

· 临床研究 ·

# 原发性开角型青光眼房水差异表达蛋白分析

刘爱华 王礼明 吕瀛娟 刘伟 李筱荣 东莉洁

天津医科大学眼科医院 天津医科大学眼科研究所 天津医科大学眼视光学院 天津市视网膜功能与疾病重点实验室 300384

刘爱华和王礼明对本文有同等贡献

通信作者:东莉洁,Email:aitaomubang@126.com

**【摘要】** 目的 分析原发性开角型青光眼(POAG)患者房水的蛋白质表达变化,探寻与疾病发生相关的生物学标志及潜在治疗靶点。方法 采用回顾性病例-对照研究设计。纳入 2016 年 10 月至 2017 年 12 月由天津医科大学眼科医院收治的行白内障手术的年龄相关性白内障患者 10 例 10 眼作为年龄相关性白内障组,行青光眼联合白内障手术的 POAG 合并白内障患者 10 例 10 眼作为 POAG 合并白内障组。术中借助手术通道用 1 号针头接 1 ml 针筒进入前房中部吸取约 100  $\mu$ l 房水。通过非标记定量蛋白质组学质谱分析技术分析房水中提取的蛋白,采用 Maxquant significances A 的方法进行差异显著性检验,以  $P < 0.05$ 、差异倍数  $> 2$  的标准筛选得到 2 个组患者的差异蛋白,并将生物大数据通过 GO 功能、KEGG 显著性富集分析对差异蛋白的功能及调控的信号通路加以注解。结果 本次蛋白质组学分析共检测到 97 个差异蛋白,其中包括 48 个上调蛋白和 49 个下调蛋白。GO 分析显著差异蛋白功能涉及诸多方面,其中与炎症反应有关的有脂多糖结合蛋白(LBP)、CD163、C-反应蛋白(CRP)和膜联蛋白 A1(ANXA1);与氧化还原有关的蛋白有谷胱甘肽 S 转移酶 P(GSTP1)和硫氧还原蛋白(TXN);与细胞黏附运动有关:软骨寡聚基质蛋白(COMP)、桥粒胶蛋白(DSC2)和层连蛋白(LAMB2);与纤维化有关的有原胶原蛋白(PLOD1)和固生蛋白(TNC);与神经生长有关:颤蛋白(RELN)、脑信号蛋白(SEMA3F)和轴突导向因子(SEMA4B);与代谢相关的蛋白有丙酮酸激酶(PKM)和羧肽酶 N 亚型 2(CPN2)等。KEGG 分析表明 Nrf2/ERK 信号通路、TGF- $\beta$ /NF- $\kappa$ B 信号通路表达在 2 个组细胞间存在差异。结论 POAG 患者房水中 GSTP1、TXN 表达显著降低,可能通过调控 Nrf2/ERK1/2 及 TGF- $\beta$ /NF- $\kappa$ B 信号通路,调节细胞黏附性和活性以及细胞外基质表达来参与疾病的发展。GSTP1、TXN 可能成为潜在生物学标志及治疗靶点。

**【关键词】** 原发性开角型青光眼;房水;非标记定量蛋白质谱;谷胱甘肽 S 转移酶;硫氧还原蛋白;转化生长因子- $\beta$ ;核转录因子- $\kappa$ B;转录因子 NF-E2 相关因子 2;细胞外调节蛋白激酶

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(81570872);天津市卫计委青年医学新锐人才项目;天津市临床重点学科(专科)建设项目(TJLCZDXKM012);天津市应用基础与前沿技术研究计划项目(15JCYBJC24900);天津市卫生局基金项目(2011KZ103);天津医科大学眼科医院院内基金项目(yk2006-04)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.10.007

## Analysis of different proteins in primary open angle glaucoma based on aqueous proteome

Liu Aihua, Wang Liming, Lyu Yingjuan, Liu Wei, Li Xiaorong, Dong Lijie

Tianjin Key Laboratory of Retinal Functions and Diseases, Tianjin Medical University Eye Hospital, Tianjin Medical University Eye Institute, College of Optometry and Ophthalmology, Tianjin 300384, China

Liu Aihua and Wang Liming are contributed equally to the article.

Corresponding author: Dong Lijie, Email: aitaomubang@126.com

**[Abstract]** **Objective** To analyze the changes of protein expression in aqueous humor of patients with primary open angle glaucoma (POAG), and to explore the biological markers and potential therapeutic targets associated with disease occurrence. **Methods** A retrospective case-control study was adopted. Ten patients with age-related cataract and 10 patients with POAG combined with cataract were collected at the Tianjin Medical University Eye Hospital from October 2016 to December 2017. In the process of surgery, 100  $\mu$ l of aqueous humor were collected with 1 ml syringe and No. 1 needle through the surgical access. Those proteins extracted from aqueous humor were analyzed by quantitative proteomic mass spectrometry. The differential significance test was performed by Maxquant significances A. The differential proteins of the two groups were screened and determined with the conditions of  $P < 0.05$  and difference multiple  $> 2$ . The biological big data was annotated by the function of GO and KEGG. The study was approved by the Ethics Committee of the Tianjin Medical University Eye Hospital (No. 2013KY[L]-10). Patients and their guardians all signed the informed consent. **Results** Ninety-seven differential proteins were

detected in this proteomic analysis, including 48 up-regulated proteins and 49 down-regulated proteins. GO analysis significantly differs in protein function involved in many aspects, some different proteins including lipopolysaccharide-binding protein (LBP), cluster of Differentiation 163 (CD163), C-reactive protein (CRP), annexin A1 (ANXA1) were involved in inflammation; redox-related proteins were glutathione S-transferase P (GSTP1), thioredoxin (TXN), some different proteins related with cell adhesion movement were cartilage oligomeric matrix protein (COMP), desmocollin-2 (DSC2) and laminin subunit beta-2 (LAMB2); procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1 (PLOD1), solid protein (tenascin, TNC) are associated with fibrosis; some different proteins related to nerve growth were reelin (RELN), semaphorin-3F (SEMA3F), semaphorin-4B (SEMA4B). Metabolism-related proteins included pyruvate kinase (PKM), carb oxypeptidase N subunit 2 (CPN2) and so on. KEGG analysis indicated that the expression of Nrf2/ERK signaling pathway and TGF- $\beta$ /NF- $\kappa$ B signaling pathway were different between the two groups. **Conclusions** The expression of GSTP1 and TXN in the aqueous humor of POAG is significantly decreased, which may regulate cell adhesion and activity and expression of extracellular matrix by regulating Nrf2/ERK1/2 and TGF- $\beta$ /NF- $\kappa$ B signaling pathways. GSTP1 and TXN may serve as a potential biomarker and therapeutic target of POAG.

