

· 专家述评 ·

关注蛋白组学和代谢组学在糖尿病视网膜病变中的临床应用转化研究

张慧¹ 李筱荣¹ Zhou Lei²

¹天津医科大学眼科医院 天津医科大学眼视光学院 天津医科大学眼科研究所 国家眼耳鼻喉疾病临床医学研究中心天津市分中心 天津市视网膜功能与疾病重点实验室,天津 300384; ²Singapore Eye Research Institute, Singapore 999002

通信作者: Zhou Lei, Email: zhou.lei.seri@gmail.com; 李筱荣, Email: xiaorli@163.com

【摘要】 糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病的多种并发症之一,是世界范围内主要的致盲眼病,早期发现和早期干预可以减少致盲性DR的发生。近年来随着高通量组学技术的发展,蛋白组学和代谢组学在DR的早期诊断、发病机制研究以及治疗靶点探索等方面展现出强大的应用价值。传统生物标志物如糖尿病病程和糖化血红蛋白等具有较高的预测DR进展的能力,但临床上仍然缺乏能够体现DR病理机制的独立预测因子。人工智能和机器学习等技术推动了蛋白组学和代谢组学对DR新型生物标志物的探索,使得新型生物标志物更加无创、稳健和敏感。在临床实践中,对预后存在差异的患者进行蛋白质和代谢物的检测,可以帮助临床医生从蛋白组学和代谢组学角度理解患者的异质性,推动了DR精准医疗的开展。本文对蛋白组学和代谢组学在DR的新型生物标志物筛选、发病机制探索和精准医疗等方面采取的技术和策略进行阐述以期进一步推动这个领域的临床应用转化研究。

【关键词】 糖尿病视网膜病变; 蛋白组学; 代谢组学; 生物标志物; 精准医疗

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81870675); 天津市科技支撑重点项目(20YFZCSY00990); 天津市医学重点学科(专科)建设项目资助(TJYXZDXK-037A)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20220831-00406

Paying attention to the application of proteomics and metabolomics in clinical and translational research of diabetic retinopathy

Zhang Hui¹, Li Xiaorong¹, Zhou Lei²

¹Tianjin Key Laboratory of Retinal Functions and Diseases, Tianjin Branch of National Clinical Research Center for Ocular Disease, Eye Institute and School of Optometry, Tianjin Medical University Eye Hospital, 300384 China; ²Singapore Eye Research Institute, Singapore 999002

Corresponding authors: Zhou Lei, Email: zhou.lei.seri@gmail.com; Li Xiaorong, Email: xiaorli@163.com

【Abstract】 Diabetic retinopathy (DR) is one of the complications of diabetic mellitus and a major cause of blindness worldwide. Early detection and treatment for DR could reduce the risk of blindness. With the development of high-throughput omics, proteomics and metabolomics have shown great advantages in early diagnosis, exploration of pathogenesis, and discovery of new therapeutic targets in DR. Although traditional biomarkers such as duration of diabetes and HbA1c are good predictors for the progression of DR, there is still a lack of independent predictors that can reflect the pathogenesis of DR. Advances in artificial intelligence and machine learning have facilitated the exploration of novel biomarkers for DR, making the novel biomarkers more noninvasive, robust and sensitive. In clinical practice, the analysis of proteins and metabolites in patients with varied prognosis may help clinicians understand the heterogeneity of patients to develop precision medicine in DR. This review summarized the progress in the technology and strategy of proteomics and metabolomics in biomarker discovery, pathogenesis, and precision medicine of DR to promote clinical and translational research in this field.

【Key words】 Diabetic retinopathy; Proteomics; Metabolomics; Biomarkers; Precision medicine

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81870675); Tianjin Science and Technology

Support Key Project (20YFZCSY00990); Tianjin Key Medical Discipline (Specialty) Construction Project (TJYXZDXK-037A)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20220831-00406

