

糖尿病视网膜病变的蛋白质组学研究现状

周顺¹, 王雁^{2,3}, 冷静¹, 赵勇^{2,3}

引用:周顺,王雁,冷静,等. 糖尿病视网膜病变的蛋白质组学研究现状. 国际眼科杂志, 2025,25(3):428-433.

基金项目:北京医卫健康公益基金会医学科学研究基金项目(No. YWJKJHKYJJ-KHE2403)

作者单位:¹(830000)中国新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市,新疆医科大学第四临床医学院;²(830000)中国新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市,新疆医科大学附属中医医院眼科;³(830000)中国新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市,新疆维吾尔自治区中医药研究院

作者简介:周顺,男,在读硕士研究生,研究方向:眼底病。

通讯作者:赵勇,男,毕业于解放军医学院,博士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:眼视光、玻璃体视网膜疾病。13999972362@163.com

收稿日期:2024-06-21 修回日期:2025-01-20

摘要

随着糖尿病患病率的增加和人群寿命的延长,糖尿病视网膜病变(DR)已成为许多国家工作年龄人群视力丧失的主要原因。DR发病机制错综复杂,目前尚未完全阐明,且DR的治疗手段未有较大改善,主要为视网膜激光光凝治疗、抗血管内皮生长因子(VEGF)治疗和玻璃体切割手术治疗,目前的治疗方法不仅存在短板,而且给患者带来严重的经济负担。所以需要新的方法探索DR的发病机制,发掘新的治疗手段或改良目前的治疗,提高DR患者满意度。近年来随着蛋白质组学的兴起,通过蛋白质组学定性定量技术识别、量化所有可观察到的DR患者和DR大鼠的血液、视网膜、玻璃体液、房水和泪液中表达的蛋白和药物干预后差异表达蛋白,为进一步探索DR发病机制、诊断和治疗提供了新思路,在DR早发现早治疗提出了新见解。文章就近年来DR的蛋白质组学进行综述,为DR的诊断与治疗提供新思路。

关键词:糖尿病视网膜病变;蛋白质组学;差异蛋白

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2025.3.16

Current status of proteomics research in diabetic retinopathy

Zhou Shun¹, Wang Yan^{2,3}, Leng Jing¹, Zhao Yong^{2,3}

Foundation item: The Medical Science Research Fund Project of Beijing Medical and Health Foundation (No. YWJKJHKYJJ-KHE2403)

¹The Fourth Clinical Medical College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China;

²Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000,

Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; ³The Traditional Chinese Medicine Research Institute of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Zhao Yong. Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; The Traditional Chinese Medicine Research Institute of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. 13999972362@163.com

Received:2024-06-21 Accepted:2025-01-20

Abstract

• Diabetic retinopathy (DR) has emerged as the leading cause of vision loss among working-age people in many countries under the increasing prevalence of diabetes and the longevity of the population. The pathogenesis of DR is complicated and has not been fully elucidated at present, while the treatment methods of DR have not been greatly improved, mainly retinal laser photocoagulation, anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) treatment and vitrectomy surgery. The current treatment methods not only have shortcomings, but also bring serious economic burden to patients. Therefore, new methods are needed to explore the pathogenesis of DR, discover new treatments or improve current treatments, and improve the satisfaction of DR patients. In recent years, the identification and quantification of proteins expressed in blood, retina, vitreous humor, aqueous humor, and tears of all observable DR patients and DR rats and differentially expressed proteins after drug intervention have provided new ideas for further exploring the pathogenesis, diagnosis and treatment of DR with the rise of proteomics, which put forward new insights into early detection and treatment. The proteomics of DR in recent years are reviewed, in order to provide new ideas for the diagnosis and treatment of DR.

• KEYWORDS: diabetic retinopathy; proteomics; differentially expressed protein

Citation: Zhou S, Wang Y, Leng J, et al. Current status of proteomics research in diabetic retinopathy. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2025,25(3):428-433.

