

蛋白质组学在糖尿病视网膜病变炎症性生物标志物研究中的应用

徐嫚鸿 综述 李筱荣 审校

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
通信作者:李筱荣,Email:xiaorli@163.com

【摘要】 糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病患者常见的神经血管性并发症,严重威胁工作年龄人群的视力健康,给我国带来了沉重的社会和经济负担。DR患者就诊时多已发展至增生性糖尿病视网膜病变阶段,需接受玻璃体腔注射药物或手术治疗,但视力恢复不佳,因此以糖尿病患者或早期DR患者为研究对象,探索DR发病新的生物标志物,对早期DR进行及时诊断与治疗具有重要意义。高通量蛋白质组学研究可以检查诸如房水、玻璃体液、泪液和血清等标本量较少的生物流体,找到涉及视网膜炎症过程的差异蛋白,为DR的早期诊断和治疗提供参考。本文就近年来蛋白质组学技术筛选鉴定DR炎症性生物标志物的情况及存在的问题进行综述。

【关键词】 糖尿病视网膜病变;蛋白质组学;炎症性生物标志物

基金项目: 2021年天津市研究生科研创新项目(2021YJSB271);国家自然科学基金面上项目(82171085);天津市京津冀基础专项项目(19JCZDJC64000)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200428-00294

Application of proteomics in exploring the inflammatory biomarkers of diabetic retinopathy

Xu Manhong, Li Xiaorong

Tianjin 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, Tianjing 300384, China
Corresponding author: Li Xiaorong, Email: xiaorli@163.com

【Abstract】 Diabetic retinopathy (DR) is a common neurovascular complication of diabetes patients, which seriously threatens the vision health of working-age people and brings a heavy social and economic burden to our society. Most patients with DR have progressed to the stage of proliferative diabetic retinopathy and need to receive intravitreal injection of drugs or surgery but resulting in poor recovery of vision. Therefore, exploring new biomarkers is of great significance for the diagnosis and treatment of early DR. High-throughput proteomics research can examine smaller volumes of biological fluid specimen such as aqueous humor, vitreous humor, tears, and serum, finding differential proteins involved in inflammatory processes in the retina, providing references for the early diagnosis and treatment of DR. Proteomics techniques used for the screening and identification of inflammatory biomarkers in DR in recent years and existing problems were reviewed in this article.

【Key words】 Diabetic retinopathy; Proteomics; Inflammatory biomarkers

Fund program: Tianjin Research Innovation Project for Postgraduate Students (2021YJSB271); National Natural Science Foundation of China (82171085); Natural Science Foundation of Tianjin (19JCZDJC64000)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200428-00294

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病患者常见的神经血管性并发症之一,其特征是视网膜血管渗漏、视网膜缺血、血管生成和视网膜炎症^[1]。患者眼底表现为棉絮斑、渗出液、小静脉迂曲、动脉瘤和出血,可能导致视力下降、色觉丧失和夜视障碍^[2]。DR是一种多系统、多因素相互作用的慢性疾病,炎症机制在其发病中发挥重要作用^[3-4]。有研究者称DR为可防不可治盲,多数患者就诊时已发展至增生性糖尿

病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)阶段,需接受玻璃体腔注射抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)药物或手术治疗,但经治疗患者的视力恢复情况并不理想,因此寻找更准确便捷的DR早期筛查手段显得尤为重要。

1996年Wilkins等^[5]首次提出蛋白质组学的概念,即研究特定细胞、组织或生物体中所包含的全部蛋白质信息,包括蛋

白质的表达水平、蛋白质的三维结构、翻译后修饰和蛋白与蛋白之间相互作用关系等,从而在蛋白质表达水平上全面而整体地揭示细胞代谢、疾病发生和发展等过程。泪液、房水、玻璃体液、视网膜下液和外周血清等与 DR 相关的生物流体样本通过蛋白质组学技术进行了大量的研究,不断有新的与 DR 中血管炎症相关的差异蛋白被深度挖掘,并作为 DR 诊断的生物标志物^[6-7]。当血-视网膜屏障功能正常时,由活化的小胶质细胞和补体系统所导致的低度炎症水平在 DR 早期阶段起到维持内环境稳态平衡的作用^[8]。随着疾病进展,活化的小胶质细胞、内皮细胞、大胶质细胞甚至神经元产生的炎症细胞因子水平增加并不断累积,不仅造成 DR 早期神经元细胞死亡,并且也在血管生成中发挥重要作用^[9-10]。因此,本文就近年来蛋白质组学研究发现的 DR 相关炎症生物标志物作一综述。

