

· 论 著 ·

本文亮点:

- (1) 证实频率 15 Hz、强度 0.5 mT、时长 1.0 h/d、连续 2 d 的脉冲电磁场(PEMF)刺激,对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)增殖抑制具有一定的改善作用,为通过非侵入性治疗促进糖尿病创面血管新生提供了参考。
- (2) 结合转录组测序,表明高糖环境通过上调腺瘤性结肠息肉病(APC)蛋白表达抑制 Wnt/ β -连环蛋白通路;而 PEMF 则靶向下调 APC 蛋白表达并激活 Wnt/ β -连环蛋白通路,从而促进 HUVEC 增殖,揭示了该物理疗法的深层分子机制。

Highlights:

- (1) It was demonstrated that pulsed electromagnetic field (PEMF) stimulation with frequency of 15 Hz, intensity of 0.5 mT, and duration of 1.0 h/d for 2 consecutive days achieved certain mitigation of high-glucose-induced proliferation inhibition of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs), offering a therapeutic reference for promoting diabetic wound angiogenesis through non-invasive modalities.
- (2) Transcriptomic sequencing further revealed that a high-glucose environment suppressed the Wnt/ β -catenin pathway by upregulating adenomatous polyposis coli (APC) protein expression; conversely, PEMF targetedly downregulated APC protein expression and activated the Wnt/ β -catenin pathway to promote proliferation of HUVECs, thereby unveiling the underlying molecular mechanisms of this physical therapy.



脉冲电磁场对高糖诱导的 HUVEC 增殖抑制的影响及其机制

曹涛¹ 计鹏² 张增³ 肖丹² 赵明¹ 何文巧³ 陈波³ 陶克³

¹空军军医大学国家分子医学转化中心,细胞生物学教研室,西安 710032;²空军军医大学第一附属医院全军烧伤中心,烧伤与皮肤外科,西安 710032;³温州医科大学附属第一医院创面修复与再生医学中心创面修复科,温州 325015

通信作者:陶克,Email:tao-ke2001@163.com

【摘要】 目的 探讨脉冲电磁场(PEMF)对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)增殖抑制的影响及其机制。**方法** 该研究为成组设计及析因设计实验研究。将 HUVEC 分为常规培养的对照组,接受频率 15 Hz、强度 0.5 mT、时长 0.5 h/d、连续 2 d 的 PEMF 刺激的 PEMF 组,加入终物质的量浓度 30 mmol/L 葡萄糖培养(下称高糖培养)的高糖组,在行高糖培养的同时接受前述参数 PEMF 刺激的高糖+PEMF 组,采用细胞计数试剂盒 8(CCK-8)检测培养 0(即刻)、12、24、48 h 后细胞增殖水平。筛选出 PEMF 最佳刺激时长 1.0 h/d 后,同前取 HUVEC 分组,除 PEMF 刺激时长为 1.0 h/d 外,其余处理同前,采用蛋白质印迹法检测培养 48 h 后各组细胞中 Wnt-3a、 β -连环蛋白的蛋白表达水平,对高糖组与

DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20251216-00523

收稿日期 2025-12-16

引用本文:曹涛,计鹏,张增,等.脉冲电磁场对高糖诱导的 HUVEC 增殖抑制的影响及其机制[J].中华烧伤与创面修复杂志,2026,42(9):1-10. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20251216-00523.

Cao Tao, Ji Peng, Zhang Zeng, et al. Effects of pulsed electromagnetic fields on high-glucose-induced proliferation inhibition of HUVECs and the underlying mechanisms[J]. Chin J Burns Wounds, 2026, 42(9):1-10. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20251216-00523.



高糖+PEMF 组培养 48 h 后的细胞行转录组测序以筛选差异表达显著的差异表达基因(DEG),采用蛋白质印迹法检测培养 48 h 后各组细胞中腺瘤性结肠息肉病(APC)的蛋白表达水平。将 HUVEC 分为高糖组、高糖+PEMF 组及 APC 过表达组,高糖组细胞行高糖培养;高糖+PEMF 组细胞在行高糖培养的同时接受频率 15 Hz、强度 0.5 mT、时长 1.0 h/d、连续 2 d 的 PEMF 刺激;将 APC 过表达组细胞采用质粒转染法构建为过表达 APC 基因的细胞后,同高糖+PEMF 组处理。采用 CCK-8 法检测培养 0(即刻)、12、24、48 h 后细胞增殖水平,采用蛋白质印迹法检测培养 48 h 后 APC、 β -连环蛋白、Wnt-3a 的蛋白表达水平。实验样本数均为 3。 **结果** 培养 24、36、48 h 后,高糖组细胞增殖水平均较对照组显著下降($P<0.05$);培养 36、48 h 后,高糖+PEMF 组细胞增殖水平均较高糖组显著升高($P<0.05$)。培养 48 h 后,高糖组细胞中 Wnt-3a、 β -连环蛋白的蛋白表达水平均显著低于对照组和高糖+PEMF 组($P<0.05$)。转录组测序显示,培养 48 h 后,与高糖组比较,高糖+PEMF 组细胞中有 573 个差异表达显著的 DEG,其中 Wnt 通路的关键调节蛋白 APC 的基因表达显著下调。培养 48 h 后,高糖组细胞中 APC 蛋白表达水平显著高于对照组和高糖+PEMF 组(P 值均 <0.05)。培养 36、48 h 后,高糖+PEMF 组细胞增殖水平分别为 0.479 ± 0.016 、 0.552 ± 0.029 ,显著高于高糖组的 0.363 ± 0.019 、 0.437 ± 0.010 和 APC 过表达组的 0.358 ± 0.005 、 0.439 ± 0.020 (P 值均 <0.05)。培养 48 h 后,高糖+PEMF 组细胞中 APC 蛋白表达水平显著低于高糖组与 APC 过表达组(P 值均 <0.05),高糖+PEMF 组细胞中 Wnt-3a、 β -连环蛋白的蛋白表达水平均显著高于高糖组与 APC 过表达组($P<0.05$)。 **结论** 采用频率 15 Hz、强度 0.5 mT、时长 1.0 h/d、连续 2 d 的 PEMF 刺激,可减轻高糖对 HUVEC 增殖的抑制作用,其机制与 PEMF 降低细胞中 APC 蛋白表达,进而减弱其对 Wnt/ β -连环蛋白通路的抑制,调节 Wnt-3a 和 β -连环蛋白的表达有关。

【关键词】 糖尿病; 人脐静脉内皮细胞; 细胞增殖; 脉冲电磁场; 腺瘤性结肠息肉病蛋白; Wnt/ β -连环蛋白通路

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82272269)

Effects of pulsed electromagnetic fields on high-glucose-induced proliferation inhibition of HUVECs and the underlying mechanisms

Cao Tao¹, Ji Peng², Zhang Zeng³, Xiao Dan², Zhao Ming¹, He Wenqiao³, Chen Bo³, Tao Ke³

¹Department of Cell Biology, National Translational Science Center for Molecular Medicine, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China; ²Department of Burns and Cutaneous Surgery, PLA Burn Center, the First Affiliated Hospital, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China; ³Department of Wound Repair, Center for Wound Repair and Regenerative Medicine, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325015, China