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病患者常见的眼底并发症,是世界范围内主要的致盲眼病之一。目前 DR 的治疗方式包括激光光凝、玻璃体内注射抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)药物和玻璃体视网膜手术,但 these 方法仅适用于疾病中晚期,其疗效在不同患者间差异较大,因此需要基于病变不同阶段的分子病理机制、新型生物标志物和个性化治疗方案等多个层面对 DR 进行更系统的理解。近年来,高通量组学技术的进步促进了蛋白组学和代谢组学在 DR 基础研究领域的飞速发展,蛋白组学和代谢组学等组学研究是系统研究生命活动的有用工具,蛋白质或代谢物的变化代表了遗传和环境因素的相互作用,并提供了与基因组、转录组的互补信息,为我们提供了全面了解 DR 病理机制和治疗靶点的新途径。目前许多研究者从对 DR 患者的眼内液、泪液和血液等各种生物样本的组学分析中积累了大量的组学数据,为系统探究 DR 的生物标志物以及病理机制提供了丰富的信息资源。然而,这些激增的海量数据也使研究者面临着一个重大挑战,即如何从海量数据中获取有意义的信息,因此在组学研究中采取合适的策略和前沿的技术以节约样本,提高组学数据的利用率,从而系统深入地探讨 DR 的发病机制和探索新型生物标志物以及治疗靶点是实现临床转化的方向之一。

1 利用蛋白组学/代谢组学技术寻找 DR 新型生物标志物

研究表明,DR 的发生具有很多危险因素和经典的生物标志物。流行病学调查显示,长的糖尿病病程和血糖控制欠佳是 DR 进展的危险因素,也是致盲性 DR 的预测因素。血液中糖化血红蛋白(hemoglobin A1c, HbA1c)含量可反映血糖控制水平,是最早被发现的 DR 生物标志物之一。除血液外,DR 患者房水和玻璃体中 VEGF、色素上皮衍生因子和人血管紧张素 II 等蛋白浓度升高也一定程度上增加眼部产生新生血管的风险,故也认为是 DR 生物标志物^[1]。但是随着大规模糖尿病队列研究的开展,发现经典的单一生物标志物在对疾病的深入研究中显示出一定的局限性,如研究表明 HbA1c 并不是糖尿病患者发生微血管并发症的独立预测因子,其对 DR 早期病变风险的预测

值仅为 11%^[2],故仍待寻找更多糖尿病微血管并发症的生物标志物。此外眼内液样本的获取为有创性,房水和玻璃体液中的生物标志物研究在临床应用方面仍存在很大限制。蛋白组学和代谢组学研究利用组学高通量大数据的特点,可对 DR 患者的多种样本进行蛋白谱和代谢谱分析,并可借助靶向组学和人工智能算法等技术,为探索 DR 新型生物标志物提供了极大的便利。

1.1 人工智能算法助力生物标志物的快速筛选

蛋白组学/代谢组学的主要优势是短时高效地获取大量蛋白质和小分子代谢物的原始信息,并借助人工智能和机器算法对大数据进行处理,寻找多种生物标志物的组合,以获得最优诊断。Torok 等^[3-4]将机器学习算法引入 DR 患者泪液的蛋白组学研究中以发现新的 DR 生物标志物组合。该团队首先评估了 6 种不同机器学习算法的诊断效力,包括支持向量机、递归分区、随机森林、朴素贝叶斯、逻辑回归、K-最近邻等,发现效果最好的递归分区法确定的生物标志物敏感性和特异性分别为 74% 和 48%,诊断效力欠佳。随后该团队采取结合眼底微动脉瘤以及泪液蛋白的方法建立诊断模型,敏感性和特异性分别提高至 87% 和 68%。由此可见,仅用机器学习算法选择和分类的蛋白质生物标志物用于筛选目的特异性和敏感性较低,而结合眼底特征建立混合模型诊断性能较高。在代谢组学的研究中, Sun 等^[5]对增生性 DR (proliferative diabetic retinopathy, PDR) 人群的血浆代谢物进行综合分析,使用基于最小绝对收缩和选择算子正则化逻辑回归 (least absolute shrinkage and selection operator regularization logistic regression, LASSO-LR) 的机器学习模型建立和评估基于所选代谢物水平的风险评分,发现 4 种循环血浆代谢物(假尿苷、谷氨酸、亮氨酸亮氨酸和 N-乙酰色氨酸)与 PDR 显著相关。由此可见,与传统生物标志物只能从某一方面反映 DR 进展风险不同,机器算法结合组学技术可快速筛选生物标志物的组合,有利于对 DR 进展风险进行系统评估。