**[Key words]** Primary open angle glaucoma; Aqueous humor; Label free quantitative proteome; Glutathione S-transferase P; Thioredoxin; Transforming growth factor- $\beta$ ; nuclear factor-kappa B; Nuclear factor erythroid 2-related factor 2; extracellular regulated protein kinases

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81570872); Tianjin Municipal Health Planning Commission Young Talents New Talent Project; Tianjin Clinical Key Discipline Project (TJLCZDXKM012); Tianjin Research Program of Application Foundation and Advanced Technology (15JCYBJC24900); Tianjin Health Bureau Fund (2011KZ103); Tianjin Medical University Eye Hospital Fund Project (yk2006-04)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.10.007

原发性开角型青光眼 (primary angle-open glaucoma, POAG) 是一种进行性视神经病变, 引起特征性视神经损害和视野缺损, 最终致盲<sup>[1]</sup>。病理性高眼压是视神经损伤的重要因素。青光眼的发病机制目前尚不清楚, 基因异常、氧化应激、炎症反应、血管因素等在青光眼发病中起关键作用<sup>[2-4]</sup>。降眼压治疗是目前可行的治疗方式<sup>[5]</sup>, 但目前尚无完全有效的治疗方法。房水动态平衡与眼压密切相关, 房水为眼前段组织提供营养, 带走代谢产物, 房水因子改变也反映眼前节组织代谢和病理变化。临床中房水相对易获取, 储存方便, 是青光眼研究较好的样本来源<sup>[6]</sup>。近年来组学技术在生物医学研究领域的应用日趋广泛, 使得生命科学研究获得了强大的数据产出能力<sup>[7-8]</sup>。蛋白质组学技术是探究疾病相关差异蛋白的重要技术, 已应用到多种疾病的研究中。蛋白质组学技术在眼科中也成为差异蛋白筛选的重要工具, 目前, 已应用在青光眼、白内障、角膜病变、黄斑病变和葡萄膜炎等疾病中<sup>[9-11]</sup>。然而, 相关技术及区域性基因差异等各种因素导致差异蛋白不完全相同<sup>[12-15]</sup>。与标记蛋白质谱分析相比, 非标记质谱分析具有不受样本量限制、无需昂贵的同位素标记、检测蛋白范围广等优势<sup>[16-18]</sup>。为此, 本研究中收集天津地区典型的 POAG 联合白内障和年龄相关性白内障手术患者的房水进行非标记蛋白质谱分析, 以期寻找高眼压与非高眼压白内障患者房

水中的差异蛋白, 并进一步分析可能的信号机制, 通过分析差异蛋白及其作用机制为青光眼诊疗提供可行的生物学靶点。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

采用回顾性病例-对照研究设计。纳入 2016 年 10 月至 2017 年 12 月由天津医科大学眼科医院收治的行白内障手术的年龄相关性白内障患者 10 例 10 眼作为年龄相关性白内障组, 行青光眼联合白内障手术的 POAG 合并白内障患者 10 例 10 眼作为 POAG 合并白内障组。年龄相关性白内障组中男 2 例, 女 8 例; 平均年龄 (72.5  $\pm$  8.3) 岁; 视力 0.1 ~ 0.5, 眼压 (15  $\pm$  2) mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa), 前房深, 房角宽, 视野正常。POAG 合并白内障组中男 3 例, 女 7 例; 平均年龄 (69.5  $\pm$  5.9) 岁; 视力 0.1 ~ 0.6, 眼压用药情况下为 (25  $\pm$  3) mmHg, 前房深, 房角开放 (图 1), 中重度中心视野缺损 (MD 为 -8 ~ -15 dB)。

纳入标准: (1) 诊断依据: 白内障诊断标准为皮质与核中度混浊; POAG 诊断按中国原发性青光眼诊断和治疗专家共识 (2014 年) 标准<sup>[19]</sup>。(2) 眼压: 白内障患者眼压为 10 ~ 21 mmHg, POAG 患者眼压用药情况下控制在 21 ~ 30 mmHg。(3) 视野: POAG 患者均有中、重度青光眼视野缺损。白内障患者均无明显视野缺损。(4) 房

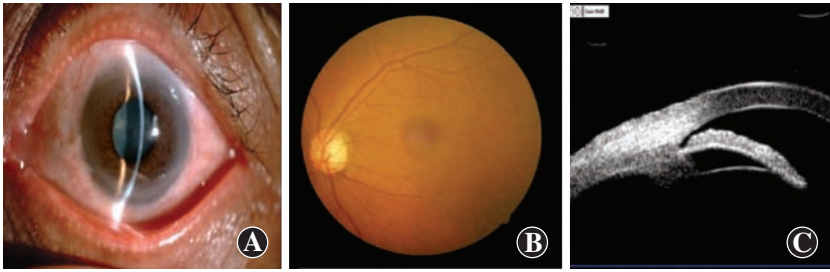


图1 POAG合并白内障组患者基本情况 A:眼前节像 前房深,房角开放 B:眼底像 视神经杯盘比约为0.8 C:超声生物显微镜像 房角开放

角:所有患者均前房深,房角开放。(5)视力:患者视力为0.1~0.6。排除标准:(1)高血压、糖尿病;(2)高度近视等其他眼部疾病;(3)近6个月有眼部手术史;(4)近1个月有眼部感染史。本研究经天津医科大学眼科医院伦理委员会批准[伦审号:2013KY(L)-10]。患者及其监护人均知情同意,并签署知情同意书。

## 1.2 方法

### 1.2.1 术前相关检查

眼科检查包括视力(国际标准视力表)、屈光度、眼压(Goldmann压平眼压计,德国Carl Zeiss公司)、视野(Humphrey750i视野计,德国Carl Zeiss公司)、UBM(型号SW-3200L,天津索维电子技术有限公司)以及双目间接检眼镜检查(德国Keeler公司)。应用前列腺素滴眼液患者,术前2~3d停用前列腺素滴眼液,仅应用盐酸卡替洛尔滴眼液、布林佐胺滴眼液或者溴莫尼定滴眼液,必要时口服尼目克司。

### 1.2.2 样本收集

年龄相关性白内障组采取3.0mm主切口的常规超声乳化白内障摘出联合人工晶状体植入术,POAG联合白内障组行3.0mm主切口的常规超声乳化白内障摘出联合人工晶状体植入联合复合小梁切除术。手术前2:00位前房穿刺,用1号针头接1ml针筒借手术穿刺通道进入前房中部,缓慢抽吸房水50~100 $\mu$ l,至前房变浅时停止,将收集的房水注射入无菌冻存管中置于冰上,快速送于-80 $^{\circ}$ C冰箱保存。