Corresponding author: Tao Ke, Email: tao-ke2001@163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of pulsed electromagnetic fields (PEMFs) on high-glucose (HG)-induced proliferation inhibition of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) and the underlying mechanisms. **Methods** This study was an experimental research involving grouping design and factorial design. HUVECs were divided into control group with conventional culture, PEMF group exposed to PEMF stimulation with frequency of 15 Hz, intensity of 0.5 mT, and duration of 0.5 h/d for 2 consecutive days, HG group cultured with final molarity of 30 mmol/L glucose (hereinafter referred to as HG culture), and HG+PEMF group received the aforementioned PEMF stimulation while under HG culture. The cell proliferation levels were detected using cell counting kit-8 (CCK-8) at 0 (immediately), 12, 24, and 48 h after culture. After the optimal PEMF stimulation duration 1.0 h/d was screened, HUVECs were collected and grouped as before. Except for the PEMF stimulation duration of 1.0 h/d, all other treatments remained the same. Western blotting was employed to detect the protein expression levels of Wnt-3a and β -catenin of cells in each group at 48 h after culture, transcriptomic sequencing was performed on cells in HG and HG+PEMF groups at 48 h after culture to screen for differentially expressed genes (DEGs) with significant differential expression, and Western blotting was used to detect the protein expression level of adenomatous polyposis coli (APC) of cells in each group at 48 h after culture. HUVECs were divided into HG group, HG+PEMF group, and APC overexpression group. The HG group cells received HG culture; the HG+PEMF group cells received PEMF stimulation with frequency of 15 Hz, intensity of 0.5 mT, and duration of 1.0 h/d for 2 consecutive days while under HG culture; the APC overexpression group cells were constructed into APC gene overexpression cells using plasmid transfection, followed by the same treatment as in HG+PEMF group. Cell proliferation levels were

detected by CCK-8 at 0(immediately), 12, 24, and 48 h after culture, and protein expression levels of APC, β -catenin, and Wnt-3a were detected by Western blotting at 48 h after culture. The sample size for the experiments was three. **Results** At 24, 36, and 48 h after culture, the cell proliferation levels in HG group were significantly lower than those in control group ($P<0.05$). At 36 and 48 h after culture, the cell proliferation levels in HG+PEMF group were significantly increased compared with those in HG group ($P<0.05$). At 48 h after culture, the protein expression levels of Wnt-3a and β -catenin in HG group were significantly lower than those in control group and HG+PEMF group ($P<0.05$). Transcriptomic sequencing showed that compared with those in HG group, there were 573 DEGs with significant differential expression in HG+PEMF group of cells, among which the gene expression of the key regulatory protein of the Wnt pathway, APC, was significantly downregulated. At 48 h after culture, the protein expression level of APC in HG group of cells was significantly higher than that in control group and HG+PEMF group (with P values both <0.05). At 36 and 48 h after culture, the proliferation levels of cells in HG+PEMF group were 0.479 ± 0.016 and 0.552 ± 0.029 , respectively, which were significantly higher than 0.363 ± 0.019 and 0.437 ± 0.010 in HG group and 0.358 ± 0.005 and 0.439 ± 0.020 in APC overexpression group (with P values all <0.05). At 48 h after culture, the protein expression level of APC in HG+PEMF group of cells was significantly lower than that in HG group and APC overexpression group (with P values both <0.05), and the protein expression levels of Wnt-3a and β -catenin were significantly higher than those in HG group and APC overexpression group ($P<0.05$). **Conclusions** PEMF stimulation with frequency of 15 Hz, intensity of 0.5 mT, and duration of 1.0 h/d for 2 consecutive days alleviates the inhibitory effect of HG on HUVEC proliferation. The mechanism involves the downregulation of APC protein expression by PEMF, which alleviates the suppression of the Wnt/ β -catenin pathway and subsequently modulates Wnt-3a and β -catenin expressions.

【 Key words 】 Diabetes mellitus; Human umbilical vein endothelial cells; Cell proliferation; Pulsed electromagnetic fields; Adenomatous polyposis coli protein; Wnt/ β -catenin pathway

Fund program: General Program of National Natural Science Foundation of China (82272269)

2024 年全球 20~79 岁糖尿病患者达 5.89 亿,预计到 2050 年,该数字将攀升至 8.53 亿^[1],可见,糖尿病已成为威胁人类生命健康的重大疾病^[2]。糖尿病足溃疡是糖尿病最严重的并发症,其致残、致死率高,治疗困难^[3-5]。糖尿病创面难愈的关键因素之一在于创面血管病变,包括高糖、高炎症状态所致的小血管病变,加之创基、创周无法形成有效的新生血管,从而不断加剧创面局部的缺血缺氧状态^[6-7]。因此,促进糖尿病创面局部有效微循环的建立是治疗该类创面的关键策略之一^[8]。

脉冲电磁场(pulsed electromagnetic field, PEMF)疗法是一种安全无创、价格低廉且使用便捷的物理方法,它利用低能量且非电离的电磁场对生理及病理状态下的细胞进行调节,改善细胞的功能状态^[9-11]。研究表明,在心肌梗死大鼠模型中,特定参数的 PEMF 可以有效调节血管生成,包括加快血管生长速度及增加毛细血管密度^[12-13]。因此,PEMF 被广泛用于各类缺血性疾病,包括心肌缺血、脑缺血、组织损伤及糖尿病相关周围血管疾病等的治疗中^[14-16]。无论是在糖尿病创面临床治疗中,还是在糖尿病后肢缺血大鼠模型中,PEMF 均可以改善局部微循环状态,减轻损伤^[17-18],但其具体机制暂不明

确,可能与 PEMF 调节血管内皮细胞功能状态相关。本课题组应用前期探索出的频率 15 Hz、强度 0.5 mT、作用时间 0.5 h/d、连续 2 d 的 PEMF,改善了兔股骨缺损模型中股骨的成骨状态^[19]。本研究进一步探讨 PEMF 对高糖刺激的內皮细胞增殖抑制的影响及其机制,同时探索 PEMF 的最佳刺激参数,为临床应用 PEMF 治疗糖尿病创面提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞及主要试剂与仪器来源

人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)系购自武汉普诺赛生命科技有限公司,DMEM 培养基、青霉素与链霉素双抗、胰蛋白酶、胎牛血清购自美国 Gibco 公司,增强型细胞裂解液、化学发光检测试剂盒、二喹啉甲酸蛋白定量测定试剂盒、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔 IgG 多克隆抗体、HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 多克隆抗体、细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)购自上海碧云天生物技术有限公司,细胞凋亡试剂盒购自江苏凯基生物技术股份有限公司, Lipofectamine 2000 转染试剂盒购自美国 Thermo Scientific 公司,腺瘤性结肠

息肉病(adenomatous polyposis coli, APC)基因过表达质粒购自北京擎科生物科技股份有限公司,兔抗人 Wnt-3a 单克隆抗体、兔抗人 β -连环蛋白单克隆抗体购自武汉赛维尔生物科技有限公司,兔抗人 APC 单克隆抗体、小鼠抗人 β -肌动蛋白单克隆抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司。

PEMF 发生仪由空军军医大学医学生物工程系罗二平教授团队自制,ChemiDoc Imaging System 型凝胶成像仪购自美国 Bio-Rad 公司, FACS Aria III 型流式细胞仪购自美国 Becton Dickinson 公司, Infinite M200 Pro 型全波长多功能酶标仪购自瑞士 TECAN 公司, Axiovert 40 型倒置相差显微镜购自德国 ZEISS 公司, HiSeq 6000 型二代测序仪购自美国 Illumina 公司。

1.2 细胞培养与传代

取 HUVEC, 加入含体积分数 10% 胎牛血清和常规浓度青霉素与链霉素双抗的 DMEM 培养基(即完全培养基), 置于 37 °C、含体积分数 5% 二氧化碳、饱和湿度的培养箱中培养(即常规培养), 每 3 天传代 1 次。使用第 3~8 代细胞进行后续研究, 细胞密度均为每孔 2×10^5 个, 样本数均为 3。