0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病微血管并发症中最常见的疾病类型^[1]。DR的患病率在近年来呈上升趋势,2020年,全球患有DR的成年人数量约为1.0312亿,到2045年,预计将增加到1.605亿^[2]。2010年我国糖尿病人群DR患病率为18.45%,45岁以上

DR 患者约 1 316 万人^[3],据预测^[2,4],2045 年我国糖尿病患者将达到 1.74 亿人,DR 人群将超过此前的 2 倍。DR 的发病机制非常复杂,受多种信号通路和细胞过程的调节,糖酵解途径的异常增加会产生大量中间代谢物,这些代谢物可以分流到不同的损伤途径,包括多元醇途径、己糖胺途径、PKC 途径和 AGEs 途径^[5]。虽然目前国内外对 DR 病理机制做了大量研究,但目前对 DR 的发病机制还不是十分明确,且 DR 的治疗手段未有较大改善,仍然存在短板,如患者对抗血管内皮生长因子(VEGF)药物敏感性因人而异,激光光凝治疗和玻璃体切割手术对视网膜损伤较大等。所以需要新的方法探索 DR 的发病机制,发掘新的治疗手段或改良目前的治疗。近年来蛋白质组学的兴起,通过蛋白质组学定性定量技术对 DR 患者和糖尿病大鼠的泪液、房水、玻璃体液、视网膜和血液中表达的蛋白质和药物干预后差异表达蛋白进行分析,为进一步探索 DR 发病机制、诊治提供了新思路。本文就近年蛋白质组学技术及其在 DR 中的应用进行综述。

1 蛋白质组与蛋白质组学

蛋白质组的概念(proteome)首先于 1994 年由澳大利亚学者 Wilkins 与 Williams 提出^[6]。这是由英文蛋白质(protein)与基因组(genome)组合而成的新的英文名词。目前,人类蛋白质组计划已经启动,同时建立了多个公共蛋白质组数据库,解释蛋白质组数据的指南也已经出版并在最近更新^[7],加速了人类对疾病诊断标志物及治疗靶点的研究,但通过蛋白质组技术来表征整个人类蛋白质组,仍然是目前的重大挑战^[8]。蛋白质组是指一个细胞或组织基因组所表达的全部蛋白质。蛋白质组学是从整体的角度分析生物体内动态变化的蛋白质组成、亚细胞定位、表达水平及修饰状态,了解蛋白质组之间的相互作用与联系,揭示蛋白质功能与细胞生命活动规律,进而了解疾病的发生与发展。

2 蛋白质组学研究内容

蛋白质组学作为蛋白质组实验和数据分析的结合,从整体上分析了蛋白质的组成、结构、表达及蛋白质间的相互作用和联系^[9]。同时为基因组学和转录组学提供补充信息^[10]。随着过去数十年技术的进步,蛋白质组学已经从传统的免疫组织化学染色、Western blotting 和 ELISA 发展到高通量的方法,如质谱分析、组织微阵列和蛋白质通路阵列^[10]。

3 DR 与蛋白质组学

3.1 DR 与血清蛋白质组学

随着血清蛋白质组学技术的深入发展,以血清为标本所开展的蛋白质组学研究,能更加清晰、真实地显示蛋白质的表达情况。Xiao 等^[11]使用基于 iTRAQ 的定量蛋白质组学系统地比较了未患 DR 的糖尿病患者和 PDR 患者血浆细胞外小囊泡(sEV)的蛋白质组学特征,检测到 33 种蛋白质在 PDR 血浆中表达增高,57 种表达降低,而这些表达增高的蛋白质,在糖尿病组中的水平低于对照组,其推测外泌体蛋白减少是糖尿病早期微血管细胞凋亡引起的结果,同时血浆外泌体蛋白的变化可能反映了 DR 增殖变化过程;研究者对各组患者血浆及玻璃体液蛋白质进行了 ELISA 验证,与对照组和 DM 患者相比,DR 患者血浆 sEVs 和玻璃体中肿瘤坏死因子- α 诱导蛋白 8(tumor necrosis factor- α induced protein 8, TNFAIP8)表达均上调,同时通过体外实验证明了