### 1.2.3 房水蛋白质组分析

加入适量裂解缓冲液(7mol/L尿素,2mol/L硫脲,质量分数0.1%CHAPS),涡旋混匀,按照 $V_{\text{裂解液}}:V_{\text{蛋白酶抑制剂}}=50:1$ 的比例,加入蛋白酶抑制剂,超声1s,间隔1s,共10s。14000 $\times$ g离心30min,取上清,分装,留取5 $\mu$ l定量,其余冻入-80 $^{\circ}$ C冰箱保存。

采用Bradford法测定提取的蛋白浓度。将样本用裂解缓冲液进行一定倍数稀释使其终浓度落在标准曲线范围内,稀释好的样本和标准品各取10 $\mu$ l分别和300 $\mu$ l蛋白定量染料避光反应20min,酶标仪测定标准品和样本在波长595nm处吸光度(A)值,根据标准品每管A值和浓度的关系绘制标准曲线,计算样本浓度。

每例样本取5 $\mu$ g行SDS-PAGE电泳,考马斯亮蓝染色30min,脱色直至背景清晰。用手术刀将每块胶切成1mm<sup>3</sup>小块,置于1.5ml eppendorf管;用200 $\mu$ l双蒸水洗2次,每次10min;加考染脱色液脱色15min,双蒸水漂洗3次,直至脱色完全;加ACN 100 $\mu$ l脱水至胶粒变白,真空抽干10min;加10mmol/L DTT(25mmol/L NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>溶解)200 $\mu$ l,

37 $^{\circ}$ C水浴1h,加ACN 100 $\mu$ l脱水至胶粒变白;加55mmol/L IAA(25mmol/L NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>溶解)200 $\mu$ l,置于暗室中30min,加ACN 100 $\mu$ l脱水至胶粒变白;依次用双蒸水、ACN、双蒸水、ACN进行混悬清洗,每次10min;每管加入0.01 $\mu$ g/ $\mu$ l胰蛋白酶工作液(25mmol/L NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>稀释)100 $\mu$ l,稍微离心,让酶液与胶粒充分接触,4 $^{\circ}$ C放置30min。待酶液被胶粒完全吸收,加25mmol/L NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 100 $\mu$ l,37 $^{\circ}$ C过夜;离心收集酶解上清液,置于新eppendorf管,剩余胶粒用抽提缓冲液(质量分数5%TFA、体积分数95%双蒸水)1h,收集酶解上清液,置上一eppendorf管中合并;剩余胶粒再用抽提缓冲液(2.5%TFA、质量分数50%ACN、47.5% ddH<sub>2</sub>O)1h,收集酶解上清液,置于一Eppendorf管中合并;真空冻干上清液,-20 $^{\circ}$ C保存。

将高pH反相分离得到的组份用20 $\mu$ l含体积分数2%甲醇和体积分数0.1%甲酸复溶。12000 $\times$ g离心10min,取上清上样。上样10 $\mu$ l,采取夹心法上样。Loading Pump流速为350 $\mu$ l/min,共15min。分离流速为350 $\mu$ l/min,梯度分离。

使用Uniport、Homo sapiens数据库,由Thermo Q-Exactive型质谱完成,产生的质谱原始文件采用MaxQuant软件处理。

### 1.2.4 鉴定结果的总体分析和差异蛋白筛选

直接提取PD搜索后的结果中的不同label的定量值,去除有0的结果后,得到聚类分析热图。采用Maxquant significances A的方法进行差异显著性检验,以 $P<0.05$ 、差异倍数 $>2$ 的标准筛选得到差异蛋白,采用基因本体(Gene Ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)对差异蛋白进行生物信息学分析(图2)。

## 1.3 统计学方法

采用GraphPad prism 7.0统计学软件。本研究中文量资料经kolmogorov-Smimov检验,符合正态分布,以 $\text{mean}\pm\text{SD}$ 表示。定性资料比较采用 $\chi^2$ 检验,定量资料的比较采用t检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

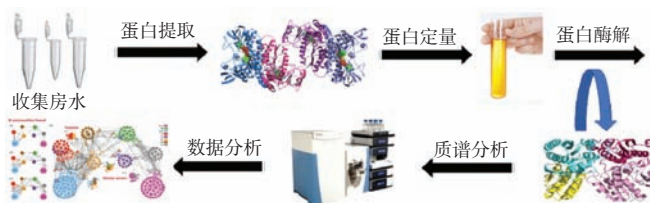


图 2 Label-Free 蛋白质组学分析流程图 提取样本蛋白, 定量分析; 将蛋白裂解后上样进行质谱分析并进行数据的分析整理

## 2 结果

### 2.1 2 个组患者基线资料比较

2 个组患者年龄、性别比较, 差异均无统计学差异 (均  $P < 0.05$ ), POAG 合并白内障组术前眼压及样本蛋白浓度高于年龄相关性白内障组, 差异有统计学意义 ( $P > 0.05$ )。(表 1)。

组别	例数/眼数	性别构成比 (男/女, $n/n$ ) <sup>a</sup>	年龄 (mean± SD, 岁) <sup>b</sup>	蛋白浓度 (mean± SD, $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>b</sup>	术前眼压 (mean± SD, mmHg) <sup>b</sup>
POAG 合并白内障组	10/10	3/7	73.0±2.6	0.15	25±3
年龄相关性白内障组	10/10	2/8	71.4±2.6	0.07	15±2
$\chi^2/t$ 值	1.0				
$P$ 值			0.67	0.07	0.000 1

注: POAG: 原发性开角型青光眼 (1 mmHg=0.133 kPa) (a:  $\chi^2$  检验; b: 独立样本  $t$  检验)

### 2.2 蛋白质组学数据综合分析

根据非标记定量的定量值, 去除有 0 的结果后, 在检测到的 608 个蛋白中差异蛋白占 15.9%, 聚类热图显示 POAG 合并白内障组和年龄相关性白内障组的房水蛋白差异显著且具有可重复性(图 3)。

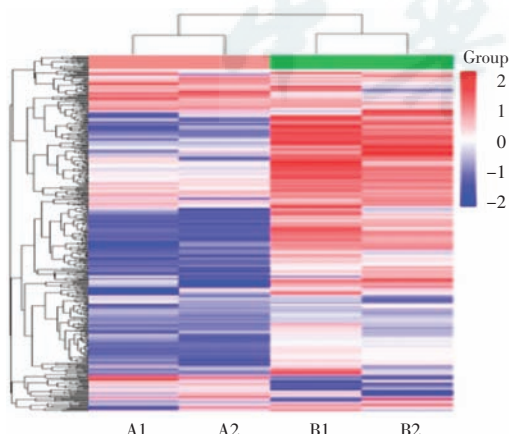


图 3 全局分析聚类热图 POAG 合并白内障组和年龄相关性白内障组差异蛋白显著, 重复性好。A1 和 A2 为年龄相关性白内障组两重复, B1 和 B2 为 POAG 合并白内障组两重复。红色代表上调, 蓝色代表下调, 颜色深浅代表上调或下调幅度