1.3 PEMF 刺激对高糖培养的 HUVEC 增殖和凋亡的影响

该部分细胞均分为对照组、PEMF 组、高糖组及高糖+PEMF 组, 对照组细胞进行常规培养, PEMF 组细胞接受频率 15 Hz、强度 0.5 mT、时长 0.5 h/d、连续 2 d(分别于培养 12、36 h 后开始刺激, 刺激开始时间后同)的 PEMF 刺激^[19], 高糖组细胞在加入终物质的量浓度 30 mmol/L 葡萄糖的完全培养基中培养(后称高糖培养), 高糖+PEMF 组细胞在行高糖培养的同时接受 PEMF 组参数 PEMF 刺激。

1.3.1 细胞增殖水平检测 分别于培养 0(即刻)、12、24、36、48 h 后, 按照 CCK-8 说明书操作, 采用全波长多功能酶标仪检测各组细胞在波长 450 nm 处的吸光度, 以此反映细胞增殖水平。

1.3.2 细胞凋亡率检测 于培养 48 h 后收集各组悬浮及贴壁细胞, 经膜联蛋白 V/碘化丙啶避光染色 15 min 后, 采用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.4 PEMF 最佳刺激时长筛选

将 HUVEC 分为高糖组、PEMF 刺激 0.5 h 组、PEMF 刺激 1.0 h 组、PEMF 刺激 1.5 h 组、PEMF 刺激 2.0 h 组。高糖组细胞行高糖培养, PEMF 刺激 0.5 h 组、PEMF 刺激 1.0 h 组、PEMF 刺激 1.5 h 组、PEMF

刺激 2.0 h 组细胞均在行高糖培养的同时接受频率 15 Hz、强度 0.5 mT、连续 2 d 的 PEMF 刺激, 刺激时长分别为 0.5、1.0、1.5、2.0 h/d。分别于培养 0(即刻)、12、24、36、48 h 后同 **1.3.1** 检测细胞增殖水平。

1.5 PEMF 刺激对高糖培养的 HUVEC 中 Wnt/ β -连环蛋白通路的影响

取 HUVEC 同 **1.3** 分组, 除 PEMF 刺激时长为 1.0 h/d 外, 其余处理同前, 培养 48 h 后提取总蛋白, 采用蛋白质印迹法检测细胞中 Wnt-3a、 β -连环蛋白的蛋白表达水平。一抗分别为兔抗人 β -连环蛋白单克隆抗体、兔抗人 Wnt-3a 单克隆抗体和小鼠抗人 β -肌动蛋白单克隆抗体(稀释比均为 1:1 000), 二抗为 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 多克隆抗体和 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 多克隆抗体(稀释比均为 1:5 000)。采用凝胶成像仪获取图像, 应用 ImageJ 软件(美国国立卫生研究院)分析各蛋白条带的灰度, 以 β -肌动蛋白为内参照, 计算目的蛋白的相对表达水平。

1.6 转录组测序

取 HUVEC 分为高糖组与高糖+PEMF 组, 同 **1.5** 相应组别进行处理, 于培养 48 h 后提取 2 组细胞的总 RNA, 送杭州联川生物技术股份有限公司, 经质检合格后进行转录组文库构建, 利用 Illumina HiSeq 6000 平台进行转录组测序。筛选 2 组细胞间差异表达显著的差异表达基因(differentially expressed gene, DEG), 以 $P < 0.05$ 且 $|\log_2(\text{差异倍数})| \geq 1$ 为筛选标准, 其中 $\log_2(\text{差异倍数}) \geq 1$ 者为上调 DEG, $\log_2(\text{差异倍数}) \leq -1$ 者为下调 DEG。绘制热图对高糖+PEMF 组相较于高糖组显著下调的前 50 个 DEG 进行展示。

1.7 PEMF 刺激对高糖培养的 HUVEC 中 APC 蛋白表达的影响

取 HUVEC 同 **1.5** 行分组处理, 于培养 48 h 后提取总蛋白, 采用蛋白质印迹法检测细胞中 APC 的蛋白表达水平。一抗为兔抗人 APC 单克隆抗体(稀释比为 1:2 000)和小鼠抗人 β -肌动蛋白单克隆抗体(稀释比为 1:1 000), 二抗及后续处理同 **1.5**。

1.8 APC 过表达对高糖培养的 HUVEC 增殖及 Wnt/ β -连环蛋白通路及 APC 蛋白表达的影响

1.8.1 细胞增殖水平检测 取 HUVEC 分为高糖组、高糖+PEMF 组、APC 过表达组, 前 2 组细胞同 **1.5** 相应组别处理; 对于 APC 过表达组细胞, 加入按照 Lipofectamine 2000 转染试剂盒说明书比例混合

的 APC 过表达质粒(正义链序列:5'-TGTCTGCT-GTGTGTGTTCTAAT-3',反义链序列:5'-TGT-CAAAGCCATTCCAGCATATC-3')、Lipofectamine 2000 脂质体与 DMEM 培养基,培养 6 h 后更换为完全培养基,并使用嘌呤霉素筛选,获得过表达 APC 基因的细胞,之后同高糖+PEMF 组处理。分别于培养 0(即刻)、12、24、36、48 h 后同 1.3.1 检测细胞增殖水平。

1.8.2 Wnt/ β -连环蛋白通路及 APC 蛋白表达水平检测 取 HUVEC 同 1.8.1 行分组处理,于培养 48 h 后提取总蛋白,同 1.5 和 1.7 采用蛋白质印迹法检测各组细胞中 Wnt-3a、 β -连环蛋白及 APC 的蛋白表达水平。

1.9 统计学处理

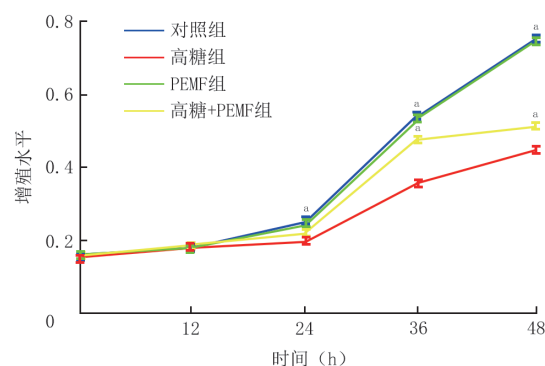
采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。计量资料数据均符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。对分 4 组和分 5 组实验中的组间总体比较以及分 3 组实验中细胞增殖水平的组间总体比较采用析因设计方差分析,对多个时间点多个分组中单一时间点组间总体比较行单因素方差分析;对分 3 组实验中蛋白表达水平组间总体比较采用单因素方差分析。组间两两比较均采用 Tukey 检验。以上检验均为双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PEMF 刺激对 HUVEC 增殖和凋亡的影响

培养 12 h 后,高糖组与对照组细胞增殖水平比较,差异无统计学意义($P = 0.174$);培养 24、36、48 h 后,高糖组细胞增殖水平较对照组显著下降(P 值分别为 0.016、 < 0.001 、 < 0.001)。培养 12、24 h 后,高糖+PEMF 组与高糖组细胞增殖水平比较,差异无统计学意义(P 值分别为 0.059、0.304);培养 36、48 h 后,高糖+PEMF 组细胞增殖水平较高糖组显著升高(P 值均 < 0.001)。培养 12、24、36、48 h 后,PEMF 组与对照组细胞增殖水平比较,差异均无统计学意义(P 值分别为 0.792、0.199、0.687、0.691)。见图 1。