1.2 靶向组学研究提供生物标志物的高效验证

传统蛋白组学/代谢组学为疾病表达谱的最大程度表征,采取非靶向定量技术对样本的所有蛋白及代谢物进行分析。受生物样本复杂性的影响,样本中低丰度的蛋白多肽信号容易受高丰度蛋白多肽信号的限制,因此难以发现具有关键作用的低丰度蛋白。靶向

定量技术可以弥补上述非靶向定量的不足,更有针对性地分析蛋白的特定化学特征,偏向于对蛋白和代谢物的定量分析。靶向组学技术具有高通量、高准确性、可重复性的优点,基于早期的差异蛋白组/代谢组的数据,即便是生物样本量少也能够同时验证多个标志物。我们使用高分辨率的多重反应监测技术(multiple reaction monitoring, MRM)在 1 μ l 的人类泪液样本中量化了 47 种人类泪液蛋白^[6],极大地提高了样本利用率。

针对 DR 生物标志物的非靶向蛋白组学研究往往采取 ELISA 和 Western blot 方法进行靶蛋白验证,尽管结果可靠,但是存在验证周期长、成本高、样本利用率低的局限性,尤其是特别稀缺的样本很难同时验证多个候选生物标志物。靶向组学为 DR 生物标志物的大规模快速验证提供了技术平台。在蛋白组学研究中, Kim 等^[7]首先用 MRM 技术对 DR 患者玻璃体液和血浆中 12 个目标蛋白进行定量测定,随后扩大验证范围,在血浆样本中应用 MRM 技术验证了 54 种蛋白生物标志物^[8],其中 4 种蛋白标志物组合构成一种多蛋白生物标志物模型,对无 DR 的糖尿病患者和非增生期 DR (non-proliferative diabetic retinopathy, NPDR) 患者诊断的 AUC 为 0.99,对 DR 早期诊断具有重要意义。平行反应监测技术(parallel reaction monitoring, PRM)也用于寻找玻璃体内注射雷珠单抗(intravitreal injection of ranibizumab, IVR)术后的生物标志物^[9]。She 等^[9]对比了 IVR 治疗前后 PDR 患者玻璃体蛋白谱的差异,并在验证集的样本中通过 PRM 验证了 7 种蛋白质的表达水平与发现集相一致,可以作为 IVR 治疗的生物标志物。在代谢组学研究中,许国旺研究团队^[10]采取多平台代谢组学方法全面表征血清代谢谱筛选和验证 DR 生物标志物,并用 MRM 技术在验证集中进行验证,发现 12-羟基二十碳四烯酸和 2-哌啶酮的生物标志物组合在区分 DR 和糖尿病方面比 HbA1c 诊断效能更好,有助于 DR 早期诊断。与基于抗体的检测相比,临床蛋白组学/代谢组学中的靶向组学研究具有几大优势,如不需要抗体、检测范围广泛、高通量分析能力以及检测成本低等,因此在筛选生物标志物领域具有极大的应用潜力。

1.3 蛋白组学/代谢组学有助于无创生物标志物的发现

近年来随着组学样本制备技术的进步,使得无创收集的各种体液样本生物标志物研究成为可能。泪液获取方便快捷且完全无创,尽管泪液并不直接与视网膜相邻,但是泪液成分会受到糖尿病的影响,因此部分研究通过对泪液的蛋白质和代谢物变化进行分析而寻找 DR 的生物标志物。与无 DR 的糖尿病患者相比,

NPDR 患者泪液中白细胞介素(interleukin, IL)-2/-5/-18、肿瘤坏死因子、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2/-3/-9 浓度升高。与非 PDR 和健康受试者相比, PDR 患者的 IL-5/IL-18 和 MMP-3/MMP-9 等蛋白的相对丰度上调^[11],提示炎症可能参与 DR 的发生和进展。另一方面,肠道菌群研究的不断深入将肠代谢与 DR 的进展联系在一起,研究表明健康人群与糖尿病及 DR 患者之间的肠道微生物群组成存在显著差异, DR 患者粪便中肌肽、琥珀酸、烟酸和烟酰胺水平显著低于健康对照组^[12]。Ye 等^[13]还根据 PDR 患者粪便的 16S rRNA 基因测序和非靶向代谢组学结果构建了一个基于粪便代谢物的分类器,以准确区分 PDR 患者和无 DR 的糖尿病患者。这表明 DR 患者的肠道菌群种属改变可能导致粪便代谢物的改变并参与 DR 进展,是新型无创 DR 生物标志物的来源。