### 2.3 差异蛋白筛选及 GO、KEGG 分析

房水样本中共检测到 608 种蛋白, 与年龄相关性白内障组相比, 在 POAG 合并白内障组中共发现 97 个差异蛋白, 其中 48 个表达上调, 49 个表达下调(表 2)。与炎症反应有关的蛋白包括脂多糖结合蛋白 LBP、CD163、CRP、CPN1、GSTP1 和 ANXA1; 与氧化还原有关的蛋白包括 TXN 和 GSTP1; 与细胞黏附运动有关的蛋白包括 CDH5、COMP、DSC2、EPDR1、HABP2、LAMB2、PLOD1 和固生蛋白(tenascin, TNC); 与神经生长有关的蛋白包括 RELN、SEMA3F 和 SEMA4B; 与代谢相关的蛋白包括 PKM 和 CPN2 等(图 4)。

表 2 A/B 差异表达蛋白

基因名称	Sig(A/B)	比率	$P$ 值
GSTP1	1	104.503 936	0
IGHV2-5	1	12.350 117 3	0
PLOD1	1	7.153 73	0.000 029
SEMA3F	1	6.6115 247 4	0.000 05
CRYBA4	1	4.508 848 95	0.000 555
SELENBP1	1	3.213 434 98	0.003 423
SEMA4B	1	3.157 059 48	0.003 735
ANG	1	2.731 380 15	0.007 402
TDP2	1	2.622 257 01	0.008 891
GDF11	1	2.550 561 95	0.010 048
NTM	1	2.153 396 15	0.020 359
APOB	1	2.053 816 88	0.024 5
SI00A7	1	1.969 487 93	0.028 737
FSTL1	1	1.878 054 79	0.034 26
CDH5	1	1.805 900 62	0.039 443
SERPINB6	1	1.735 216 71	0.045 364
TXN	-1	0.112 802 12	0.045 275
DSC2	-1	0.111 145 19	0.043 893
COMP	-1	0.109 209 58	0.042 295
NID2	-1	0.108 833 92	0.041 988
SI00A4	-1	0.104 430 44	0.038 439
ANXA1	-1	0.089 223 88	0.027 089
LAMB2	-1	0.084 055 38	0.023 59
CD163	-1	0.082 882 59	0.022 823
NID1	-1	0.079 926 05	0.020 939
LECT2	-1	0.073 897 37	0.017 316
CHI3L2	-1	0.073 051 37	0.016 832
MST1	-1	0.049 037 94	0.005 868
TNC	-1	0.045 249 7	0.004 664
COTLI	-1	0.040 728 1	0.003 421
CRP	-1	0.036 894 44	0.002 535
NRP1	-1	0.033 725 14	0.001 915
DSP	-1	0.025 751 17	0.000 789
LBP	-1	0.019 773 62	0.000 311
PROC	-1	0.011 972 97	0.000 044

注: 比率为 POAG 合并白内障组与年龄相关性白内障组蛋白表达量比值



图 4 差异蛋白功能分类 ↑:差异蛋白上调; ↓:差异蛋白下调  
TXN:硫氧还原蛋白;TNC:固生蛋白;PLOD1:原胶原蛋白;GSTP1:谷胱甘肽 S 转移酶 P1

GO 分析主要从细胞组分、分子功能、生物过程 3 个方面进行分析。差异蛋白主要富集于细胞核、细胞骨架区、内质网、细胞外区域、胞膜及囊泡等。所有差异蛋白的细胞功能主要富集在金属离子结合、受体结合、核糖体 RNA 结合、蛋白结合和跨膜转运等;所有差异蛋白的生物学过程主要富集于免疫反应、生长发育、胚胎发育、细胞运动、囊泡介导的转运等过程中(图 5)。

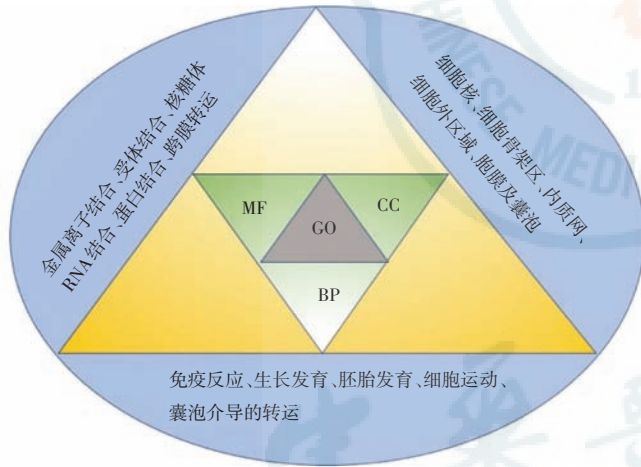


图 5 差异蛋白 GO 富集分析 GO:基因本体;MF:分子功能;CC:细胞组分;BP:生物学功能

KEGG 分析发现细胞信号通路富集在首位的是 IL-17 信号通路、ARVC 信号通路、安沙霉素类抗生素合成、药物代谢、赖氨酸降解等,其他一些信号通路,如 Toll 样受体信号通路、NF-κB 信号通路、转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β) 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、细胞外基质受体信号交流、黏着斑、细胞黏附分子、Wnt 信号通路等与青光眼有关的信号通路(图 6,7)。