1 蛋白质组学研究涉及与 DR 相关的生物流体

生物流体指动物和人体内循环系统、呼吸系统等生理性流体,如血液、气体、尿液、淋巴液和其他体液^[11]。眼部的不同组织和相关生物流体中蛋白质可反映眼科疾病的病理特征,DR 患者反映疾病炎症状态的生物流体主要包括泪液、房水、玻璃体液和血浆。DR 患者高血糖引起房水渗透压降低,进而影响房水蛋白水平改变^[12]。玻璃体无血管,大部分玻璃体蛋白质来自视网膜,DR 患者视网膜渗漏、出血、血-视网膜屏障受损均可导致玻璃体蛋白质成分和含量的变化^[13-14]。糖尿病患者泪腺微血管损伤伴自主神经病变可能损害泪腺功能,其泪液蛋白的组成与健康人不同^[15]。上述眼部生物流体通过毛细血管壁与血液以及通过直接和间接接触与各种眼组织不断交换物质,其中的蛋白质水平不仅有助于指示血管和/或眼组织的健康状况,也能作为潜在的疾病诊断和预后生物标志物^[16]。

2 DR 患者各生物流体中炎症相关蛋白变化

目前已有大量研究显示 DR 患者生物流体中存在有炎症相关蛋白表达变化,本小节根据 DR 相关的生物流体进行分类概述(图 1)。

2.1 泪液

泪液蛋白可反映眼部和全身系统性疾病病理特点,已成为近年来研究的热点^[11]。与健康组泪液相比,非增生性糖尿病视网膜病变(non-proliferative diabetic retinopathy, NPDR)患者泪液中 β -2 微球蛋白(β -2 microglobulin, B2M)上调,脂蛋白 1(lipoprotein 1, LCN-1)及其前体明显下调^[17]。B2M 高表达可通过释放促炎细胞因子和活性氧代谢产物损害视网膜细胞^[18]。脂蛋白是多种疾病的生物学标志物,如炎症性疾病、癌症、肝肾功能障碍等,LCN-1 很可能与 DR 患者炎症状态相关^[19]。Wang 等^[20]采用基于光电珠的免疫传感技术检测到 DR 患者泪液中 LCN-1 的水平随 DR 严重程度增加而升高,提示泪液中 LCN-1 可能是 DR 的生物学标志物之一。Csösz 等^[21]通过对健康对照组、糖尿病组、NPDR 组和 PDR 组患者的泪液样本进行蛋白质组学分析来识别 DR 生物标志物,其中 PDR 组乳铁蛋白和 Ig- λ 明显上调,可能与异常血管形成、视网膜出血和黄斑水肿引起的

炎症相关。此外,Hagan 等^[22]利用乳铁蛋白、Ig- λ 和该研究中的其他 4 个候选生物标志物 LCN-1、催泪蛋白、溶菌酶 C 和亲脂素 A 建立了蛋白表达水平联合临床指标的视网膜疾病诊断模式。