2 蛋白组学/代谢组学研究探究 DR 进展的病理机制

2.1 横断面研究现状

DR 是慢性进行性糖尿病导致的视网膜微血管渗漏和阻塞而引起一系列的眼底病变,病程具有明显的阶段性,各期具有相对不同的病理特征。因此在某一时段同时收集处于不同病理阶段的 DR 患者样本进行差异蛋白或代谢物分析有利于对 DR 病理机制的深刻理解。截至目前,人们已经对 DR 患者的视网膜增生膜、玻璃体液、房水、血浆或血清等多种生物样本进行蛋白组学或代谢组学研究^[1], DR 患者玻璃体中含有的大量蛋白质和代谢物是 DR 组学研究的主要对象。研究表明,补体和凝血级联通路在 DR 患者玻璃体中被激活^[14],房水蛋白组学研究中也发现了炎症蛋白的高表达以及补体和凝血级联通路的上调^[15],表明 DR 进展伴随炎症反应及凝血功能障碍,提示临床治疗 DR 的同时应采取抗炎和促积血吸收等多种策略。上述研究中研究者多选取黄斑裂孔、黄斑前膜和视网膜脱离患者的眼内液作为对照组,然而,研究发现这 3 种疾病也存在着各自蛋白表达谱的异常^[16-18]。另外健康人和糖尿病患者存在极大的代谢差异^[19],因此 DR 的研究应选取单纯糖尿病患者的生物样本作为对照。与眼内液相比较,血液样本的获取更简单,并可将健康人群和单纯糖尿病患者的血液作为对照,研究中应用更广泛。

研究表明, DR 患者血浆、血清及血浆中的细胞外囊泡含有大量可以促进 DR 进展的蛋白质和代谢物,一方面可以作为生物标志物进行大规模验证,一方面可以作为 DR 的新治疗靶点进行探索。我们对 PDR

患者血浆外泌体进行了蛋白组学分析^[20],随后用 ELISA 在更大的样本量中对靶点进行验证,结果表明 PDR 患者血浆外泌体中的肿瘤坏死因子诱导蛋白 8 (tumor necrosis factor- α induced protein 8, TNFAIP8) 表达水平显著升高,进一步体外实验证实, TNFAIP8 促进血管内皮细胞的增生和迁移,是 DR 的潜在治疗靶点。在代谢组学研究中,我们采用气相色谱-质谱法进行了基于人群的巢式病例对照代谢组学研究^[21],调整混杂因素后鉴定出 11 种与 DR 有关的代谢物,随后在另一个同等样本量的独立样本集中进行验证,结果表明 2-脱氧核糖酸和 3,4-二羟基丁酸是 DR 新型代谢生物标志物,戊糖磷酸途径被鉴定为与 DR 相关的关键代谢失调通路,这表明氧化应激参与 DR 的发病机制,这些发现为纵向代谢组学研究奠定了基础。然而,针对血液样本的蛋白组学研究可能会受到一些混杂因素的影响,血液采集和随后的制备错误可能导致血小板蛋白和凝血相关蛋白污染^[22],最终导致生物标志物的选择出现偏倚。因此必须严格控制样本的收集及制备过程,以不断提高生物标志物的特异性及稳健性。

2.2 在蛋白组学/代谢组学研究中开展队列研究的必要性

上述研究为横断面研究方法,样本收集难度低,可以在短期内发现与 DR 不同病理阶段相关的蛋白或者代谢物,但是无法体现同一个体发展的连续性和代际效应,无法确定差异代谢物与疾病或其严重程度之间的因果关系。一些由横断面研究确定的生物标志物可能代表短期代谢紊乱,而不是与 DR 发展相关的慢性风险因素,因此采用蛋白组学/代谢组学策略展开队列研究是十分必要的。在队列研究中,以 DR 的加重作为观察终点筛选出的差异蛋白或代谢物指向 DR 的危险因素,而以糖尿病不进展为 DR 作为观察终点可以筛选出 DR 的保护因素,为临床新药的研发提供治疗靶点。截至目前,在基于蛋白组学和代谢组学的 DR 临床研究领域仍然缺乏大量的纵向研究。一项针对 I 型糖尿病患者的队列研究纳入了 648 名受试者,受试者被分为无 DR、轻度 NPDR、中度 NPDR、PDR 和伴有纤维化的 PDR。在首先进行的针对血清的代谢组学横断面研究结果显示,2,4-二羟基丁酸、3,4-二羟基丁酸、核糖酸、核糖醇和三酰甘油 50:1 和 50:2 与 DR 具有相关性。在 5 年的随访中采用 COX 等比例风险模型进行 DR 进展的危险因素分析,发现血清中较高的 3,4-二羟基丁酸水平是 DR 进展的生物标志物^[23]。纵向的队列研究更关注疾病的动态变化,借助组学技术动态随访 DR 患者的蛋白和代谢物表达谱变化,是探

