STT3B distribution in nuclear (Nuc) and cytoplasmic (Cyt) fractions. Compared with the Mock, $^{*}P<0.05$.

Figure 3　Verification of circular structure and subcellular localization of circRNA STT3B

为外显子 2 环化形成 circRNA STT3B 的模式图；采用核糖核酸外切酶 RNase R 处理细胞，RT-qPCR 检测显示 circRNA STT3B 表达不受影响，线性转录本 linear STT3B 的表达降低，证明 circRNA STT3B 为环状 RNA 分子（图 3B，$P<0.05$）；琼脂糖凝胶电泳结果显示，circRNA STT3B 在细胞质内高表达、细胞核内低表达（图 3C）。

2.4　CircRNA STT3B 结合转录因子 BACH1

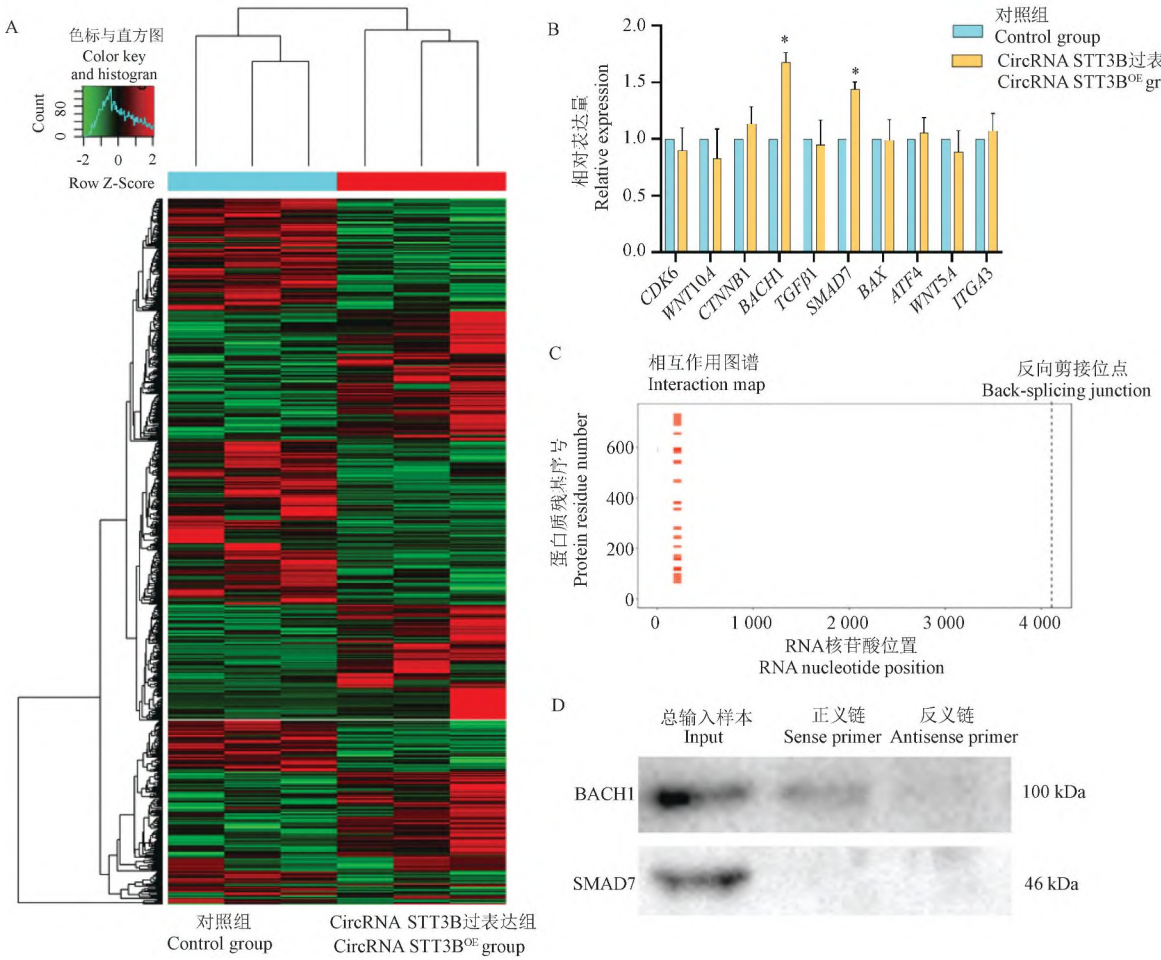
过表达 circRNA STT3B 后，HaCaT 细胞中出现大量差异表达的 mRNAs（图 4A）；RT-qPCR 验证结果显示，*BACH1* 和 *SMAD7* 基因转录水平差异显著（图 4B，$P<0.05$）；circRNA STT3B 与 BACH1 蛋白相互作用预测提示二者存在潜在结合位点（图 4C、4D）。