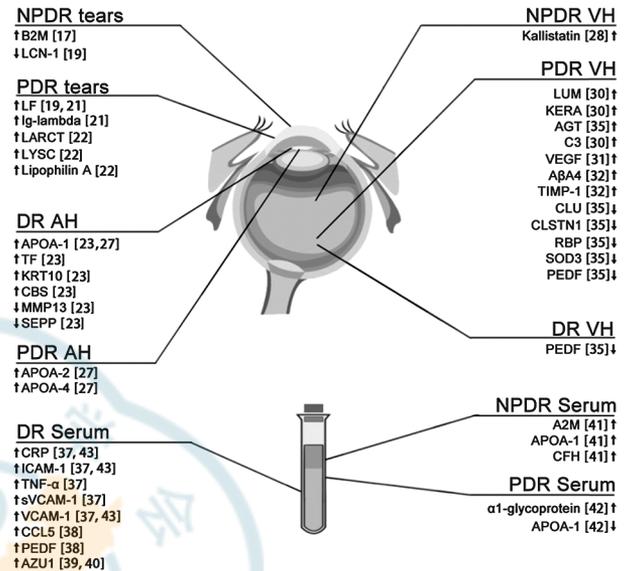


图 1 DR 患者各生物流体中炎症蛋白变化 NPDR:非增生性糖尿病视网膜病变;B2M: β -2 微球蛋白;LCN:脂蛋白;PDR:增生性糖尿病视网膜病变;LF:乳铁蛋白;LACRT:催泪蛋白;LYSC:溶菌酶 C;DR:糖尿病视网膜病变;AH:房水;APOA:载脂蛋白 A;TF:转铁蛋白;KRT:角蛋白 I 型细胞骨架;CBS:胱硫醚 β -合酶;MMP:基质金属蛋白酶;SEPP:硒蛋白 P;CRP:C-反应蛋白;ICAM:细胞间黏附分子;TNF:肿瘤坏死因子;sVCAM:可溶性血管黏附分子;VCAM:血管黏附分子;CCL:C-C 基序趋化因子;PEDF:色素上皮衍生因子;AZU1:炎症反应蛋白;VH:玻璃体液;LUM:细胞外基质蛋白多糖;KERA:角膜蛋白多糖;AGT:血管紧张素原;C3:补体蛋白 C3;VEGF:血管内皮生长因子;A β A4: β 淀粉样蛋白 A4;TIMP:组织金属蛋白酶抑制剂;CLU:凝集素;CLSTN:钙结合蛋白;RBP:间皮受体视黄醇结合蛋白;SOD:细胞外超氧化物歧化酶;A2M: α 2-巨球蛋白;CFH:补体因子 H

2.2 房水

Chiang 等^[23]通过二维差异凝胶电泳法(2D-DIGE)和基质辅助激光解吸飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)方法共鉴定了 11 种与 DR 相关的差异表达蛋白质,这些差异表达蛋白参与多种生物学过程,包括炎症、视网膜血管微结构和细胞外基质的重组、血管生成、抗氧化和神经保护等,其中与炎症相关的差异表达蛋白包括载脂蛋白 A-1(apolipoprotein, APOA-1)、血清转铁蛋白、角蛋白 I 型细胞骨架 10、基质金属蛋白酶 13、硒蛋白 P 和胱硫醚 β -合酶(cystathionine beta-synthase, CBS)。硒蛋白 P 维持体内氧化还原信号平衡,在 DR 患者的房水中显著下调^[24];CBS 在 DR 患者房水中明显上调,该酶负责合成硫化氢,并与炎症和细胞凋亡相关^[25]。研究表明 CBS 促进同型半胱氨酸的表达,进而激活视网膜和大脑中的小胶质细胞并诱导视网膜和大脑的炎症反应^[26]。近期有研究采用液相色谱-质谱/质谱方法探讨 PDR 患者和对照组患者房水中差异表达的蛋白质,发现有 10 种与 PDR 相关,其中 APOA-1、APOA-2 和 APOA-4 与 PDR 的炎症反应密切相关^[27],提示促炎细胞因子可能通过

脉管系统或玻璃体进入房水,同时这些促炎细胞因子也可作为 PDR 患者房水中的生物标志物。

2.3 玻璃体

玻璃体中一些蛋白的差异表达可以反映 DR 不同阶段病理改变,包括 VEGF、色素上皮衍生因子(pigment epithelium-derived factor, PEDF)和人源性激肽释放酶结合蛋白(kallistatin)等。有研究运用三联四极杆液相色谱-质谱/质谱多反应监测模式,发现 NPDR 患者玻璃体中 kallistatin 的表达水平明显高于黄斑裂孔患者^[28]。在 db/db 小鼠诱导的糖尿病模型中,玻璃体腔过表达 kallistatin 可通过抗氧化、抗炎和抗纤维化等作用保护视网膜免受损伤^[29]。