培养 48 h 后,对照组、高糖组、PEMF 组、高糖+PEMF 组细胞凋亡率分别为 $(3.7 \pm 0.4)\%$ 、 $(3.5 \pm 0.7)\%$ 、 $(24.2 \pm 1.2)\%$ 、 $(24.2 \pm 1.3)\%$ (高糖因素主效应, $F = 596.20$, $P < 0.001$;PEMF 刺激因素主效应, $F = 0.33$, $P = 0.572$;两者交互效应, $F = 0.76$, $P = 0.393$)。高糖组细胞凋亡率显著高于对照组($P <$



注:对照组细胞行常规培养,脉冲电磁场(PEMF)组细胞接受频率 15 Hz、强度 0.5 mT、时长 0.5 h/d、连续 2 d 的 PEMF 刺激,高糖组细胞加入终物质的量浓度 30 mmol/L 葡萄糖培养(即高糖培养),高糖+PEMF 组细胞在高糖培养的同时接受前述参数 PEMF 刺激;分组因素主效应, $F = 532.40$, $P < 0.001$;时间因素主效应, $F = 11\ 171.00$, $P < 0.001$;两者交互效应, $F = 162.40$, $P < 0.001$;培养 0(即刻)、12、24、36、48 h 后,4 组间总体比较, F 值分别为 0.73、10.01、5.34、383.80、445.70, P 值分别为 0.562、0.004、0.026、 < 0.001 、 < 0.001 ;与高糖组相比, $^*P < 0.05$

图 1 4 组人脐静脉内皮细胞培养各时间点后增殖水平比较(样本数为 3, $\bar{x} \pm s$)

Figure 1 Comparison of proliferation levels of human umbilical vein endothelial cells in 4 groups at each time point after culture

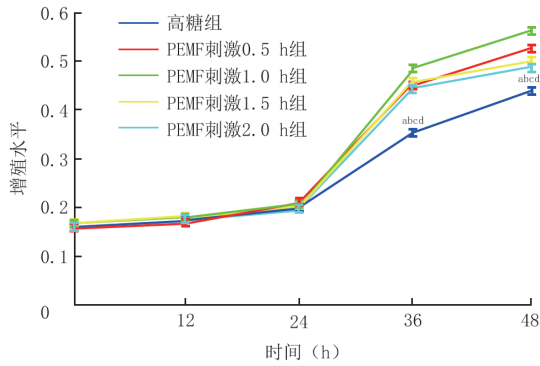
0.001);PEMF 组与对照组、高糖组与高糖+PEMF 组细胞凋亡率相比,差异均无统计学意义(P 值分别为 0.975、0.996)。

2.2 PEMF 最佳刺激时长

培养 36、48 h 后,PEMF 刺激 0.5 h 组、PEMF 刺激 1.0 h 组、PEMF 刺激 1.5 h 组、PEMF 刺激 2.0 h 组细胞增殖水平均较高糖组显著升高($P < 0.001$)。培养 36 h 后,PEMF 刺激 1.0 h 组细胞增殖水平较 PEMF 刺激 0.5 h 组、PEMF 刺激 1.5 h 组、PEMF 刺激 2.0 h 组显著升高(P 值分别为 0.009、0.001、 < 0.001);培养 48 h 后,PEMF 刺激 1.0 h 组细胞增殖水平较 PEMF 刺激 0.5 h 组、PEMF 刺激 1.5 h 组、PEMF 刺激 2.0 h 组显著升高(P 值均 < 0.001)。见图 2。1.0 h/d 为最佳刺激时长。

2.3 PEMF 刺激对高糖培养的 HUVEC 中 Wnt/ β -连环蛋白通路的影响

培养 48 h 后,高糖组细胞中 Wnt-3a、 β -连环蛋白的蛋白表达水平均显著低于对照组($P < 0.001$);高糖+PEMF 组细胞中 Wnt-3a、 β -连环蛋白的蛋白表达水平均显著高于高糖组($P < 0.001$);PEMF 组与对照组细胞中 Wnt-3a、 β -连环蛋白的蛋白表达水平比较,差异无统计学意义(P 值分别为 0.984、0.883)。



注:高糖组细胞加入终物质的量浓度 30 mmol/L 葡萄糖培养(即高糖培养);脉冲电磁场(PEMF)刺激 0.5 h 组、PEMF 刺激 1.0 h 组、PEMF 刺激 1.5 h 组、PEMF 刺激 2.0 h 组细胞均接受频率 15 Hz、强度 0.5 mT、连续 2 d 的 PEMF 刺激,每天刺激时长分别为 0.5、1.0、1.5、2.0 h;分组因素主效应, $F=91.72, P<0.001$;时间因素主效应, $F=5\ 980.00, P<0.001$;两者交互效应, $F=30.97, P<0.001$;培养 0(即刻)、12、24、36、48 h 后,5 组间总体比较, F 值分别为 0.42、0.88、4.86、51.17、107.50, P 值分别为 0.789、0.511、0.680、 <0.001 、 <0.001 ;与 PEMF 刺激 0.5 h 组比较, $^aP<0.05$;与 PEMF 刺激 1.0 h 组比较, $^bP<0.05$;与 PEMF 刺激 1.5 h 组比较, $^cP<0.05$;与 PEMF 刺激 2.0 h 组比较, $^dP<0.05$

图 2 5 组人脐静脉内皮细胞培养各时间点增殖水平比较(样本数为 3, $\bar{x} \pm s$)

Figure 2 Comparison of proliferation levels of human umbilical vein endothelial cells in 5 groups at each time point after culture

见图 3。

2.4 转录组测序

培养 48 h 后,与高糖组比较,高糖+PEMF 组细胞中有 573 个差异表达显著的 DEG,其中,312 个 DEG 显著上调,261 个 DEG 显著下调。显著下调的前 50 个 DEG 见图 4,其中包括 Wnt 通路的关键调节

蛋白 APC,以及周期蛋白依赖性激酶 6、细胞分裂控制蛋白中心体蛋白 55 等有丝分裂相关因子。

2.5 PEMF 刺激对高糖培养的 HUVEC 中 APC 蛋白表达的影响

培养 48 h 后,高糖组细胞中 APC 蛋白表达水平显著高于对照组 ($P<0.001$);高糖+PEMF 组细胞中 APC 蛋白表达水平显著低于高糖组 ($P=0.001$);PEMF 组与对照组细胞中 APC 蛋白表达水平比较,差异无统计学意义 ($P=0.990$)。见图 5。

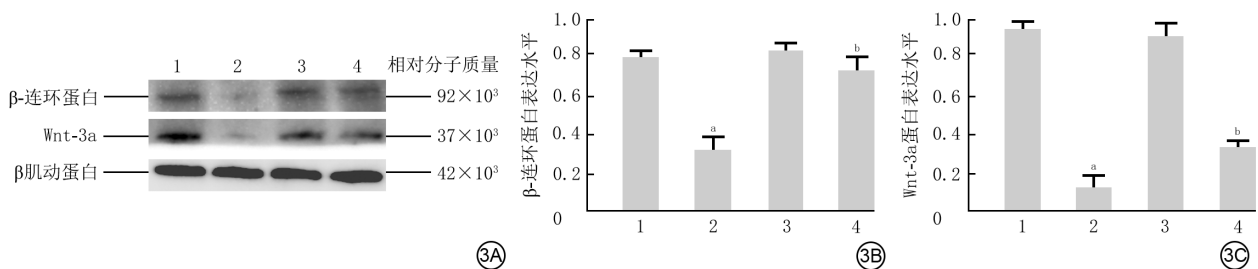
2.6 APC 过表达对高糖培养的 HUVEC 增殖及 Wnt/ β -连环蛋白通路及 APC 蛋白表达的影响