2.5　CircRNA STT3B 通过 BACH1 保护 HaCaT 氧化应激反应

HaCaT 细胞过表达 circRNA STT3B 后，细胞内 ROS 水平降低（图 5A）；AGE 含量下降，HO-1 表达水平升高（图 5B，$P<0.05$）；下调 BACH1 可逆转 circRNA STT3B 对 HO-1 转录和翻译的调控作用，细胞内 ROS 水平回升（图 5C，$P<0.05$）。

2.6　CircRNA STT3B 促进糖尿病小鼠创面愈合

如图 6、图 7 所示，与 HaCaT+circRNA STT3B 敲低组、HaCaT-Exos 组、PBS 组相比，HaCaT + circRNA STT3B 过表达组糖尿病小鼠伤口愈合速度更快，创面渗出减少，创面收缩明显；HE 染色

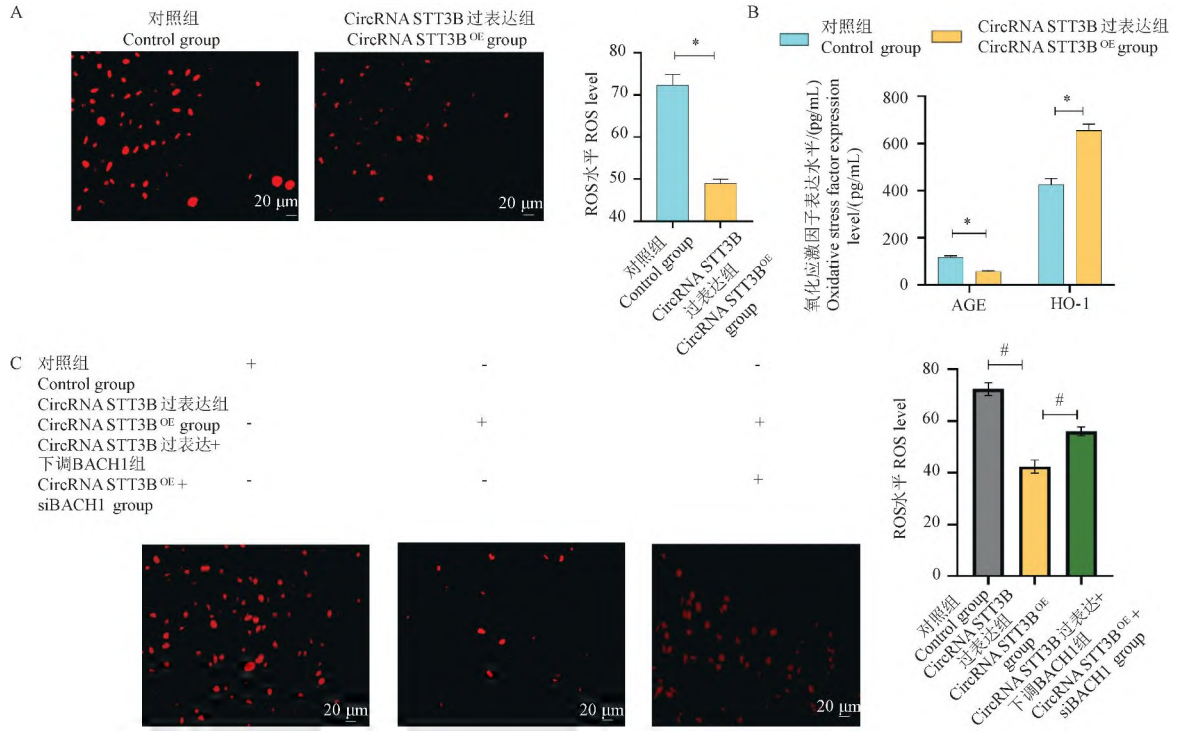


注：A：过表达 circRNA STT3B 后差异表达基因的热图；B：RT-qPCR 验证表达显著上调的基因；C：catRAPID 预测结果；D：RNA pull-down 及 Western blot 实验检测结果。与对照组相比，$^{*}P<0.05$。

图 4　CircRNA STT3B 结合转录因子 BACH1

Note. A, Heatmap of differentially expressed genes after circRNA STT3B overexpression. B, RT-qPCR validation of the top 10 upregulated genes. C, Results of catRAPID prediction. D, Results of RNA pull-down and Western blot assays. Compared with Control group, $^{*}P<0.05$.