Loukovaara 等^[30]进行了大规模的蛋白质组学研究,使用非标记液相色谱-质谱/质谱方法收集 138 份玻璃体液样本,结果显示与 NPDR 患者相比,PDR 患者玻璃体液中细胞外基质蛋白多糖和角膜蛋白多糖表达上调,这 2 个蛋白可能介导 PDR 炎症反应中趋化因子的募集过程,也是区别 NPDR 和 PDR 患者的玻璃体液生物标志物。此外,多项研究均证实炎症急性反应期的组分如 α -1-抗胰蛋白酶,白细胞介素,补体系统如 C3,凝血途径如纤维蛋白原、凝血酶原和其他炎症途径如 VEGF、 β 淀粉样蛋白 A4、组织金属蛋白酶抑制剂 1 均与 PDR 具有相关性^[1,27,30-31]。作为炎症过程的负调节因子,DR 患者玻璃体液中 PEDF 水平较对照组低,这表明在 DR 的病理过程中不仅促炎细胞因子增加,且平衡抗炎蛋白减少^[32]。凝集素是一种参与补体级联调节的蛋白质,在血-视网膜屏障的抗炎保护作用中发挥重要作用,与 PDR 相比,凝集素在对照组中呈高表达水平;体内实验也证明凝集素可降低视网膜屏障损伤,提高早期 DR 大鼠抗凋亡能力从而保护视网膜神经免受损伤^[33]。Gao 等^[34]在 PDR 患者玻璃体液中发现血管紧张素原上调和钙结合蛋白-1、间皮受体视黄醇结合蛋白、细胞外超氧化物歧化酶 3 和 PEDF 下调,这些差异表达的蛋白均可作为生物标志物,提示 PDR 可能发生或进展。

2.4 血浆

DR 是糖尿病的微血管并发症,其病理过程中蛋白质组变化在全身循环中较为明显。血浆是最常规的样本类型,DR 患者在接受手术治疗时,其血浆样本相对更容易获得^[35]。血浆样本中已报道许多与 DR 发病相关的蛋白,是 DR 的潜在生物标志物,如丝氨酸蛋白酶抑制因子 2、C-反应蛋白、C-C 基序趋化因子 5、细胞间黏附分子 1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、白细胞介素 6、戊聚糖相关蛋白 3、PEDF、纤溶酶原激活物抑制剂 1、血清淀粉样蛋白、趋化因子 CXCL12、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、血管黏附分子 1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、可溶性 VCAM-1 和 VEGF^[36-38]。ICAM-1 是核因子- κ B 信号通路的下游基因之一,视网膜中 ICAM-1 表达增加与视网膜中白细胞增多相关,TNF- α 触发视网膜血管内皮细胞炎症反应,内皮细胞中 ICAM-1 表达水平明显增加。体内实验结果表明链脲佐菌素诱导的 DR 模型第 11 个月和第 15 个月,降低小鼠血浆 ICAM-1 水平则可明显减少视网膜白细胞黏附^[39]。糖尿病患者血浆中炎症反应蛋白

(azurocidin, AZU1)明显升高,其升高水平在糖尿病并发症包括 DR 患者中尤为明显。在血管内皮细胞受到炎症刺激时,AZU1 由中性粒细胞释放,提示其在调节视网膜血管通透性中起作用^[40]。

Kim 等^[40]通过蛋白质谱的方法分析 NPDR 患者与未发生视网膜病变的糖尿病患者的血浆和玻璃体液,共鉴定出 27 个存在差异表达的蛋白,进一步通过多反应监测方法发现,APOA-1、 α 2-巨球蛋白、补体因子 H 和凝血酶原等蛋白可能是引发视网膜炎症反应的关键因子;此外,将维生素 E 结合蛋白、载脂蛋白 C-III、补体因子 B 和 kallistatin 作为联合生物标志物用于诊断 DR,其准确率可达 85%~100%。另一项蛋白质组学研究表明,和健康对照组相比,PDR 患者血清 α 1-糖蛋白水平升高,而 α -酸糖蛋白和 APOA-1 水平降低^[41]。此外,也有研究者发现 DR 患者血浆中有 5 种高表达的炎症蛋白 CRP、ICAM-1、可溶性糖蛋白 130、TNF 受体 I 和 VCAM-1,其中任 1 种蛋白在血浆中的高水平表达均能显著增加 DR 的患病风险^[42],提示这 5 种蛋白均可作为 DR 的生物标志物。