寻 DR 风险因素的最佳手段,具有极大的研究价值。

3 蛋白组学/代谢组学对抗 VEGF 治疗方案的探究推动了 DR 精准医疗发展

蛋白组学/代谢组学反映了基因、环境和生活方式的变化,是精准医疗中应用最广泛的领域之一。抗 VEGF 药物已广泛用于 PDR 患者的术前抑制新生血管中,以减少术中出血,其作用除直接拮抗 VEGF 外,分子机制尚不完全清楚。多项研究对雷珠单抗治疗前后的玻璃体进行了蛋白组学分析^[9],发现除 VEGF 蛋白水平降低外,载脂蛋白 C1 和 MMP 组织抑制剂等蛋白的表达水平也降低,这些蛋白质在脂代谢以及炎症、新生血管等方面具有促进作用。另一项研究表明,术前康柏西普玻璃体注射可以减少载脂蛋白 A2 和高敏反应蛋白 C 水平,通过抑制补体激活通路和炎症反应来改善 PDR 患者手术预后^[24]。此外,临床上抗 VEGF 药物的选择依赖医生的经验,导致部分患者治疗效果欠佳,甚至出现反复注射后的眼部不适症状^[25]。一项研究对 3 种常用的玻璃体内抗 VEGF 药物(雷珠单抗、阿柏西普和康柏西普)治疗 PDR 患者后房水蛋白质水平变化进行比较^[26],发现视黄酸受体反应蛋白 1、醛脱氢酶 3A1 和视黄醇结合蛋白 4 在 3 种抗 VEGF 药物治疗后都受到特异性调节,这表明 3 种药物有共同的作用通路。但是,VEGF 受体 1 和受体 2 等蛋白在不同的抗 VEGF 药物组中存在差异表达,可以解释这些患者存在抗 VEGF 治疗反应的异质性,为将来针对不同患者精准选择抗 VEGF 药物提供了依据。研究发现注射贝伐单抗后的患眼玻璃体纤维化蛋白表达增加^[27]。另一项不区分抗 VEGF 药物的研究也表明,相较于未经治疗和术前接受全视网膜光凝的患者,术前接受玻璃体腔注药的患者玻璃体纤维蛋白和纤维蛋白原 α 、 β 和 γ 链的表达增加^[28],提示临床上在应用抗 VEGF 药物的同时,探索抗 VEGF 和抗纤维蛋白-纤维蛋白复合物形成联合给药能有效改善玻璃体腔注药术后的玻璃体视网膜纤维化改变。对抗 VEGF 术后玻璃体及房水蛋白质的表征有助于深入理解不同药物的作用机制,不断改进治疗方案,推进 DR 的精准医疗的进展。

蛋白组学和代谢组学在 DR 研究领域已广泛用于生物标志物的寻找、发病机制的探索和新的治疗靶点的探索等。目前对 DR 患者眼内液、泪液及血液等生物样本的表征绘制了较为完整的蛋白质和代谢物表达谱,在完整表征的基础上应用人工智能方法和靶向组学技术提高了验证生物标志物的效率,有利于快速筛选新型生物标志物。采取横断面或者队列研究方法寻

找差异蛋白和差异代谢物以及相关的通路为 DR 发病机制的研究提供了全新的思路。在临床研究中,基于患者个体差异进行的组学研究更加贴近实际需求,最终目的是根据患者的异质性定制个性化的治疗方案,推进精准医疗的开展。尽管蛋白组学和代谢组学研究取得了部分研究成果,但到目前为止,由于缺乏长期的队列研究和多中心大样本的验证,利用蛋白组学和代谢组学方法寻找 DR 生物标志物和治疗靶点仍然面临一定的挑战,其临床适用性依赖于所采集数据的质量和准确性。研究者应提前制定研究计划,包括确保最高数据质量和最低分析变异性的所有关键步骤,这包括样本类型、样本收集、样本量、样本处理和数据分析。此外,我们应始终将组学实验设计与临床需求相结合,并进行充分的验证和基础研究,以确保组学结果的可靠性和临床适用性。