Figure 4　CircRNA STT3B interacts with transcription factor BACH1



注：A：各组 HaCaT 细胞 ROS 荧光染色代表图（200×）及荧光强度定量分析；B：ELISA 检测各组细胞 HO-1 和 AGE 的表达水平；C：各组 HaCaT 细胞 ROS 荧光染色代表图（200×）及荧光强度定量分析。与对照组相比，$^{*}P<0.05$；与 circRNA STT3B 过表达组相比，$^{\#}P<0.05$。

图 5　CircRNA STT3B 通过 BACH1 保护 HaCaT 氧化应激反应

Note. A, Representative ROS fluorescence staining images of HaCaT cells in each group (200×) and quantitative analysis of fluorescence intensity. B, Expression levels of HO-1 and AGE in each group were detected by ELISA. C, Representative ROS fluorescence staining images of HaCaT cells in each group (200×) and quantitative analysis of fluorescence intensity. Compared with Control group, $^{*}P<0.05$. Compared with circRNA STT3B^{OE} group, $^{\#}P<0.05$.

Figure 5　CircRNA STT3B protects HaCaT cells against oxidative stress via BACH1

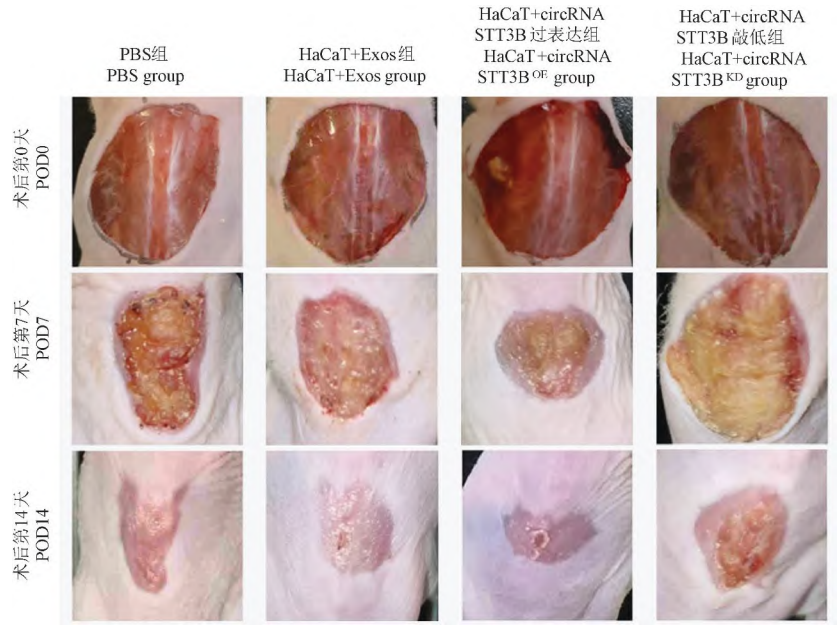
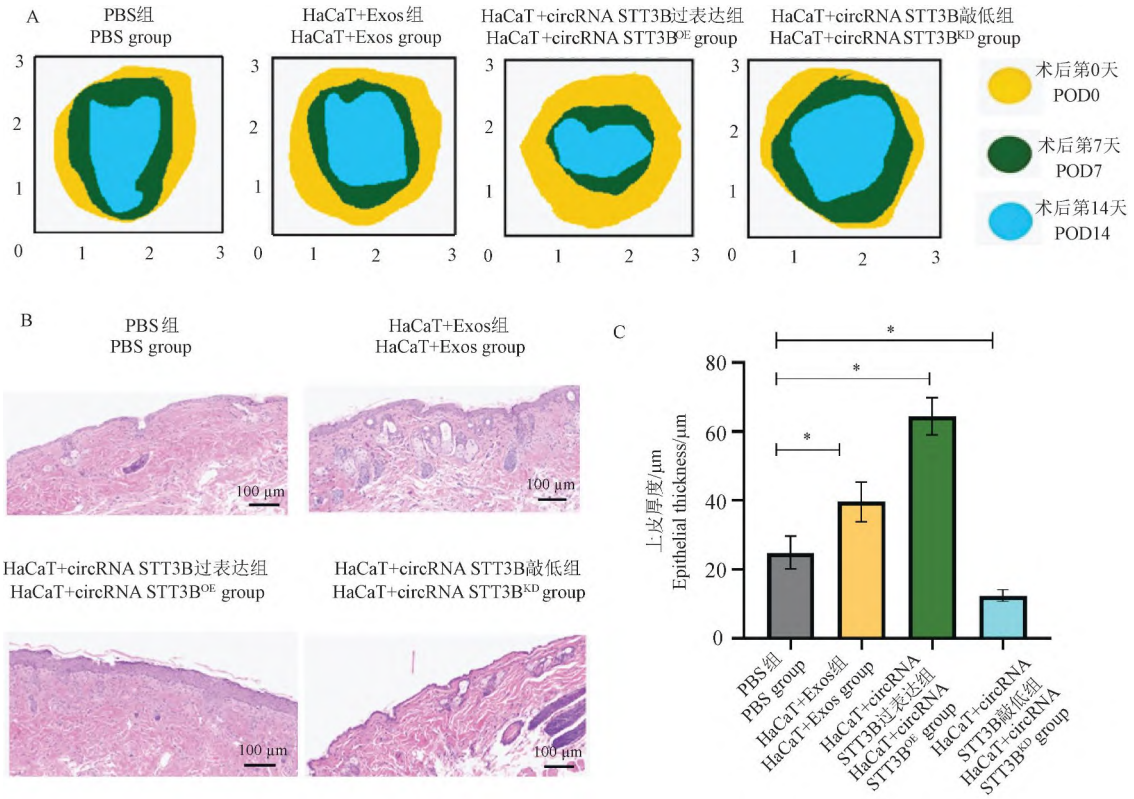