### 3 讨论

POAG 表现为隐匿性眼压升高,可以引起患者无

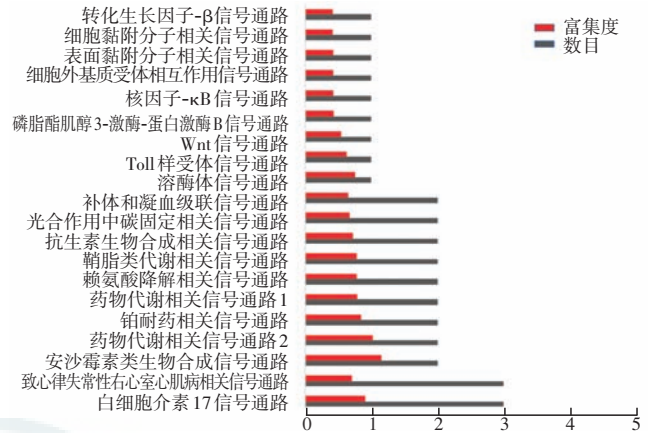


图 6 差异蛋白 KEGG 富集分析 KEGG:京都基因与基因组百科全书

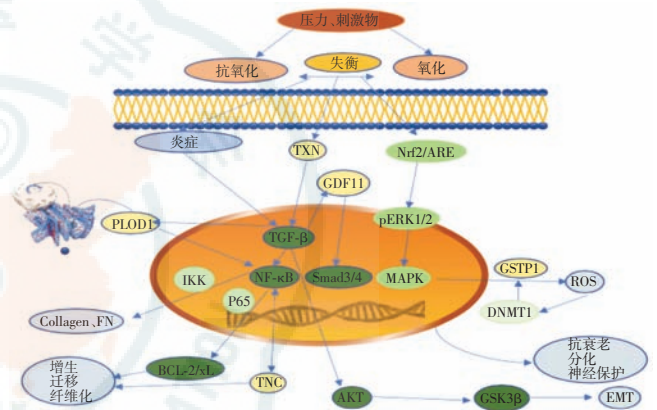


图 7 差异蛋白及信号通路 外界刺激因素引起机体应激反应,氧化及抗氧化水平不平衡,抗氧化因子下降,氧化损伤导致炎症,可能通过 Nr2/ARE/pERK1/2 信号通路导致 ROS 水平增加,或通过 TGF-β、NF-κB 信号通路导致细胞外基质及调节细胞外基质的蛋白含量改变,氧化损伤还会导致神经相关因子改变,上述因素相互作用最终导致青光眼 TXN:硫氧还原蛋白;GSTP1:谷胱甘肽 S 转移酶 P1;TNC:固生蛋白;PLOD1:原胶原蛋白;ROS:活性氧簇;EMT:上皮间质转化

痛性视力丧失。近年因环境和疾病谱改变,如空气污染、糖尿病等因素,在中国发病率不断升高<sup>[20-21]</sup>。为了寻求青光眼诊治的有效靶点,本研究中收集 10 例 POAG 合并白内障患者房水作为实验组,10 例年龄相关性白内障患者房水作为对照组,通过非标记定量蛋白质组学分析方法分析发现差异蛋白有 97 个,与对照组相比,实验组 48 个蛋白上调,49 蛋白白下调。GO 富集分析差异蛋白在细胞中主要富集于细胞核、细胞骨架区、内质网、胞外区域、胞膜及囊泡。细胞功能主要富集在与金属离子结合、受体结合、核糖体 RNA 结合、蛋白结合、跨膜转运;差异蛋白的生物学过程主要富集于免疫反应、生长发育、胚胎发育、细胞运动、囊泡介导的转运等过程中。KEGG 分析细胞信号通路富集 IL-17 信号通路、ARVC 信号通路、安沙霉素类抗生素合成、药物代谢、赖氨酸降解等,其他一些信号通路,如 Toll 样受体信号通路、NF-κB 信号通路、TGF-β 信号通路、

PI3K-Akt 信号通路、细胞外基质受体信号交流、黏着斑、细胞黏附分子、Wnt 信号通路等。与炎症反应有关的差异蛋白包括 LBP、CD163、CRP、CPN1 和 ANXA1;与氧化还原有关的蛋白包括 GSTP1、TXN;与细胞黏附运动有关的蛋白包括 CDH5、COMP、DSC2、EPDR1、HABP2 和 LAMB2;与细胞增生纤维化有关的蛋白包括 PLOD1、TNC;与神经生长有关的蛋白包括 GDF11、RELN、SEMA3F、SEMA4B;与代谢相关的蛋白包括 PKM、CPN2 等。

研究发现,青光眼条件下有活性氧产生和氧化损伤的标志物<sup>[22-24]</sup>。在房水中下调差异蛋白最高的是 GSTP1,它是谷胱甘肽 s-转移酶(GSTs)家族成员,通过催化许多疏水性和亲电性化合物与还原型谷胱甘肽结合,具有很强的抗氧化能力,GSTP 是核因子促红细胞生成素 2 相关因子 2(Nrf2)-抗氧化剂应答元件(ARE)/亲电反应元件(EpRE)转录通路下游的 II 期基因,在有机化合物与硫醇过氧化物酶活性的信号传导和解毒反应中起着关键作用<sup>[25]</sup>。GSTP1 减少可以导致 DNA 碱基损伤的累积与细胞突变、癌症密切相关。在多发性硬化症中二甲基富马酯代谢物(metabolite dimethyl fumarate, DMF)可以通过 Nrf-ERK1/2-MAPK 减少氧化应激导致的 ROS 表达及细胞凋亡,通过检测 GSTP1 表达水平升高,发挥 DMF 的神经保护功能<sup>[26-27]</sup>。在白内障患者晶状体中 GSTP 的分布和活性明显降低,氧化应激可能通过上调 DNA 甲基转移酶 1(DNMT1),导致 GSTP1 和 TXNRD2 基因启动子的甲基化水平升高降低 GSTP1 和 TXNRD2 的转录产物。氧化应激与基因的甲基化相互影响,形成恶性循环<sup>[28]</sup>。在 COPD 患者中沉默 GSTP1 可以增加细胞中 ROS 的生成和 DNA 损伤<sup>[29]</sup>。GSTP1 在人类前列腺细胞中表达的缺失会增加氧化应激导致的 DNA 的损伤<sup>[30]</sup>。此外,硫氧还原蛋白 1(thioredoxin-1, TXN1)是清除活性氧、激活抑癌基因和 DNA 修复酶的关键因子。研究表明,TXN 在实体肿瘤中过表达可导致预后不良。在涎腺腺样囊性癌中发现 TXN 可以通过调节 TGF- $\beta$ -Akt/糖原合成酶激酶-3 诱导上皮-间质转分化,导致癌症细胞迁移<sup>[31-32]</sup>。

氧化还原反应失衡可以导致眼内血管内皮屏障的破坏以及血管内皮功能失调,诱导炎症相关因子生成增加<sup>[33-34]</sup>,参与小梁网细胞外基质及 RGCs 促凋亡的级联反应<sup>[35]</sup>。研究发现,VEGF、白细胞介素, TNF- $\alpha$ 、CRP 和血清淀粉样蛋白 A (serum amyloid A, SAA) 等因子在青光眼中上调<sup>[36-37]</sup>。炎症因子可以刺激细胞因子迁移及细胞外基质蛋白的重塑,重塑影响房水外