利益冲突 本研究作者均声明不存在任何利益冲突

作者贡献声明 李筱荣、Zhou Lei:参与选题、文章智力性内容修改和最终定稿;张慧:参与资料的收集、论文撰写和修改

参考文献

- [1] Youngblood H, Robinson R, Sharma A, et al. Proteomic biomarkers of retinal inflammation in diabetic retinopathy [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (19) : 4755 [2022-08-01]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31557880> DOI: 10.3390/ijms20194755.
- [2] Hirsch IB, Brownlee M. Beyond hemoglobin A1c—need for additional markers of risk for diabetic microvascular complications [J]. *JAMA*, 2010, 303 (22) : 2291-2292. DOI: 10.1001/jama.2010.785.
- [3] Torok Z, Peto T, Csozsz E, et al. Tear fluid proteomics multimarkers for diabetic retinopathy screening [J/OL]. *BMC Ophthalmol*, 2013, 13 (1) : 40 [2022-08-01]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23919537>. DOI: 10.1186/1471-2415-13-40.
- [4] Torok Z, Peto T, Csozsz E, et al. Combined methods for diabetic retinopathy screening, using retina photographs and tear fluid proteomics biomarkers [J/OL]. *J Diabetes Res*, 2015, 2015 : 623619 [2022-08-01]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26221613>. DOI: 10.1155/2015/623619.
- [5] Sun Y, Zou H, Li X, et al. Plasma metabolomics reveals metabolic profiling for diabetic retinopathy and disease progression [J/OL]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12 : 757088 [2022-08-01]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34777253>. DOI: 10.3389/fendo.2021.757088.
- [6] Tong L, Zhou XY, Jylha A, et al. Quantitation of 47 human tear proteins using high resolution multiple reaction monitoring (HR-MRM) based-mass spectrometry [J]. *J Proteomics*, 2015, 115 : 36-48. DOI: 10.1016/j.jprot.2014.12.002.
- [7] Kim K, Kim SJ, Yu HG, et al. Verification of biomarkers for diabetic retinopathy by multiple reaction monitoring [J]. *J Proteome Res*, 2010, 9 (2) : 689-699. DOI: 10.1021/pr901013d.
- [8] Kim K, Kim SJ, Han D, et al. Verification of multimarkers for detection of early stage diabetic retinopathy using multiple reaction monitoring [J]. *J Proteome Res*, 2013, 12 (3) : 1078-1089. DOI: 10.1021/pr3012073.
- [9] She X, Zou C, Zheng Z. Differences in vitreous protein profiles in patients with proliferative diabetic retinopathy before and after ranibizumab treatment [J/OL]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9 : 776855 [2022-08-06]. DOI: 10.3389/fmed.2022.776855.
- [10] Xuan Q, Ouyang Y, Wang Y, et al. Multiplatform metabolomics reveals novel serum metabolite biomarkers in diabetic retinopathy subjects [J/OL]. *Adv Sci (Weinh)*, 2020, 7 (22) : 2001714 [2022-08-06]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33240754>. DOI: 10.1002/advs.202001714.
- [11] Amorim M, Martins B, Caramelo F, et al. Putative biomarkers in tears for diabetic retinopathy diagnosis [J/OL]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9 : 873483 [2022-08-06]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35692536>. DOI: 10.3389/fmed.2022.873483.
- [12] Zhou Z, Zheng Z, Xiong X, et al. Gut microbiota composition and fecal metabolic profiling in patients with diabetic retinopathy [J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9 : 732204 [2022-08-10]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34722512>. DOI: 10.3389/fcell.2021.732204.
- [13] Ye P, Zhang X, Xu Y, et al. Alterations of the gut microbiome and metabolome in patients with proliferative diabetic retinopathy [J/OL]. *Front Microbiol*, 2021, 12 : 667632 [2022-08-10]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34566901>. DOI: 10.3389/fmicb.2021.667632.
- [14] Schori C, Trachsel C, Grossmann J, et al. The proteomic landscape in the vitreous of patients with age-related and diabetic retinal disease [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59 (4) : AMD31-AMD40. DOI: 10.1167/iovs.18-24122.