图 6　不同处理组术后第 0、7、14 天的创面代表性图片

Figure 6　Representative images of wounds in different treatment groups on POD0, POD7, and POD14



注:A:热图展示了各组小鼠创面大小随时间的变化情况;B:不同处理组小鼠第 14 天创面 HE 染色结果(100×);C:各组创面上皮化厚度柱状图。与 PBS 组相比,$^{*}P<0.05$。

图 7 CircRNA STT3B 对糖尿病小鼠创面愈合的影响

Note. A, Heatmap showing changes in wound size over time in each group. B, HE staining results of wound tissues from different treatment groups on day 14(100×). C, Quantitative analysis of re-epithelialization thickness in each group was presented as bar graph. Compared with PBS group, $^{*}P<0.05$.

Figure 7 Effects of circRNA-STT3B on wound healing in diabetic mice

结果显示,HaCaT+circRNA STT3B 过表达组创面上皮层增生修复,棘层增厚,胶原蛋白沉积丰富且排列规整,提示 HaCaT+circRNA STT3B 过表达组可促进糖尿病小鼠创面愈合($P<0.05$)。

3 讨论

皮肤创面一旦形成,机体屏障随即被打破。高血糖可导致创面迁延不愈,这类创面易继发感染,甚至诱发全身性并发症,严重损害患者身体健康与生活质量。因此,如何实现高效、优质的创面修复,已成为临床医学亟待攻克的核心难题之一。

干细胞外泌体是一种细胞外囊泡,内含蛋白质、脂质及 RNA 等物质[11]。作为介导细胞间通讯的重要介质,外泌体被受体细胞摄取后,释放内容物至靶细胞胞质,传递生物学信号,进而调控受体细胞的生理功能[12,13]。近年来,干细胞源性外泌体(stem cell-derived exosomes,SC-Exos)因其资源丰富、生物相容性优异、易于工程化等优点逐步用于治疗研究,被认为是促进糖尿病创面愈合极具潜力的干预手段之一[14]。SC-Exos 继承了干细胞的部分生物学特性;与亲本干细胞相比,还具有成瘤风险低、免疫原性弱等优势[15]。因此,SC-Exos 在糖尿病创面的治疗中具有良好的应用前景。

HFDSC-Exos 作为 SC-Exos 的重要类型,具有皮肤创面修复的再生潜力,既保留了 SC-Exos 组织修复的核心功能,还表现出皮肤修复方面的独特优势[16]。本研究采用高糖诱导 HaCaT 细胞发生糖化损伤,细胞产生氧化应激;在 HFDSC-Exos 的作用下,HaCaT 细胞内 ROS、AGE 水平降低、HO-1 表达上调。基于基因差异筛选结果,本研究