3 蛋白质组学在 DR 研究中的问题和局限性

蛋白质组学检测样本收集方面,泪液取样是生物流体样本收集中最侵入性最小的方法,但收集足够用于蛋白质组学检测的泪液仍存在一定难度。同时,部分合并干眼的患者泪液分泌明显减少,进一步增加取样难度。此外,泪液所含蛋白量较少,其中检测到的差异蛋白对于 DR 疾病分期和预后的意义仍有待证明。DR 视网膜血管渗漏导致房水和玻璃体液中蛋白水平发生改变,能够较好地反映视网膜疾病的进程并具有指导疾病治疗和提示预后的作用,但房水和玻璃体液样本的获取多为有创性操作,很难从健康人人体取材,因而缺乏健康对照。血浆样本是常规的临床检测样本,但在研究以糖尿病为基础疾病的视网膜病变时,血浆中差异表达的蛋白不仅提示视网膜的病理改变,也能体现糖尿病其他脏器并发症的严重程度。因此,在使用蛋白质组学方法进行研究时,可考虑采集多维度样本信息,从而更全面、综合地分析与疾病真正密切相关的蛋白信息。

蛋白质组学检测过程中,各生物样本中高丰度蛋白质会影响甚至掩盖低丰度差异表达蛋白的检测,容易导致关键差异表达蛋白的丢失^[31]。

蛋白质组学检测结果分析过程中,存在着大数据分析的共有难题。大规模蛋白质组学分析的主要局限性在于很难获取足够数量和体积的样本^[43],过去的大部分研究,特别是探索性的蛋白质组学研究,样本量相对较小,结果重现性较差。随着一些新型蛋白质组学技术的发展,如数据非依赖性采集模式,蛋白质组学研究在通量、重现性和灵敏度方面有所改善。目前,越来越多的研究不断细化疾病的分组和分型,如将 NPDR 患者按照病程长短、眼底表现差异等进一步细化亚组分型,而随着检测组数目的增加,具体哪 2 个组之间的差异蛋白更能反映疾病的病变情况还需要研究者不断探索。

蛋白质组学结果分析和讨论的过程中也存在有很大的困难。研究所发现的差异蛋白并不一定是与疾病发病机制高度

相关的关键蛋白。此外,不同生物学液体的检测结果也存在矛盾的情况,如 PDR 患者玻璃体液样本中 PEDF 水平显著降低,但其外周血中 PEDF 表达水平显著升高^[44]。因此蛋白质组学结果需要研究者进一步验证。