培养 36、48 h 后,高糖+PEMF 组细胞增殖水平均较高糖组显著升高 ($P<0.001$),APC 过表达组细胞增殖水平较高糖+PEMF 组显著降低 (P 值分别为 <0.001 、0.002)。见图 6。

培养 48 h 后,与高糖组相比,高糖+PEMF 组细胞中 Wnt-3a、 β -连环蛋白的蛋白表达水平均显著升高 ($P<0.001$),APC 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.001$);与高糖+PEMF 组相比,APC 过表达组细胞中 Wnt-3a 和 β -连环蛋白的蛋白表达水平均显著降低 ($P<0.001$),APC 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.001$)。见图 7。

3 讨论

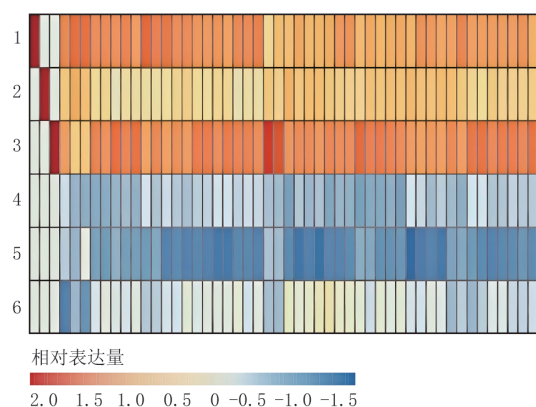
糖尿病创面难愈与血管内皮细胞功能障碍密切相关^[7,20-21]。PEMF 作为一种低频非侵入性物理疗法,在促进组织再生方面展现出独特的优势^[22-23],其关键作用靶点之一即为血管内皮细胞^[24]。作为血管功能的主要调控者的内皮细胞,其增殖活性是血管新生和血管修复的生物学基础。大量研究表明,



注:条带图上方和条图横坐标中 1、2、3、4 均分别指示细胞行常规培养的对照组,细胞加入终物质的量浓度 30 mmol/L 葡萄糖培养(即高糖培养)的高糖组,细胞接受频率 15 Hz、强度 0.5 mT、时长 1.0 h/d、连续 2 d 的脉冲电磁场(PEMF)刺激的 PEMF 组,在行高糖培养的同时接受前述参数 PEMF 刺激的高糖+PEMF 组;Wnt-3a、 β -连环蛋白的高糖因素主效应, F 值分别为 660.30、1 162.00, $P<0.001$;PEMF 刺激因素主效应, F 值分别为 84.58、534.90, $P<0.001$;两者交互效应, F 值分别为 94.30、534.90, $P<0.001$;与对照组相比, $^aP<0.05$,与高糖组相比, $^bP<0.05$

图 3 蛋白质印迹法检测的 4 组人脐静脉内皮细胞培养 48 h 后 β -连环蛋白和 Wnt-3a 的蛋白表达水平。3A. 条带图;3B、3C. 分别为 β -连环蛋白、Wnt-3a 的条图(样本数为 3, $\bar{x} \pm s$)

Figure 3 Protein expression levels of β -catenin and Wnt-3a of human umbilical vein endothelial cells in 4 groups at 48 h after culture detected by Western blotting

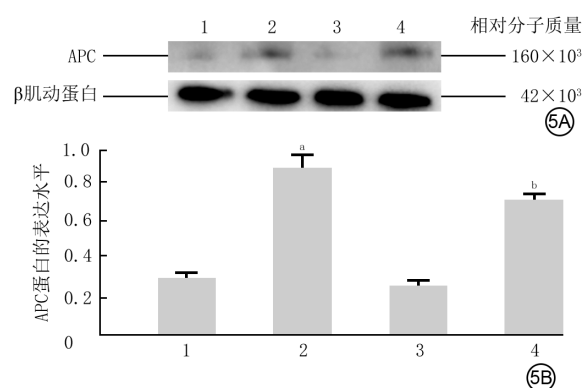


注:1~3为细胞加入终物质的量浓度30 mmol/L葡萄糖培养(即高糖培养)的高糖组,4~6为细胞在行高糖培养的同时接受频率15 Hz、强度0.5 mT、时长1.0 h/d、连续2 d的脉冲电磁场(PEMF)刺激的高糖+PEMF组;基因由左至右依次为长链非编码RNA: ALI39300、AC138696、转录本TMEM189-UBE2V1、二氢叶酸还原酶假基因1、未表征转录本AC009812、REL原癌基因、细胞分裂控制蛋白中心体蛋白55、苏氨酸和酪氨酸激酶、类解旋酶转录因子、包含卷曲螺旋/锚蛋白重复和普列克底物蛋白同源结构域的腺苷二磷酸-核糖基化因子鸟苷三磷酸(GTP)酶激活蛋白2、腺瘤性结肠息肉病、液泡蛋白分选13同源物A、驱动蛋白家族成员15、动质素1、甲硫氨酸腺苷转移酶2A、包含杆状病毒凋亡抑制蛋白重复序列的蛋白6、溶质载体家族38成员2、DEK原癌基因、DNA拓扑异构酶II α 、染色体结构维持蛋白3、结合GTP的Ras同源蛋白酶激活蛋白29、阿片生长因子受体样蛋白1、无义介导的mRNA降解相关磷脂酰肌醇3-激酶相关激酶1、长链限制性非编码RNA 00942、乙醛脱氢酶1家族成员A1、CXC基序趋化因子配体8、周期蛋白依赖性激酶6、热休克蛋白家族D成员1、锌金属肽酶、输入蛋白5、G蛋白亚基 γ 12、包含冷休克结构域的E1、小亚基加工体组分20同源物、组蛋白乙酰转移酶1、着丝粒蛋白E、DEAD盒解旋酶18、热休克蛋白家族A成员9、热休克蛋白90 α 家族A类成员1、白细胞介素6信号转导体、二氢硫辛酰胺脱氢酶、 γ -微管蛋白环状复合物靶向因子、易位相关膜蛋白1、磷酸化酶激酶调节亚基 β 、雷帕霉素不敏感的哺乳动物雷帕霉素靶蛋白伴侣蛋白、甘露糖苷酶 α 2A类成员1、突触结合蛋白结合细胞质RNA相互作用蛋白、蛋白转运蛋白Sec 23同源物A、视黄酸诱导蛋白14、包含跨膜和四三肽重复的蛋白3、基质抗原2

图4 转录组测序得出的高糖+PEMF组人脐静脉内皮细胞培养48 h后相较于高糖组显著下调的前50个差异表达基因热图

Figure 4 Heat map of top 50 significantly down-regulated differentially expressed genes in human umbilical vein endothelial cells in high-glucose+PEMF group compared with those in high-glucose group at 48 h after culture obtained by transcriptomic sequencing

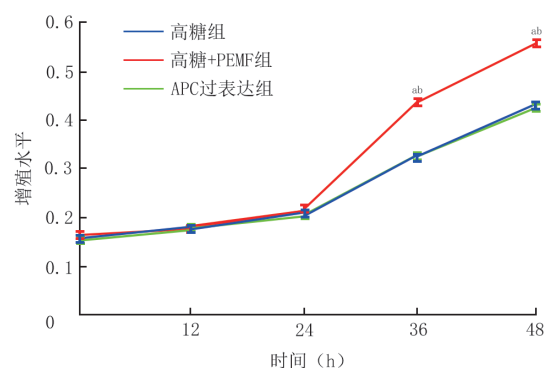
在缺血再灌注损伤、慢性创面及骨缺损等多种病理状态下,适宜参数的PEMF能够通过复杂的信号转