选择差异最明显的 circRNA STT3B 和 hsa_circ_0008285 进行验证。HaCaT 细胞共培养实验结果显示,正常 HaCaT 几乎不表达 circRNA STT3B;而在与 HFDSC-Exos 共培养后,细胞内 circRNA STT3B 表达显著上调,提示 HaCaT 细胞内 circRNA STT3B 由 HFDSC-Exos 传递而来。

CircRNA 可通过充当 miRNA 海绵,在竞争性内源性 RNA(ceRNA)网络中发挥关键作用,于转录和转录后水平广泛参与基因表达调控[17,18];此外,circRNA 还可通过直接调控基因转录[19]、参与蛋白质翻译过程[20]调控细胞生物学功能。本研究通过高通量测序筛选并证实 HaCaT 细胞内 circRNA STT3B 由 HFDSC-Exos 递送;结构鉴定结果显示 circRNA STT3B 定位于 HaCaT 细胞质,且不易被 RNase R 降解,为其发挥稳定调控作用提供了结构基础。

BACH1 是细胞感知氧化还原状态、快速切换抗氧化程序的核心转录“开关”[21]。正常状态下,BACH1 结合于靶基因启动子区域的抗氧化元件,抑制 *HO*-1、*GCLC*、*SLC7A11* 等一系列抗氧化基因的转录,维持细胞内 ROS 处于较低水平[22,23]。本研究发现 circRNA STT3B 结合 HaCaT 细胞胞质中 BACH1 蛋白发生相互作用,进而上调 HO-1 表达,增强细胞抗氧化能力。依据 circRNA 调控蛋白核-质重分布的经典模式[24],本研究推测 circRNA STT3B 与胞质中 BACH1 蛋白结合后,导致 BACH1 入核减少,解除其对 *HO*-1 等抗氧化基因的转录抑制,最终增强细胞抗氧化能力。已有研究证实 BACH1 是调控角质形成细胞抗氧化通路的核心靶点,其可通过核输出与胞质蛋白酶体途径发生降解,解除对下游 *HO*-1 的转录抑制,以激活抗氧化应答[25],这一发现也从靶点调控层面,为本研究中 circRNA STT3B 通过调控 BACH1 发挥生物学效应提供了重要的理论支撑与实验佐证。

本设计研究严格遵循《实验动物管理条例》(2023 修订版),遵守动物实验“3R”“五大自由福利”原则,充分尊重实验动物的权利和福利[26,27]。动物体内实验结果显示,circRNA STT3B 过表达能够显著促进糖尿病小鼠创面愈合;组织学检测可见创面上皮化程度更高,胶原蛋白沉积更丰富,提示 circRNA STT3B 可能通过改善创面局部氧化应激微环境,促进皮肤组织修复。上述结果为糖尿病创面的治疗提供了新的分子靶点,未来有望通过构建 circRNA STT3B 富集的外泌体制剂,开发用于糖尿病创面修复的新型干预策略。

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] 郭光华, 朱峰, 闵定宏, 等. 糖尿病足合并难愈性创面外科治疗全国专家共识(2020 版)[J]. 中华损伤与修复杂志(电子版), 2020, 15(4): 256-263.
Guo G H, Zhu F, Min D H, et al. National expert consensus on surgical treatment of diabetic foot complicated with refractory wounds (2020 version) [J]. Chin J Inj Repair Wound Heal Electron Ed, 2020, 15(4): 256-263.

[3] Monteiro-Soares M, Russell D, Boyko E J, et al. Guidelines on the classification of diabetic foot ulcers (IWGDF 2019) [J]. Diabetes, 2020, 36(S1): e3273.

[4] Liang W, Wu H, Tan L, et al. Porcine pericardial decellularized matrix bilayer patch containing adipose stem cell-derived exosomes for the treatment of diabetic wounds [J]. Mater Today Bio, 2025, 30: 101398.

[5] Xie Y, Ni X, Wan X, et al. KLF5 enhances CXCL12 transcription in adipose-derived stem cells to promote endothelial progenitor cells neovascularization and accelerate diabetic wound healing [J]. Cell Mol Biol Lett, 2025, 30(1): 24.

[6] 林玲玲, 闫广智. 基于自噬途径的脐带间充质干细胞促进糖尿病模型创面愈合的作用机制 [J]. 医学研究与战创伤救治, 2024, 37(5): 472-481.
Lin L L, Yan G Z. Exploring the promotional effect of umbilical cord mesenchymal stem cells on wound healing in a diabetes model based on autophagy pathway [J]. J Med Res Combat Trauma Care, 2024, 37(5): 472-481.