流导致眼压升高<sup>[38]</sup>。胶原蛋白是细胞外基质的主要成分。胶原交联和沉积依赖于赖氨酰羟化,人前胶原赖氨酸-1,2-酮戊二酸-5-双加氧酶 1 (procouagen-lysin,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1, PLOD1) 可以编码赖氨酰羟化酶,异常的赖氨酸羟化和胶原交联导致多种胶原相关疾病的进展,如纤维化和癌症<sup>[39]</sup>。TGF $\beta$ 1 是一种可以诱导肌成纤维细胞形成和随后的胶原蛋白的生成。NF- $\kappa$ B 可以通过 I $\kappa$ B 激酶促进纤维化的生成。通过抑制 3 种胶原修饰酶 PLOD1、PLOD2 和 PLOD3 在真皮成纤维细胞中的表达,能够直接消除 TGF- $\beta$ 1 诱导的肌成纤维细胞的形成和细胞外基质成分胶原蛋白 I 型、纤维连接蛋白的合成<sup>[40]</sup>。本研究中 PLOD1 在 POAG 合并白内障组表达降低,可能与小梁网细胞外基质沉积诱导的机体调节 PLOD1 的表达有关,有待进一步研究。

TNC 是一种位于细胞外基质中的糖原蛋白,在中表达升高。研究发现 TNC 在大多数正常成人组织中不表达,但在大多数恶性实体肿瘤中表达较高,在炎症微环境中促进肿瘤转移<sup>[41]</sup>。TNF- $\alpha$  在肿瘤微环境中通过 NF- $\kappa$ B 路径诱导 TNC 表达,进而促进肝癌细胞迁移<sup>[42]</sup>。在胰腺癌中,TNC 使 ERK1/2 磷酸化,诱导 NF- $\kappa$ B/p65 核易位,之后促进 bcl-xl 和 bcl-2 蛋白表达,从而减少细胞凋亡蛋白酶活化,减少细胞凋亡<sup>[43]</sup>。在单侧输尿管梗阻或缺血-再灌注损伤的肾脏中 TNC 表达迅速增加,且主要表达于肾间质中富含成纤维细胞的病灶区域。肺间质中细胞外基质表达异常促进肺纤维化生成,在肺纤维化区域发现 TNC 表达增加,正常和纤维化的成纤维细胞经 TNC 处理发现非显著增加的  $\alpha$ -SMA mRNA,可见 TNC 参与肺纤维化的形成及组织损伤修复<sup>[44]</sup>。TNC 可以在损伤部位累积,导致神经成纤维细胞大量产生,成纤维细胞衍生的 TNC 在周围神经再生期间通过  $\beta$ 1-整联蛋白依赖性途径促进施万细胞迁移<sup>[45]</sup>。

高眼压可以导致视网膜层供血不足,视神经代谢紊乱,神经纤维呈放射状萎缩,促进其修复的 GDF11 则相对减少。GDF11 基因编码 TGF- $\beta$  超家族的分泌配体。该家族的配体结合各种 TGF- $\beta$  受体,诱导 SMAD 家族转录因子的募集和活化<sup>[46]</sup>。GDF11 在视网膜视神经形成过程中调节细胞的转归和神经节细胞的形成<sup>[47]</sup>。研究证明,随着年龄增加,GDF11 在体内的含量下降,在肾脏缺血-再灌注损伤中,其含量升高并促进肾脏修复;通过在体外上调 ERK1/2 途径,向原代肾上皮细胞中添加重组 GDF11 可促进管腔细胞的再生<sup>[48]</sup>。

本研究的局限性在于样本量小。为减少偏倚,纳入患者时均严格按照纳入标准,基于伦理及其他实验设计选择白内障作为对照组。未来会进一步对实验结果进行验证,以期寻找与疾病有关的靶点。