4 蛋白质组学在 DR 研究中的应用前景

对 DR 患者的生物流体进行蛋白质组学研究有助于提高对 DR 发病机制的认识。随着高通量蛋白分析技术的不断改进,这些研究在发现 DR 生物标志物和识别新的治疗靶点方面具有巨大潜力。此外,蛋白质组学的研究范围也逐步扩展至检测蛋白质翻译后修饰的水平,使研究者能够评估蛋白的糖基化、磷酸化和乙酰化状态,为 DR 的蛋白质组差异提供更多功能背景。最重要的是,蛋白质组学与其他组学分析相结合成为筛选新型治疗药物、评判治疗效果的新手段。总之,高通量蛋白质组学分析为 DR 的诊断、预后和治疗检测以及开发新疗法提供了新的方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Gardner TW, Sundstrom JM. A proposal for early and personalized treatment of diabetic retinopathy based on clinical pathophysiology and molecular phenotyping[J]. *Vision Res*, 2017, 139: 153-160. DOI: 10.1016/j.visres. 2017. 03. 006.
- [2] Wong TY, Cheung CM, Larsen M, et al. Diabetic retinopathy[J/OL]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16012 [2016-06-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27159554>. DOI: 10.1038/nrdp. 2016. 12.
- [3] 刘巨平,李筱荣.糖尿病视网膜病变:一种非可控性炎症[J]. *中华实验眼科杂志*, 2014, 32(1): 94-96. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160. 2014. 01. 019.
Liu JP, Li XR. Diabetic retinopathy: a nonresolving inflammation[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2014, 32(1): 94-96. DOI: 10.3760/cma.j.issn. 2095-0160. 2014. 01. 019.
- [4] Kelly AG, Panigrahy D. Targeting angiogenesis via resolution of inflammation[J/OL]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2022, 2022: a041172 [2022-08-10]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35817542>. DOI: 10.1101/cshperspect. a041172. [Published online ahead of print].
- [5] Wilkins MR, Sanchez JC, Gooley AA, et al. Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it[J]. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 1996, 13: 19-50. DOI: 10.1080/02648725. 1996. 10647923.
- [6] 冯乐,汪浩,王方.蛋白质组学在眼底病研究中的应用[J]. *中华实验眼科杂志*, 2011, 29(12): 1140-1144. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160. 2011. 12. 020.
Feng L, Wang H, Wang F. Application of proteomic in the research of vitreoretinopathy[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2011, 29(12): 1140-1144. DOI: 10.3760/cma.j.issn. 2095-0160. 2011. 12. 020.
- [7] RübSam A, Parikh S, Fort PE. Role of inflammation in diabetic retinopathy[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4): 942 [2022-08-10]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29565290>. DOI: 10.3390/ijms19040942.
- [8] Frey T, Antonetti DA. Alterations to the blood-retinal barrier in diabetes: cytokines and reactive oxygen species[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15(5): 1271-1284. DOI: 10.1089/ars. 2011. 3906.
- [9] Jousen AM, Poulaki V, Le ML, et al. A central role for inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy[J]. *FASEB J*, 2004, 18(12): 1450-1452. DOI: 10.1096/fj.03-1476fje.
- [10] Láfnis I, Gantner M, Murinello S, et al. Metabolomics in the study of retinal health and disease[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2019, 69: 57-79. DOI: 10.1016/j.preteyeres. 2018. 11. 002.
- [11] Herber S, Grus FH, Sabuncuo P, et al. Two-dimensional analysis of tear protein patterns of diabetic patients[J]. *Electrophoresis*, 2001, 22(9): 1838-1844. DOI: 10.1002/1522-2683(200105)22:9<1838::AID-ELPS1838>3.0.CO;2-7.
- [12] Funatsu H, Yamashita H, Sakata K, et al. Vitreous levels of vascular endothelial growth factor and intercellular adhesion molecule 1 are related to diabetic macular edema[J]. *Ophthalmology*, 2005, 112(5): 806-816. DOI: 10.1016/j.ophtha. 2004. 11. 045.
- [13] Najafi L, Malek M, Valojerdi AE, et al. Dry eye and its correlation to diabetes microvascular complications in people with type 2 diabetes mellitus[J]. *J Diabetes Complications*, 2013, 27(5): 459-462. DOI: 10.1016/j.jdiacomp. 2013. 04. 006.
- [14] 于靖,王方.增生性玻璃体视网膜病变眼玻璃体中差异蛋白质组的鉴定[J]. *中华实验眼科杂志*, 2011, 29(4): 350-354. DOI: 10.3760/cma.j.issn. 2095-0160. 2011. 04. 015.
Yu J, Wang F. Differentiation of vitreous proteome in human eye with proliferative vitreoretinopathy[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2011, 29(4): 350-354. DOI: 10.3760/cma.j.issn. 2095-0160. 2011. 04. 015.
- [15] Grus FH, Joachim SC, Pfeiffer N. Proteomics in ocular fluids[J]. *Proteomics Clin Appl*, 2007, 1(8): 876-888. DOI: 10.1002/prca. 200700105.
- [16] Fullard RJ, Snyder C. Protein levels in nonstimulated and stimulated tears of normal human subjects[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1990, 31(6): 1119-1126.
- [17] Kim HJ, Kim PK, Yoo HS, et al. Comparison of tear proteins between healthy and early diabetic retinopathy patients[J]. *Clin Biochem*, 2012, 45(1-2): 60-67. DOI: 10.1016/j.clinbiochem. 2011. 10. 006.
- [18] Al-Taeie IK, Al-Safar JJ, Al-Falahi YS, et al. The clinical significance of β 2-microglobulin in end-stage renal disease[J]. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 2003, 14(4): 492-496.
- [19] Xu S, Venge P. Lipocalins as biochemical markers of disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1482(1-2): 298-307. DOI: 10.1016/S0167-4838(00)00163-1.
- [20] Wang JC, Ku HY, Chen TS, et al. Detection of low-abundance biomarker lipocalin 1 for diabetic retinopathy using optoelectrokinetic bead-based immunosensing[J]. *Biosens Bioelectron*, 2017, 89(Pt 2): 701-709. DOI: 10.1016/j.bios. 2016. 11. 014.
- [21] CsözÉ, Boross P, Csutak A, et al. Quantitative analysis of proteins in the tear fluid of patients with diabetic retinopathy[J]. *J Proteomics*, 2012, 75(7): 2196-2204. DOI: 10.1016/j.jprot. 2012. 01. 019.
- [22] Hagan S, Martin E, Enriquez-de-Salamanca A. Tear fluid biomarkers in ocular and systemic disease: potential use for predictive, preventive and personalised medicine[J/OL]. *EPMA J*, 2016, 7(1): 15 [2021-10-01]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27413414>. DOI: 10.1186/s13167-016-0065-3.
- [23] Chiang SY, Tsai ML, Wang CY, et al. Proteomic analysis and identification of aqueous humor proteins with a pathophysiological role in diabetic retinopathy[J]. *J Proteomics*, 2012, 75(10): 2950-2959. DOI: 10.1016/j.jprot. 2011. 12. 006.
- [24] Barrett CW, Short SP, Williams CS. Selenoproteins and oxidative stress-induced inflammatory tumorigenesis in the gut[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74(4): 607-616. DOI: 10.1007/s00018-016-2339-2.
- [25] Qi F, Zhou Y, Xiao Y, et al. Promoter demethylation of cystathionine- β -synthetase gene contributes to inflammatory pain in rats[J]. *Pain*, 2013, 154(1): 34-45. DOI: 10.1016/j.pain. 2012. 07. 031
- [26] Elsherbiny NM, Sharma I, Kira D, et al. Homocysteine induces inflammation in retina and brain[J/OL]. *Biomolecules*, 2020, 10(3): 393 [2021-10-01]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32138265>. DOI: 10.3390/biom10030393.
- [27] Balaiya S, Zhou Z, Chalam KV. Characterization of vitreous and aqueous proteome in humans with proliferative diabetic retinopathy and its clinical correlation[J/OL]. *Proteomics Insights*, 2017, 8: 1178641816686078 [2021-10-01]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28469465>.