TNFAIP8 可能参与了 PDR 视网膜新生血管形成,其可能是 DR 潜在治疗靶点^[12]。糖基化是一种翻译后修饰,在决定蛋白质结构、功能和稳定性方面起着关键作用^[13]。刘银萍^[14]通过 2D-DIG 联合 MALDI-TOF-TOF MS 技术发现了 4 个对探讨发病机制和诊断疾病有意义的相对低丰度、低分子量蛋白: β_2 -糖蛋白 I (β_2 -glycoprotein I, β_2 -GP I)、 α_2 -HS 型糖蛋白 (α_2 -HS-glycoprotein, AHSG)、 α_1 -酸性糖蛋白 (α_1 -acid glycoprotein, α_1 -AGP)和载脂蛋白 A-1 (apolipoprotein A-1, apo A-1);其中只有 β_2 -GP I 随着 DR 病情发展表达水平逐渐上调,但在 NPDR 与 PDR 组之间的表达无明显差异,推测 β_2 -GPI 可能与 DR 严重程度无关,但可以作为 DR 早期诊断及疾病转归的潜在血清蛋白分子标志物;而在一项关于 DR 房水载脂蛋白的研究^[15]结果显示, β_2 -GP I 在房水中的浓度随着 DR 的病情发展而增加,其浓度增加可能是为了维持视网膜稳态、减轻炎症因子和 VEGF 的作用。目前尚缺乏对 β_2 -GPI 在 DR 发病机制的确切研究,同时不同阶段 DR 血清 β_2 -GPI 梯度浓度如何也尚值得进一步研究。Sharma 等^[16]对非 DR 患者及 DR 患者血清进行了糖蛋白组学分析,发现 DR 患者血清糖蛋白组中共有 11 种糖蛋白的 15 种糖肽发生显著改变(5 种上调,10 种下调),这些糖蛋白通过其肽酶活性或调节功能,在细胞外基质的维护和补体系统中发挥重要作用。同时该研究还发现在 DR 患者的血清中, α -胰蛋白酶抑制剂重链 1 (inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1, ITIH1)^[17]的糖基化在 S-656 位点减弱。ITIH1 的糖基修饰可在胰岛素受体和胰岛素之间产生物理屏障,加剧胰岛素抵抗并增加炎症。 α -2-hs-糖蛋白^[18]是另一种通过调节蛋白酶活性引起外周胰岛素抵抗的糖蛋白。高血糖可诱导视网膜血管内皮细胞中 TLR4 的过表达和激活,促进 DR 的发展^[19],而 AHSG 作为 TLR4 的内源性配体,进一步促进促炎细胞因子的表达和胰岛素抵抗^[20]。以往的研究发现 AHSG 在 DR 患者血清中表达水平升高,其参与 DR 发生发展的机制可能是促进高血糖和高胰岛素状态下血管生成和炎症因子的表达^[21],而在本研究中 AHSG 在 DR 患者血清中表达水平显著降低,可能与本研究样本量较小有关。抗凝血酶 III (SERPINC1) 是一种丝氨酸蛋白酶抑制剂,参与抑制凝血级联反应;其通过与肝素样物质相互作用,为血管内皮提供抗炎作用^[22]。SERPINC1 浓度在糖尿病患者的血清中是正常的,但是在非酶促糖基化(即糖基化)水平与功能之间显示出负相关^[23]。Sharma 等^[16]研究表明 SERPINC1 在 DR 患者的血清中糖基化程度更高,其通过引起血管壁的炎症反应参与 DR 病理过程,但是否有其他途径引起 DR 目前尚未报道。未来的研究若能区分每种糖蛋白的个体作用以及涉及的细胞途径,这将阐明它们潜在的发病机制或有益作用,并为 DR 的治疗打开大门。

3.2 DR 与视网膜蛋白质组学

视网膜上的蛋白质直接反映糖尿病或者 DR 发病前后的病理状态。Sundstrom 等^[24]发现糖尿病诱发的视网膜神经变性与阿尔茨海默病和帕金森病等脑神经退行性疾病具有共同的致病途径,对糖尿病视网膜神经退行性变的深入研究可能有助于进一步了解糖尿病患者大脑中发生的神经退行性变过程。Rajendran 等^[25]通过对眼库中 DM 眼视网膜进行液相色谱