综上所述,各种原因导致的氧化还原反应失衡,炎症因子增加促进小梁网细胞细胞外基质蛋白改变及细胞外基质交联增加,导致房水流出受阻眼压升高;视网膜神经纤维代谢紊乱,炎症反应发生,促神经生长因子不足诱导 RGCs 凋亡,最终导致患者视力缓慢下降。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- Weinreb RN, Aung T, Medeiros FA. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review [J]. *JAMA*, 2014, 311 (18) : 1901-1911. DOI: 10.1001/jama.2014.3192.
- Wang HW, Sun P, Chen Y, et al. Research progress on human genes involved in the pathogenesis of glaucoma (Review) [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18 (1) : 656-674. DOI: 10.3892/mmr.2018.9071.
- Mousa A, Kondkar AA, Al-Obeidan SA, et al. Association of total antioxidants level with glaucoma type and severity [J]. *Saudi Med J*, 2015, 36 (6) : 671-677. DOI: 10.15537/smj.2015.6.10697.
- Vohra R, Tsai JC, Kolko M. The role of inflammation in the pathogenesis of glaucoma [J]. *Surv Ophthalmol* 2013, 58 (4) : 311-320. DOI: 10.1016/j.survophthal.2012.08.010.
- Cohen LP, Pasquale LR. Clinical characteristics and current treatment of glaucoma [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2014, 4 (6) : 1-16. DOI: 10.1101/cshperspect.a017236.
- Hadjistilianou T, Gigliani S, Micheli L, et al. Analysis of aqueous humor proteins in patients with retinoblastoma [J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2012, 40 (1) : 8-15. DOI: 10.1111/j.1442-9071.2011.02711.x.
- 张哲, 刘巨平, 东莉洁, 等. 高糖状态下视网膜血管内皮细胞基因表达谱的 RNA-Seq 分析 [J]. *中华眼底病杂志*, 2018, 34 (4) : 377-381. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2018.04.014. Zhang Z, Liu JP, Dong LJ, et al. RNA-Seq analysis of gene expression profiling in retinal vascular endothelial cells under high glucose condition [J]. *Chin J Ocul Fundus Dis*, 2018, 34 (4) : 377-381. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2018.04.014.
- 牛瑞, 东莉洁, 马腾, 等. 抗血管内皮生长因子药物治疗后视网膜血管内皮细胞基因表达谱的 RNA-Seq 分析 [J]. *中华眼底病杂志*, 2018, 34 (3) : 275-280. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2018.03.016. Niu R, Dong LJ, Ma T, et al. RNA-Seq analysis of gene expression profiling in human retinal vascular endothelial cells after anti-vascular endothelial growth factor treatment [J]. *Chin J Ocul Fundus Dis*, 2018, 34 (3) : 275-280. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2018.03.016.
- 田芳, 赵今稚, 滕贺, 等. Krüppel 样因子 6 经活化转录因子 4 通路对晶状体上皮细胞凋亡的调控作用 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2018, 36 (3) : 181-186. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.03.005. Tian F, Zhao JZ, Teng H, et al. Regulation of Krüppel-like factor 6 via activating transcription factor 4 pathway to apoptosis of human lens epithelial cells [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2018, 36 (3) : 181-186. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.03.005.
- 田芳, 赵今稚, 黄亮瑜, 等. 高表达 Krüppel 样因子 6 对紫外线 B 诱导的人晶状体上皮细胞凋亡的影响 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2019, 37 (4) : 257-262. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.04.004. Tian F, Zhao JZ, Huang LY, et al. Effects of Krüppel-like factor 6 overexpression towards apoptosis of human lens epithelial cells with ultra violet radiation B treatment [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2019, 37 (4) : 257-262. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.04.004.
- 滕贺, 黄亮瑜, 田芳, 等. 衰老标记蛋白 30 高表达对紫外线诱导人晶状体上皮细胞凋亡的影响 [J]. *中华眼科杂志*, 2017, 53 (11) : 835-841. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2017.11.007. Teng H, Huang LY, Tian F, et al. Effects of SMP-30 overexpression on apoptosis of human lens epithelial cells induced by ultraviolet B irradiation [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2017, 53 (11) : 835-841. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2017.11.007.
- 高美子, 黄亮瑜, 东莉洁, 等. Krüppel 样因子 6 对于 TGF-β1 诱导的晶状体上皮细胞纤维化的调控作用研究 [J]. *中国中医眼科杂志*, 2018, 28 (1) : 4-11. DOI: 10.13444/j.cnki.zgzykz.2018.01.002. Gao MZ, Huang LY, Dong LJ, et al. Regulation of Krüppel-like Factor 6 on TGF-β1-induced fibrosis of lens epithelial cells [J]. *Chin J Chin Ophthalmol*, 2018, 28 (1) : 4-11. DOI: 10.13444/j.cnki.zgzykz.2018.01.002.
- Levin Y, Schwarz E, Wang L, et al. Label-free LC-MS/MS quantitative proteomics for large-scale biomarker discovery in complex samples [J]. *J Sep Sci*, 2007, 30 (14) : 2198-2203. DOI: 10.1002/jssc.200700189.
- Huang Q, Yang L, Luo J, et al. SWATH enables precise label-free quantification on proteome scale [J]. *Proteomics*, 2015, 15 (7) : 1215-1223. DOI: 10.1002/pmic.201400270.
- Zhang Y, Wen Z, Washburn MP, et al. Improving label-free quantitative proteomics strategies by distributing shared peptides and stabilizing variance [J]. *Anal Chem*, 2015, 87 (9) : 4749-4756. DOI: 10.1021/ac504740p.
- Kliuchnikova AA, Samokhina NI, Ilna IY, et al. Human aqueous humor proteome in cataract, glaucoma, and pseudoexfoliation syndrome [J]. *Proteomics*, 2016, 16 (13) : 1938-1946. DOI: 10.1002/pmic.201500423.
- Funke S, Perumal N, Bell K, et al. The potential impact of recent insights into proteomic changes associated with glaucoma [J]. *Exp Rev Proteomics*, 2017, 14 (4) : 311-334. DOI: 10.1080/14789450.2017.1298448.
- Soria J, Villarrubia A, Merayo-Llodes J, et al. Label-free LC-MS/MS quantitative analysis of aqueous humor from keratoconic and normal eyes [J]. *Mol Vis*, 2015, 21 : 451-460.
- 中华医学会眼科学分会青光眼学组. 我国原发性青光眼诊断和治疗专家共识 (2014 年) [J]. *中华眼科杂志*, 2014, 50 (5) : 382-383. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2014.05.022.
- Xiang M, Zhang X, Li Q, et al. Identification of proteins in the aqueous humor associated with cataract development using iTRAQ methodology [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15 (5) : 3111-3120. DOI: 10.3892/mmr.2017.6345.
- Doucette LP, Rasnitsyn A, Seifi M, et al. The interactions of genes, age, and environment in glaucoma pathogenesis [J]. *Surv Ophthalmol*, 2015, 60 (4) : 310-326. DOI: 10.1016/j.survophthal.2015.01.004.
- Chrysostomou V, Rezanian F, Trounce IA, et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in glaucoma. [J]. *Cur Opin Pharm*, 2013, 13 (1) : 12-15.
- 邢小丽, 黄亮瑜, 苏睿虹, 等. 丁基苯酚对过氧化氢诱导下视网膜 Müller 细胞凋亡的影响 [J]. *中华眼底病杂志*, 2018, 34 (5) : 481-486. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2018.05.014. Xing XL, Huang LY, Su RH, et al. Effect of dl-3-n-Butylphthalide on apoptosis of retinal Müller cells induced by hydrogen peroxide [J]. *Chin J Ocul Fundus Dis*, 2018, 34 (5) : 481-486. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2018.05.014.
- 田芳, 李文博, 黄亮瑜, 等. 聚噻啶束结合蛋白相关剪接因子对过氧化氢诱导下视网膜色素上皮细胞凋亡的影响 [J]. *中华眼底病杂志*, 2018, 34 (2) : 159-163. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2018.02.012. Tian F, Li WB, Huang LY, et al. The effect of polypyrimidine tract binding protein-associated splicing factor on hydrogen peroxide induced apoptosis of retinal pigment epithelial [J]. *Chin J Ocul Fundus Dis*, 2018, 34 (2) : 159-163. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2018.02.012.
- DNA hypermethylation-mediated downregulation of antioxidant genes