- DOI:10.1177/1178641816686078.
- [28] 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.
- [29] Gao L, Li P, Zhang J, et al. Novel role of kallistatin in vascular repair by promoting mobility, viability, and function of endothelial progenitor cells [J/OL]. J Am Heart Assoc, 2014, 3(5): e001194 [2021-10-01]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25237049>. DOI: 10.1161/JAHA.114.001194.
- [30] 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.
- [31] Wang H, Feng L, Hu J, et al. Differentiating vitreous proteomes in proliferative diabetic retinopathy using high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. Exp Eye Res, 2013, 108: 110-119. DOI:10.1016/j.exer.2012.11.023.
- [32] Shitama T, Hayashi H, Noge S, et al. Proteome profiling of vitreoretinal diseases by cluster analysis [J]. Proteomics Clin Appl, 2008, 2(9): 1265-1280. DOI:10.1002/prca.200800017.
- [33] Zhang C, Nie J, Feng L, et al. The emerging roles of clusterin on reduction of both blood retina barrier breakdown and neural retina damage in diabetic retinopathy [J]. Discov Med, 2016, 21(116): 227-237.
- [34] Gao BB, Chen X, Timothy N, et al. Characterization of the vitreous proteome in diabetes without diabetic retinopathy and diabetes with proliferative diabetic retinopathy [J]. J Proteome Res, 2008, 7(6): 2516-2525. DOI:10.1021/pr800112g.
- [35] Puspaparah P, Lee LH, Abdul Kadir K. Molecular markers of diabetic retinopathy; potential screening tool of the future? [J/OL]. Front Physiol, 2016, 7: 200 [2021-10-06]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27313539>. DOI:10.3389/fphys.2016.00200.
- [36] Sasongko MB, Wong TY, Jenkins AJ, et al. Circulating markers of inflammation and endothelial function, and their relationship to diabetic retinopathy [J]. Diabet Med, 2015, 32(5): 686-691. DOI:10.1111/dme.12640.
- [37] Yang HS, Woo JE, Lee SJ, et al. Elevated plasma pentraxin 3 levels are associated with development and progression of diabetic retinopathy in Korean patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(9): 5989-5997. DOI:10.1167/iovs.14-14864.
- [38] Rajab HA, Baker NL, Hunt KJ, et al. The predictive role of markers of Inflammation and endothelial dysfunction on the course of diabetic retinopathy in type 1 diabetes [J]. J Diabetes Complications, 2015, 29(1): 108-114. DOI:10.1016/j.jdiacomp.2014.08.004.
- [39] Ipek E, Yolcu M, Yildirim E, et al. A novel marker of inflammation: azurocidin in patients with ST segment elevation myocardial infarction [J/OL]. Int J Mol Sci, 2018, 19(12): 3797 [2021-10-07]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30501029>. DOI: 10.3390/ijms19123797.
- [40] 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.
- [41] Liu YP, Hu SW, Wu ZF, et al. Proteomic analysis of human serum from diabetic retinopathy [J]. Int J Ophthalmol, 2011, 4(6): 616-622. DOI:10.3980/j.issn.2222-3959.2011.06.08.
- [42] Sharma S, Purohit S, Sharma A, et al. Elevated serum levels of soluble TNF receptors and adhesion molecules are associated with diabetic retinopathy in patients with type-1 diabetes [J/OL]. Mediators Inflamm, 2015, 2015: 279393 [2021-10-08]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26339132>. DOI:10.1155/2015/279393.
- [43] Jay NL, Gillies M. Proteomic analysis of ophthalmic disease [J]. Clin Exp Ophthalmol, 2012, 40(7): 755-763. DOI: 10.1111/j.1442-9071.2012.02788.x.
- [44] He X, Cheng R, Benyajati S, et al. PEDF and its roles in physiological and pathological conditions; implication in diabetic and hypoxia-induced angiogenic diseases [J]. Clin Sci (Lond), 2015, 128(11): 805-823. DOI:10.1042/CS20130463.