注:APC为腺瘤性结肠息肉病;条带图上方和条图横坐标中1、2、3、4均分别指示细胞行常规培养的对照组,细胞加入终物质的量浓度30 mmol/L葡萄糖培养(即高糖培养)的高糖组,细胞接受频率15 Hz、强度0.5 mT、时长1.0 h/d、连续2 d的脉冲电磁场(PEMF)刺激的PEMF组,细胞在行高糖培养的同时接受前述参数PEMF刺激的高糖+PEMF组;高糖因素主效应, $F=987.50, P<0.001$;PEMF刺激因素主效应, $F=20.97, P=0.002$;两者交互效应, $F=17.30, P=0.003$;与对照组相比, $^aP<0.05$;与高糖组相比, $^bP<0.05$

图5 蛋白质印迹法检测的4组人脐静脉内皮细胞培养48 h后APC蛋白表达水平。5A. 条带图; 5B. 条图(样本数为3, $\bar{x} \pm s$)

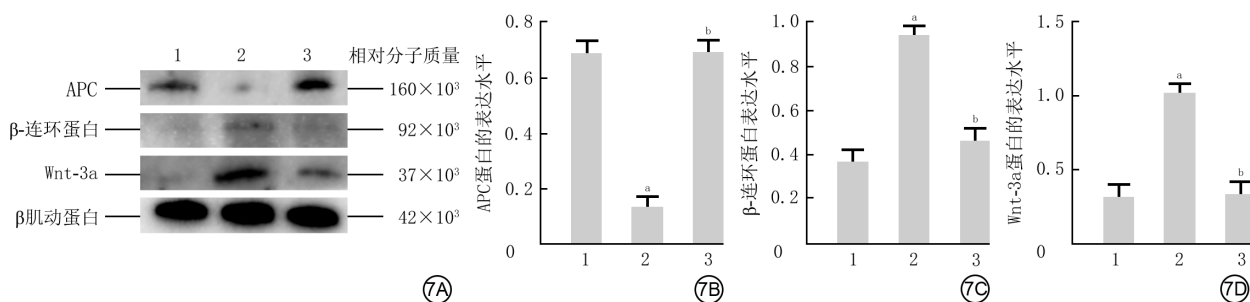
Figure 5 APC protein expression levels of human umbilical vein endothelial cells in 4 groups at 48 h after culture detected by Western blotting



注:高糖组细胞加入终物质的量浓度30 mmol/L葡萄糖培养(即高糖培养);高糖+脉冲电磁场(PEMF)组细胞在行高糖培养的同时接受频率15 Hz、强度0.5 mT、时长1.0 h/d、连续2 d的PEMF刺激;腺瘤性结肠息肉病(APC)过表达组细胞先构建为过表达APC基因的细胞后,在行高糖培养的同时接受前述参数PEMF刺激;分组因素主效应, $F=57.36, P<0.001$;时间因素主效应, $F=999.70, P<0.001$;两者交互效应, $F=22.20, P<0.001$;培养0(即刻)、12、24、36、48 h后,4组间总体比较, F 值分别为0.24、0.10、2.77、63.87、29.02, P 值分别为0.796、0.903、0.141、 <0.001 、 <0.001 ;与高糖组相比, $^aP<0.05$;与APC过表达组相比, $^bP<0.05$

图6 3组人脐静脉内皮细胞培养各时间点增殖水平比较(样本数为3, $\bar{x} \pm s$)

Figure 6 Comparison of proliferation levels of human umbilical vein endothelial cells in three groups at each time point after culture



注:条带图上方和条图横坐标中1、2、3均分别指示细胞加入终物质的量浓度30 mmol/L葡萄糖培养(即高糖培养)的高糖组,细胞在行高糖培养的同时接受频率15 Hz、强度0.5 mT、时长1.0 h/d、连续2 d的脉冲电磁场(PEMF)刺激的高糖+PEMF组,细胞先构建为过表达腺瘤性结肠息肉肉瘤(APC)基因的细胞后在高糖培养的同时接受前述参数PEMF刺激的APC过表达组;3组细胞中APC、Wnt-3a、β-连环蛋白的蛋白表达水平总体比较, F 值分别为1 922.00、131.80、253.30, P 值均 <0.001 ;与高糖组相比,^a $P<0.05$;与高糖+PEMF组相比,^b $P<0.05$

图7 蛋白质印迹法检测的3组人脐静脉内皮细胞培养48 h后APC和Wnt-3a与β-连环蛋白的蛋白表达水平。7A.条带图;7B、7C、7D.分别为APC、Wnt-3a、β-连环蛋白的条图(样本数为3, $\bar{x} \pm s$)

Figure 7 Protein expression levels of APC, Wnt-3a, and β-catenin of human umbilical vein endothelial cells in three groups at 48 h after culture detected by Western blotting

导网络,有效促进内皮细胞增殖,从而加快血管化进程^[25-27],其机制可能涉及细胞周期改变、增殖通路激活、线粒体功能调节、抗氧化应激等多个方面^[11,27]。高糖刺激诱导内皮细胞发生一系列病理性改变,包括线粒体功能障碍、氧化应激增强以及炎症刺激等^[21],是阻碍糖尿病创面血管新生的关键。

本研究采用的PEMF发生仪在通入脉冲电流时,会在内部及中间空间产生特定空间分布的脉冲电磁场^[19],研究中选用15 Hz、0.5 mT的参数,是基于理论和临床的支撑。15 Hz的频率选择是基于物理生物学中的“频率窗口”理论,即特定频率的低频电磁场方能产生生物学负熵效应^[28]。15 Hz是目前临床应用中最经典且研究成熟的频率,已被多款经美国食品药品监督管理局批准用于骨不连治疗的PEMF设备采纳为标准频率^[29]。0.5 mT的强度属弱磁场范畴,可规避热效应干扰;前期本课题组在成骨细胞中证实该强度可显著促进成骨相关蛋白表达^[19],结合“血管-成骨耦合”理论^[30],本课题组推测其也适用于内皮修复。与以往研究(如1.2 mT)相比^[18],该强度更贴近内皮细胞内生的生物电场阈值,在维持高效修复的同时,具有更低的能耗和更佳的生物安全性。

一项研究表明,PEMF会加速HUVEC生成血管,这可能是通过诱导能量代谢重编程和线粒体分裂实现的^[24];另一项关于PEMF用于动脉粥样硬化治疗的研究表明,PEMF能够减少炎症刺激的内皮细胞焦亡,这主要是通过调节膜张力和机械敏感性张力介导的瞬时受体电位辣椒素4通道,改善内皮细胞的线粒体功能障碍实现的^[25]。本研究结果表

明PEMF可以改善高糖对HUVEC增殖活性的抑制,而对其凋亡无明显影响,说明PEMF在糖尿病创面血管新生方面的作用可能是通过提高内皮细胞活性实现的,具体机制可能与改善HUVEC中的增殖相关信号通路密切相关。

本研究观察到PEMF对于常规培养HUVEC的增殖并未产生明显激活作用,但对于高糖刺激下的HUVEC会产生明显的促进增殖作用,这可能与细胞所处的高糖微环境有一定的关系,也提示生物系统对外部物理信号的响应存在阈值效应,且该效应与细胞的初始生理状态密切相关^[31-32]。正常内皮细胞处于促生长信号与抑生长信号精确维持的平衡态,PEMF的微弱电磁感应可能难以打破这种稳态,而高糖暴露导致细胞功能严重受损并脱离这种稳态,在此背景下,PEMF提供的能量耦合信号更易被受损细胞捕获并对细胞进行修复性调节。这种特异性的调节为PEMF在临床中应用的安全性提供了依据,即PEMF能精准作用于病损组织而避免干扰正常组织的生理功能。