- contributes to the early onset of cataracts in highly myopic eyes [J]. *Redox Biology*, 2018, 19: 179–189.
- [26] Wang Q, Chuikov S, Taitano S, et al. Dimethyl fumarate protects neural stem/progenitor cells and neurons from oxidative damage through Nrf2-ERK1/2 MAPK pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(6): 13885–13907.
- [27] 田芳, 胡博杰, 李文博, 等. 高表达多聚嘧啶序列结合蛋白相关剪接因子对糖基化终产物诱导下视网膜 Müller 细胞凋亡的影响 [J]. *中华眼底病杂志*, 2019, 35(1): 70–75. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1005-1015. 2019. 01. 015.
- Tian F, Hu BJ, Li WB, et al. Effects of polypyrimidine tract binding protein-associated splicing factor overexpression on apoptosis of human Müller cells under advanced glycation end products treatment [J]. *Chin J Ocul Fundus Dis*, 2019, 35(1): 70–75. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1005-1015. 2019. 01. 015.
- [28] Jia C, Jing Z, Jian W, et al. Aberrant epigenetic alterations of glutathione-S-transferase P1 in age-related nuclear cataract [J]. *Cur Eye Res*, 2016, 42(3): 402–410.
- [29] Zuntar I, Petlevski R, Dodig S et al. GSTP1, GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms and total serum GST concentration in stable male COPD [J]. *Acta Pharmaceutica*, 2014, 64(1): 117–129.
- [30] Kanwal R1, Pandey M, Bhaskaran N et al. Protection against oxidative DNA damage and stress in human prostate by glutathione S-transferase P1 [J]. *Mol Carcinog*, 2014, 53(1): 8–18.
- [31] Yang J, Xin F, Lei Z, et al. Thioredoxin 1 mediates TGF- $\beta$ -induced epithelial-mesenchymal transition in salivary adenoid cystic carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(28): 25506–25519.
- [32] 漆晨, 东莉洁, 乐毅, 等. 多聚嘧啶序列结合蛋白相关剪接因子对体外培养的视网膜色素上皮细胞磷脂酰肌醇 3 激酶/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶信号通路的调控作用 [J]. *中华眼底病杂志*, 2015, 29(4): 363–367. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1005-1015. 2015. 04. 013.
- Qi C, Dong LJ, Le Y, et al. The regulation of PTB-associated splicing factor on phosphatidylinositol 3 kinase/Akt signaling pathway in retinal pigment epithelial cells [J]. *Chin J Ocular Fundus Dis*, 2015, 29(4): 363–367. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1005-1015. 2015. 04. 013.
- [33] 田芳, 东莉洁, 周玉, 等. 重组腺相关病毒-多聚嘧啶序列结合蛋白相关剪接因子对氧诱导视网膜新生血管形成的抑制作用 [J]. *中华眼底病杂志*, 2014, 30(5): 504–508. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1005-1015. 2014. 05. 019.
- Tian F, Dong LJ, Zhou Y, et al. Inhibition of oxygen induced retinal neovascularization by recombinant adeno-associated virus-polypyrimidine tract-binding protein-associated splicing factor intraocular injection in mice [J]. *Chin J Ocul Fundus Dis*, 2014, 30(5): 504–508. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1005-1015. 2014. 05. 019.
- [34] 王礼明, 东莉洁, 刘勋, 等. 急性原发闭角型青光眼急性发作期房水蛋白质组学分析 [J]. *中华眼科杂志*, 2019, 55(5): 687–694. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2019. 09. 011.
- [35] 刘爱华, 高美子, 黄亮瑜, 等. 叉头框转录因子 F2 小发夹 RNA 对人眼小梁网细胞外基质蛋白表达的抑制作用 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2019, 37(6): 405–410. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2019. 06. 002.
- Liu AH, Gao MZ, Huang LY, et al. The inhibitory effect of FoxF2 shRNA on the expression of extracellular matrix of human trabecular meshwork [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2019, 37(6): 405–410. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2019. 06. 002.
- [36] Vohra R, Tsai J C, Kolko M. The role of inflammation in the pathogenesis of glaucoma [J]. *Surv Ophthalmol*, 2013, 58(4): 311–320.
- [37] 田芳, 东莉洁, 吉洁, 等. 多聚嘧啶序列结合蛋白相关剪接因子对视网膜血管内皮细胞 IGF-1/VEGF 信号通路的抑制作用 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2016, 34(1): 11–16. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 01. 003.
- Tian F, Dong LJ, Ji J, et al. Inhibition of PTB-associated splicing factor on IGF-1/VEGF signaling pathway in retinal vascular endothelial cells [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2016, 34(1): 11–16. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 01. 003.
- [38] Chatterjee A, Jr VG, Rhee DJ. Matrixcellular proteins in the trabecular meshwork; review and update [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2016, 30(6): 447–463.
- [39] Qi Y, Xu R. Roles of PLODs in collagen synthesis and cancer progression [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2018, 6: 66–72.
- [40] Mia MM, Bank RA. The I $\kappa$ B kinase inhibitor AICP strongly attenuates TGF $\beta$ 1-induced myofibroblast formation and collagen synthesis [J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(12): 2780–2792. DOI: 10. 1111/jcmm. 12661.
- [41] Fu H, Tian Y, Zhou L, et al. Tenascin-C is a major component of the fibrogenic niche in kidney fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(3): 785–801. DOI: 10. 1681/ASN. 2016020165.
- [42] Nong Y, Wu D, Lin Y, et al. Tenascin-C expression is associated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma (HCC) patients and the inflammatory cytokine TNF- $\alpha$ -induced TNC expression promotes migration in HCC cells [J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(2): 782–791.
- [43] Shi M, He X, Wei W, et al. Tenascin-C induces resistance to apoptosis in pancreatic cancer cell through activation of ERK/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Apoptosis*, 2015, 20(6): 843–857. DOI: 10. 1007/s10495-015-1106-4.
- [44] Estany S, Vicens-Zygmunt V, Llatjós R, et al. Lung fibrotic tenascin-C upregulation is associated with other extracellular matrix proteins and induced by TGF $\beta$ 1 [J]. *BMC Pulm Med*, 2014, 14: 120–128. DOI: 10. 1186/1471-2466-14-120.
- [45] Zhang Z, Yu B, Gu Y, et al. Fibroblast-derived tenascin-C promotes Schwann cell migration through  $\beta$ 1-integrin dependent pathway during peripheral nerve regeneration [J]. *Glia*, 2016, 64(3): 374–385. DOI: 10. 1002/glia. 22934.
- [46] Walker RG, Poggioli T, Katsimpardi L, et al. Biochemistry and biology of GDF11 and myostatin: similarities, differences, and questions for future investigation [J]. *Circ Res*, 2016, 118(7): 1125–1141; discussion 1142. DOI: 10. 1161/CIRCRESAHA. 116. 308391.
- [47] Hayashi Y, Mikawa S, Masumoto K, et al. GDF11 expression in the adult rat central nervous system [J]. *J Chem Neuroanat*, 2018, 89: 21–36. DOI: 10. 1016/j. jchemneu. 2018. 02. 003.
- [48] Zhang Y, Li Q, Liu D, et al. GDF11 improves tubular regeneration after acute kidney injury in elderly mice [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 34624–34629. DOI: 10. 1038/srep34624.

(收稿日期: 2018-11-04 修回日期: 2019-08-13)

(本文编辑: 杜娟)

## 广告目次

止血祛瘀明目片 陕西摩美得气血和制药有限公司……封二

同息通(曲安奈德注射液) 广东省医药进出口公司珠海公司……前插页

博视康(叶黄素片) 博士伦(上海)贸易有限公司……前插页

海德堡超清 OCTA+X 高视医疗……前插页

沃丽汀(卵磷脂络合碘片) 广东泰恩康医药股份有限公司……前插页

丽爱思(地夸磷索钠滴眼液) 参天制药(中国)有限公司……封三

迈达科技 天津迈达科技股份有限公司……封底