- [15] Han R, Gong R, Liu W, et al. Proteome changes associated with the VEGFR pathway and immune system in diabetic macular edema patients at different diabetic retinopathy stages [J]. *Curr Eye Res*, 2022, 47 (7) : 1050-1060. DOI: 10.1080/02713683.2022.2068181.
- [16] Öhman T, Gawryski L, Miettinen S, et al. Molecular pathogenesis of rhegmatogenous retinal detachment [J/OL]. *Sci Rep*, 2021, 11 (1) : 966 [2022-08-15]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33441730>. DOI: 10.1038/s41598-020-80005-w.
- [17] Zhang P, Zhu M, Zhao Y, et al. A proteomic approach to understanding the pathogenesis of idiopathic macular hole formation [J/OL]. *Clin Proteomics*, 2017, 14 : 37 [2022-08-15]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29176938>. DOI: 10.1186/s12014-017-9172-y.
- [18] Sun C, Zou H, Yang Z, et al. Proteomics and phosphoproteomics analysis of vitreous in idiopathic epiretinal membrane patients [J/OL]. *Proteomics Clin Appl*, 2022 : e2100128 [2022-08-15]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35510950>. DOI: 10.1002/prca.202100128. [published online ahead of print].
- [19] Rebholz CM, Yu B, Zheng Z, et al. Serum metabolomic profile of incident diabetes [J]. *Diabetologia*, 2018, 61 (5) : 1046-1054. DOI: 10.1007/s00125-018-4573-7.
- [20] Xiao J, Zhang H, Yang F, et al. Proteomic analysis of plasma sEVs reveals that TNFAIP8 is a new biomarker of cell proliferation in diabetic retinopathy [J]. *J Proteome Res*, 2021, 20 (3) : 1770-1782. DOI: 10.1021/acs.jproteome.0c01048.
- [21] Chen L, Cheng CY, Choi H, et al. Plasma metabolomic profiling of diabetic retinopathy [J]. *Diabetes*, 2016, 65 (4) : 1099-1108. DOI: 10.2337/db15-0661.
- [22] Geyer PE, Voytik E, Treit PV, et al. Plasma proteome profiling to detect and avoid sample-related biases in biomarker studies [J/OL]. *EMBO Mol Med*, 2019, 11 (11) : e10427 [2022-08-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31566909>. DOI: 10.15252/emmm.201910427.
- [23] Curovic VR, Suvitaival T, Mattila I, et al. Circulating metabolites and lipids are associated to diabetic retinopathy in individuals with type 1 diabetes [J]. *Diabetes*, 2020, 69 (10) : 2217-2226. DOI: 10.2337/db20-0104.
- [24] Zou C, Zhao M, Yu J, et al. Difference in the vitreal protein profiles of patients with proliferative diabetic retinopathy with and without intravitreal conbercept injection [J/OL]. *J Ophthalmol*, 2018, 2018 : 7397610 [2022-08-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29850212>. DOI: 10.1155/2018/7397610.
- [25] Falavarjani KG, Nguyen QD. Adverse events and complications associated with intravitreal injection of anti-VEGF agents: a review of literature [J]. *Eye (Lond)*, 2013, 27 (7) : 787-794. DOI: 10.1038/eye.2013.107.
- [26] Chen H, Qiu B, Gao G, et al. Proteomic changes of aqueous humor in proliferative diabetic retinopathy patients treated with different intravitreal anti-VEGF agents [J/OL]. *Exp Eye Res*, 2022, 216 : 108942 [2022-08-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35032522>. DOI: 10.1016/j.exer.2022.108942.
- [27] Loukovaara S, Nurkkala H, Tamene F, et al. Quantitative proteomics analysis of vitreous humor from diabetic retinopathy patients [J]. *J Proteome Res*, 2015, 14 (12) : 5131-5143. DOI: 10.1021/acs.jproteome.5b00900.
- [28] Wei Q, Zhang T, Jiang R, et al. Vitreous fibronectin and fibrinogen expression increased in eyes with proliferative diabetic retinopathy after intravitreal anti-VEGF therapy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58 (13) : 5783-5791. DOI: 10.1167/iovs.17-22345.

(收稿日期:2022-08-31 修回日期:2022-09-02)

(本文编辑:尹卫靖 张宇)