除了电磁场的频率与强度外,单次暴露的时长同样是决定PEMF生物学效应的关键变量,且客观存在着“时间窗口”效应。本课题组研究显示,1.0 h/d的PEMF处理能最显著地逆转高糖对HUVEC增殖的抑制,而时间过短(如0.5 h/d)由于物理能量累积不足而疗效欠佳,时间过长(如2.0 h/d)其促增殖效应则出现平台期甚至减退趋势。这一最佳治疗窗口的澄清,不仅进一步支撑了前述内皮细胞对电磁物理信号响应的精密时效阈值,也为后续直接锁定该时间节点的分子响应研究提供了确凿的参数

依据。

Wnt/ β -连环蛋白通路失调是糖尿病创面血管新生受阻的一个关键影响因素^[33]。在生理状态下, Wnt/ β -连环蛋白通路可以通过调控细胞周期蛋白 D1 等靶基因促进内皮细胞增殖, 而且可以通过调控内皮细胞间连接及出芽过程中尖端细胞的形成, 确保新生血管的成熟与稳定^[34]。然而, 在糖尿病创面中, 由于高糖、晚期糖基化终末产物及慢性炎症微环境刺激, Wnt/ β -连环蛋白通路被明显抑制, 从而阻碍有序的血管新生过程, 尤其是内皮细胞增殖过程^[33]。本研究结果显示, 高糖刺激的 HUVEC 中 Wnt/ β -连环蛋白信号通路中的 Wnt-3a 及 β -连环蛋白的表达显著下降, 而 1.0 h/d 时长的 PEMF 刺激后这 2 个蛋白的表达水平明显提升。进一步在分子水平上, 本研究通过转录组学筛选与实验验证, 揭示了 1.0 h/d 时长的 PEMF 通过下调 APC 蛋白表达, 进而解除对 Wnt/ β -连环蛋白通路的抑制, 最终逆转高糖诱导的内皮增殖障碍这一关键生物学过程。APC-Wnt/ β -连环蛋白轴的激活是 PEMF 发挥内皮保护效应的核心环节。经典观点认为, APC 作为 β -连环蛋白降解复合体的核心骨架, 通过维持胞质内 β -连环蛋白的低水平抑制 Wnt 通路活性^[35]。本研究证实, 高糖刺激显著上调了 APC 蛋白的表达, 限制了 Wnt 通路的激活。而 PEMF 的介入下调了 APC 蛋白的表达, 导致降解复合体失稳解体, 使得逃逸泛素化的 β -连环蛋白迅速向核内积聚。核内 β -连环蛋白的增加进一步激活了下游与细胞增殖相关的通路, 从而改善细胞应对高糖刺激时的增殖抑制^[36]。关于物理信号如何转化为对 APC 的抑制, 目前尚无定论, 本课题组推测其可能通过调节 APC 启动子区域的甲基化状态, 或通过电感应离子通道介导的钙信号震荡干扰 APC 蛋白的代谢速率^[37], 然而该推测仍需进一步实验证实。

在研究结果中, 本课题组注意到 PEMF 在显著促进增殖的同时, 对高糖诱导的凋亡改善有限。这种差异可能反映了 PEMF 在当前参数下具有明显的路径选择性: APC-Wnt 信号轴主要调控细胞周期进程, 而非直接干预细胞凋亡相关通路。这表明, 对于存在严重氧化应激损伤的内皮细胞, 单纯依靠 Wnt 通路的激活可能不足以完全抵消凋亡的损伤反应。未来或需通过优化参数或联用抗氧化手段, 以期在“促增殖”与“抗凋亡”2 个维度对糖尿病创面实现协同修复。

本研究的创新点在于将 PEMF 的作用靶点定位于 APC 这一内源性负调控蛋白。与目前利用外源性配体或外泌体调控 Wnt 通路的研究不同, PEMF 侧重于通过物理方式降低胞内负调控子的强度, 这种内生性的调节模式可能具有更高的生物学效率。

综上所述, 本研究证明 PEMF 是一种有效的高糖刺激下的 HUVEC 保护因子, 其通过调节 APC-Wnt/ β -连环蛋白轴改变高糖对细胞增殖的不利影响。尽管本研究尚处于离体细胞阶段, 未能完全模拟糖尿病创面复杂的缺氧及炎症微环境, 但其筛选的 APC 这一关键物理响应靶点, 为后续开发针对糖尿病创面的非侵入性辅助治疗方案提供了坚实的理论支撑。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 曹涛: 实施研究、采集数据、统计分析与论文撰写; 计鹏、张增、肖丹: 实施研究、起草文章、修改文章; 赵明、何文巧、陈波: 实施研究、采集数据; 陶克: 酝酿与设计研究、分析数据、修改文章与获取研究经费

参考文献

- [1] Duncan BB, Magliano DJ, Boyko EJ. IDF Diabetes Atlas 11th edition 2025: global prevalence and projections for 2050[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2025, 41(1): 7-9. DOI: 10.1093/ndt/gfaf177.
- [2] Chen Y, Wang G, Hou Z, et al. Comparative diabetes mellitus burden trends across global, Chinese, US, and Indian populations using GBD 2021 database[J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 11955. DOI: 10.1038/s41598-025-96175-4.
- [3] Armstrong NS, Armstrong AA, Mills JL, et al. Three-year recurrence in people with diabetic foot ulcers and chronic limb threatening ischemia is comparable to cancer[J]. *Int Wound J*, 2025, 22(8): e70724. DOI: 10.1111/iwj.70724.
- [4] Wernecke J, Wernecke M, Ebenau O, et al. Epidemiology and the medical burden of diabetic foot ulcers especially in patients with infection—a population-based analysis from Germany[J]. *Int Wound J*, 2025, 22(4): e70157. DOI: 10.1111/iwj.70157.
- [5] Armstrong DG, Tan TW, Boulton AJM, et al. Diabetic foot ulcers: a review[J]. *JAMA*, 2023, 330(1): 62-75. DOI: 10.1001/jama.2023.10578.
- [6] McDermott K, Fang M, Boulton AJM, et al. Etiology, epidemiology, and disparities in the burden of diabetic foot ulcers[J]. *Diabetes Care*, 2023, 46(1): 209-221. DOI: 10.2337/dci22-0043.
- [7] Mohsin F, Javaid S, Tariq M, et al. Molecular immunological mechanisms of impaired wound healing in diabetic foot ulcers (DFU), current therapeutic strategies and future directions[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 139: 112713. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.112713.
- [8] Jeffcoate W, Boyko EJ, Game F, et al. Causes, prevention, and management of diabetes-related foot ulcers[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2024, 12(7): 472-482. DOI: 10.1016/S2213-8587(24)00110-4.
- [9] Flatscher J, Pavez Lorié E, Mittermayr R, et al. Pulsed electromagnetic fields (PEMF) -physiological response and