[7] Shi X, Li Y, Kang S, et al. Dual-functional gallium/chitosan/silk/umbilical cord mesenchymal stem cell exosome sponge scaffold for diabetic wound by angiogenesis and antibacteria [J]. Int J Biol Macromol, 2024, 274: 133420.

[8] 赵鹏亮, 曹玉珏, 余斌, 等. 富血小板血浆联合自体超薄皮片移植治疗糖尿病慢性溃疡创面的临床研究 [J]. 感染、炎症、修复, 2025, 26(5): 318-322.
Zhao P L, Cao Y J, Yu B, et al. Clinical study of platelet-rich plasma in skin grafting of chronic ulcers in patients with diabetes [J]. Infect Inflamm Repair, 2025, 26(5): 318-322.

[9] Cheng X, Yu Z, Song Y, et al. Hair follicle bulge-derived

stem cells promote tissue regeneration during skin expansion [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 132: 110805.

[10] Xin Y, Xu P, Wang X, et al. Human foreskin-derived dermal stem/progenitor cell-conditioned medium combined with hyaluronic acid promotes extracellular matrix regeneration in diabetic wounds [J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 49.

[11] Liu W Z, Ma Z J, Kang X W. Current status and outlook of advances in exosome isolation [J]. Anal Bioanal Chem, 2022, 414(24): 7123-7141.

[12] Gurunathan S, Kang M H, Kim J H. A comprehensive review on factors influences biogenesis, functions, therapeutic and clinical implications of exosomes [J]. Int J Nanomedicine, 2021, 16: 1281-1312.

[13] Todorova D, Simoncini S, Lacroix R, et al. Extracellular vesicles in angiogenesis [J]. Circ Res, 2017, 120(10): 1658-1673.

[14] Hu N, Cai Z, Jiang X, et al. Hypoxia-pretreated ADSC-derived exosome-embedded hydrogels promote angiogenesis and accelerate diabetic wound healing [J]. Acta Biomater, 2023, 157: 175-186.

[15] Moghadasi S, Elveny M, Rahman H S, et al. A paradigm shift in cell-free approach: the emerging role of MSCs-derived exosomes in regenerative medicine [J]. J Transl Med, 2021, 19(1): 302.

[16] Sousa P, Lopes B, Sousa A C, et al. Rat hair follicle stem cell-derived exosomes: isolation, characterization and comparative analysis of their *in vitro* wound healing potential [J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(11): 5081.

[17] Ala U. Competing endogenous RNAs, non-coding RNAs and diseases: an intertwined story [J]. Cells, 2020, 9(7): 1574.

[18] Kristensen L S, Andersen M S, Stagsted L V W, et al. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs [J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(11): 675-691.

[19] Li Z, Huang C, Bao C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus [J]. Nat Struct Mol Biol, 2015, 22(3): 256-264.

[20] Legnini I, Di Timoteo G, Rossi F, et al. Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis [J]. Mol Cell, 2017, 66(1): 22-37. e9.

[21] Goretzki B, Khoshouei M, Schröder M, et al. Dual BACH1 regulation by complementary SCF-type E3 ligases [J]. Cell, 2024, 187(26): 7585-7602. e25.

[22] Wang Y, Qiu J, Yan H, et al. The Bach1/HO-1 pathway regulates oxidative stress and contributes to ferroptosis in doxorubicin-induced cardiomyopathy in H9c2 cells and mice [J]. Arch Toxicol, 2024, 98(6): 1781-1794.

[23] Liu L, Matsumoto M, Watanabe-Matsui M, et al. TANK binding kinase 1 promotes BACH1 degradation through both phosphorylation-dependent and-independent mechanisms without relying on heme and FBXO22 [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(8): 4141.

[24] Zhou W Y, Cai Z R, Liu J, et al. Circular RNA: metabolism, functions and interactions with proteins [J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 172.

[25] Casares L, García V, Garrido-Rodríguez M, et al. Cannabidiol induces antioxidant pathways in keratinocytes by targeting BACH1 [J]. Redox Biol, 2020, 28: 101321.

[26] 李会萍, 杨锦淳, 温金银, 等. 国内实验动物福利伦理研究的现状与建议 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(10): 78-87.
Li H P, Yang J C, Wen J Y, et al. Current situation and suggestions for research on laboratory animal welfare and ethics in China [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(10): 78-87.

[27] 尹禹, 王飞. 实验动物福利的哲学探讨 [J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(10): 59-68.
Yin Y, Wang F. Philosophical exploration of laboratory animal welfare [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(10): 59-68.

〔收稿日期〕2026-01-08