(收稿日期:2021-12-16 修回日期:2022-08-10)

(本文编辑:张宇 骆世平)

读者·作者·编者

本刊对中英文摘要的要求

论著或综述文稿正文请撰写中英文摘要。原创性论著文稿要求为结构式摘要,包括目的(Objective)、方法(Methods)、结果(Results)和结论(Conclusions)4个要素,摘要应能够回答以下问题:(1)为什么进行这项研究。(2)主要用什么方法进行的研究。(3)获得什么主要结果。(4)通过研究得出什么结论等。其中目的部分为本课题对上述提出问题设立的目标。方法部分应提供研究对象、样本量、分组情况、各组的干预情况、与研究相适应的观察或检测指标,获得结局指标的手段和设备等。临床研究请说明是前瞻性研究、回顾性研究还是观察性研究。结果部分请客观描述研究的主要发现,包括主要的形态学检查表现、相关的关键性或主要的量化资料以及相应的统计学比较结果,须写明统计学量值及其概率值。结论部分请提出与本研究论据直接相关的、必然的推论,避免得出过度推测性、评价性和扩大化的结论。摘要请用第三人称客观表述,不列图表,不引用文献,不加评论和解释。英文摘要应与中文摘要内容相对应,但为了对外交流的需要,可以略详细。英文摘要应包括论文文题(正体)及全部作者姓名(汉语拼音,姓在前,首字母大写,名在后,首字母大写,双字连写。如:Yin Xiaohui)、标准化的单位名称、城市名称(汉语拼音)、邮政编码及国家名称(全部为斜体)。并请在另起一行处提供通信作者姓名的汉语拼音和Email地址,如 *Corresponding author: Yin Xiaohui, Email: xiaohui@126.com*。专家述评或综述类文稿请撰写指示性中英文摘要,摘要内容应包含研究涉及的概念、研究的目的、综述资料的来源、复习的文献量、研究的新发现或应用领域、综合的结果和结论及其意义等必要的信息。

研究论文为前瞻性研究者应在中英文摘要结束处提供临床试验注册号,以“临床试验注册(Trial registration)”为标题,提供注册机构名称和注册号。前瞻性临床研究的论著摘要应注明遵循 CONSORT 声明(Consolidated Standards of Reporting Trials)(<http://www.consort-standart.org/home>)。

(本刊编辑部)