- its potential in trauma treatment[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(14):11239. DOI:10.3390/ijms241411239.
- [10] Mayer Y, Shibli JA, Saada HA, et al. Pulsed electromagnetic therapy: literature review and current update[J]. *Braz Dent J*, 2024, 35:e246109. DOI:10.1590/0103-6440202406109.
 - [11] Peng L, Fu C, Wang L, et al. The effect of pulsed electromagnetic fields on angiogenesis[J]. *Bioelectromagnetics*, 2021, 42(3):250-258. DOI:10.1002/bem.22330.
 - [12] Hao CN, Huang JJ, Shi YQ, et al. Pulsed electromagnetic field improves cardiac function in response to myocardial infarction[J]. *Am J Transl Res*, 2014, 6(3):281-290.
 - [13] Peng L, Fu C, Liang Z, et al. Pulsed electromagnetic fields increase angiogenesis and improve cardiac function after myocardial ischemia in mice[J]. *Circ J*, 2020, 84(2): 186-193. DOI:10.1253/circj.CJ-19-0758.
 - [14] Lee JW, Kim JY, Lee NR, et al. Effect of pulsed electromagnetic fields stimulation on ischemic skin model[J]. *Electromagn Biol Med*, 2022, 41(1): 15-24. DOI: 10.1080/15368378.2021.1963763.
 - [15] Li RL, Huang JJ, Shi YQ, et al. Pulsed electromagnetic field improves postnatal neovascularization in response to hindlimb ischemia[J]. *Am J Transl Res*, 2015, 7(3):430-444.
 - [16] Zhang H, Yang Y, Yang E, et al. Pulsed electromagnetic fields protect against brain ischemia by modulating the astrocytic cholinergic anti-inflammatory pathway[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2023, 43(3):1301-1317. DOI:10.1007/s10571-022-01251-2.
 - [17] Pan Y, Dong Y, Hou W, et al. Effects of PEMF on microcirculation and angiogenesis in a model of acute hindlimb ischemia in diabetic rats[J]. *Bioelectromagnetics*, 2013, 34(3):180-188. DOI:10.1002/bem.21755.
 - [18] Kwan RL, Wong WC, Yip SL, et al. Pulsed electromagnetic field therapy promotes healing and microcirculation of chronic diabetic foot ulcers: a pilot study[J]. *Adv Skin Wound Care*, 2015, 28(5): 212-219. DOI: 10.1097/01. ASW. 0000462012. 58911.53.
 - [19] Jing D, Zhai M, Tong S, et al. Pulsed electromagnetic fields promote osteogenesis and osseointegration of porous titanium implants in bone defect repair through a Wnt/ β -catenin signaling-associated mechanism[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 32045. DOI:10.1038/srep32045.
 - [20] 中国老年医学学会烧伤分会, 中华医学会烧伤外科学分会, 中国医师协会创面修复专业委员会. 糖尿病足溃疡合并下肢血管病变的外科诊疗全国专家共识(2024 版)[J]. *中华烧伤与创面修复杂志*, 2024, 40(3): 206-220. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20231122-00202.
 - [21] 陶克, 曹涛, 郝彤. 糖尿病足溃疡血管形成障碍的机制及干预策略[J]. *中华烧伤与创面修复杂志*, 2025, 41(2):120-126. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20241204-00474.
 - [22] Ross CL, Zhou Y, McCall CE, et al. The use of pulsed electromagnetic field to modulate inflammation and improve tissue regeneration: a review[J]. *Bioelectricity*, 2019, 1(4):247-259. DOI:10.1089/bioe.2019.0026.
 - [23] Vinhas A, Almeida AF, Rodrigues MT, et al. Prospects of magnetically based approaches addressing inflammation in tendon tissues[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2023, 196:114815. DOI: 10.1016/j.addr.2023.114815.
 - [24] Yang C, Xu L, Liao F, et al. Pulsed electromagnetic fields regulate metabolic reprogramming and mitochondrial fission in endothelial cells for angiogenesis[J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1):19027. DOI:10.1038/s41598-024-69862-x.
 - [25] Cheng H, Zhang Q, Zhong W, et al. Pulsed electromagnetic fields inhibit atherosclerosis by regulating pyroptosis through membrane tension-mediated mechanosensitive channels[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2025, 10(1): 388. DOI:10.1038/s41392-025-02479-2.
 - [26] Cheng Y, Qu Z, Fu X, et al. Hydroxytyrosol contributes to cell proliferation and inhibits apoptosis in pulsed electromagnetic fields treated human umbilical vein endothelial cells in vitro[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(6): 8826-8832. DOI:10.3892/mmr.2017.7701.
 - [27] Wang Q, Zhou J, Wang X, et al. Coupling induction of osteogenesis and type H vessels by pulsed electromagnetic fields in ovariectomy-induced osteoporosis in mice[J]. *Bone*, 2022, 154:116211. DOI:10.1016/j.bone.2021.116211.
 - [28] Parate D, Franco-Obregón A, Fröhlich J, et al. Enhancement of mesenchymal stem cell chondrogenesis with short-term low intensity pulsed electromagnetic fields[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):9421. DOI:10.1038/s41598-017-09892-w.
 - [29] Granja-Domínguez A, Hochsprung A, Luque-Moreno C, et al. Effects of pulsed electromagnetic field therapy on fatigue, walking performance, depression, and quality of life in adults with multiple sclerosis: a randomized placebo-controlled trial[J]. *Braz J Phys Ther*, 2022, 26(5): 100449. DOI:10.1016/j.bjpt.2022.100449.
 - [30] Li XM, Liu DG, Yang G, et al. Metabolic osteoimmune biodegradable Zn-Mn alloys: high strength-ductility and in situ vascular-osteogenic coupling[J]. *Adv Mater*, 2026, 38(9): e22486. DOI:10.1002/adma.202522486.
 - [31] Massari L, Benazzo F, Falez F, et al. Biophysical stimulation of bone and cartilage: state of the art and future perspectives [J]. *Int Orthop*, 2019, 43(3): 539-551. DOI: 10.1007/s00264-018-4274-3.
 - [32] Wang S, Pei G, Shen J, et al. Pulsed electromagnetic fields treatment ameliorates cardiac function after myocardial infarction in mice and pigs[J]. *J Adv Res*, 2026, 80:1139-1153. DOI:10.1016/j.jare.2025.04.019.
 - [33] Pandey S, Anshu T, Maharana KC, et al. Molecular insights into diabetic wound healing: focus on Wnt/ β -catenin and MAPK/ERK signaling pathways[J]. *Cytokine*, 2025, 191: 156957. DOI: 10.1016/j.cyto.2025.156957.
 - [34] Vallée A, Guillevin R, Vallée JN. Vasculogenesis and angiogenesis initiation under normoxic conditions through Wnt/ β -catenin pathway in gliomas[J]. *Rev Neurosci*, 2018, 29(1):71-91. DOI:10.1515/revneuro-2017-0032.
 - [35] Erazo-Oliveras A, Muñoz-Vega M, Mlih M, et al. Mutant APC reshapes Wnt signaling plasma membrane nanodomains by altering cholesterol levels via oncogenic β -catenin[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):4342. DOI:10.1038/s41467-023-39640-w.
 - [36] Zhang C, Liu XQ, Sun HN, et al. Octreotide attenuates hepatic fibrosis and hepatic stellate cells proliferation and activation by inhibiting Wnt/ β -catenin signaling pathway, c-Myc and cyclin D1[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 63: 183-190. DOI:10.1016/j.intimp.2018.08.005.
 - [37] Chen Y, Braun BJ, Menger MM, et al. Intermittent exposure to a 16 Hz extremely low frequency pulsed electromagnetic field promotes osteogenesis in vitro through activating Piezo 1-induced Ca^{2+} influx in osteoprogenitor cells[J]. *J Funct Biomater*, 2023, 14(3):165. DOI:10.3390/jfb14030165.