谱-串联质谱(LC-MS/MS)分析,重点关注视网膜周细胞,并深入分析了其相关蛋白,玻连蛋白、补体 C3、C4 和 C9 参与补体和凝血级联,载脂蛋白 A1、C3、H 参与胆固醇代谢和过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路,凝溶胶蛋白、视黄醇结合蛋白 4、乳运铁蛋白、补体 C3 和 C9 参与 Rap1 信号通路和肌动蛋白细胞骨架的调节,进一步说明 DR 发病机制错综复杂,糖尿病周细胞的蛋白质组图谱可能为未来 DR 研究提供有价值的资源。Christopher 等采用液相色谱/质谱蛋白质组学和高通量筛选技术,通过鉴定野生型和糖尿病小鼠视网膜中蛋白质和差异糖基化蛋白质的整体表达水平的变化表明,DR 会改变视网膜中代谢相关蛋白和突触蛋白的整体表达水平和 O-糖基化,同时该研究对 DR 中视网膜 O-糖蛋白是如何改变做了系统阐述^[26]。Shahulhameed 等^[27]研究发现 DR 毛细血管壁中补体 C3 沉积显著增加,基底膜增厚,同时 DR 中补体因子 H(complement factor H,CFH)^[28]表达与 CD11b⁺激活的小胶质细胞共定位提示 DR 视网膜中 CFH 来源于小胶质细胞。CFH 是补体系统的替代途径负调节因子,CFH 水平升高可能是抑制 DR 视网膜替代途径过度激活的反馈机制,早期 DR 至晚期 DR 视网膜中 CFH 和 CD11b 表达逐渐增加进一步表明替代途径在疾病进展中起关键作用;同时靶向小胶质细胞介导的补体激活可以减少潜在的神经炎症和异常血管生成,为 DR 的有效治疗与管理提供方向。视网膜色素上皮(RPE)是血液-视网膜屏障的重要组成部分,在维持视网膜稳态中起着关键作用。在 DR 的早期阶段可以检测到 RPE 的改变。Ambrose 等^[29]对鼠和人的 DR 的体内模型以及氧化应激的体外模型进行视网膜蛋白质学分析,利用蛋白质-代谢物相互作用揭示了线粒体功能障碍可能与 DR 发病机制的各个阶段密切相关,包括视觉周期改变、细胞骨架重塑、脂质浓度改变、炎症、抗增殖蛋白(PHB)耗竭、微管蛋白磷酸化和能量代谢改变。此研究通过蛋白质-代谢物相互作用证明了 DR 的病因,并提出了减缓 DR 进展的治疗方法如:PKC 抑制剂、PI3K 和 AKT 的小分子抑制剂、血管紧张素 II 抑制剂等。Aicha 等比较了非糖尿病小鼠与接受钙蛋白酶抑制剂(calpain inhibitor,CI)治疗的小鼠视网膜光感受器蛋白质的差异,一种含 WW 结构域的氧化还原酶(Wwox)在糖尿病小鼠的光感受器中表达显著增加 2 mo,并可被 CI 抑制,其结果表明,抑制钙蛋白酶活化或减少 Wwox 上调是治疗早期 DR 的新靶点^[30-31]。Maria 等发现晶状体蛋白是氧诱导性视网膜病变(OIR)早期缺氧环境诱导的最突出的蛋白质,而调节血管生成与血管通透性的肌球蛋白复合物和丝蛋白 A-R-Ras 轴在血管生成高峰期表现突出^[32]。进一步研究这些潜在的新治疗靶点,有望防止缺氧诱导视网膜疾病的病理性血管生成及改变血管通透性。闫梦阳^[33]发现谷胱甘肽 S-转移酶 $\alpha 1$ 和 $\alpha 4$ (GST $\alpha 1$ 和 GST $\alpha 4$)可以作为初步筛查 DR 的生物标志物,而褪黑素可以作为治疗靶点,并推测褪黑素可能通过调节减轻高糖条件下视网膜的氧化应激和细胞凋亡发挥保护作用。

3.3 DR 与玻璃体蛋白质组学 玻璃体蛋白质组不仅反映了视网膜中发生的病理事件,而且玻璃体本身的变化在玻璃体视网膜疾病的发生和发展中起着核心作用^[34]。Zou 等^[35]通过采用液相色谱-串联质谱技术(LC-MS/MS)测定接受康柏西普(IVC)和未接受 IVC 治疗的 PDR 患者的

玻璃体蛋白谱,证明了 IVC 除了降低玻璃体内血管内皮生长因子水平外,还可能改变 PDR 患者的玻璃体蛋白谱,其差异调节蛋白参与免疫应答、血小板脱颗粒、补体激活和炎症;将抗 VEGF 疗法与针对 DR 病理生理途径的其他新疗法如地塞米松植入剂相结合,可能会进一步优化治疗结果。同样,Santos 等^[36]先通过小样本 PDR 玻璃体蛋白质组学发现的补体、凝血级联反应和急性期反应相关的蛋白在 PDR 玻璃体中富集,而与细胞外基质、血小板脱颗粒、溶酶体降解、细胞黏附和中枢神经系统发育高度相关的蛋白质表达不足;随后通过扩大样本量找出了 DR 与其他视网膜疾病的鉴别标志物,如补体和凝血成分(补体 C2 和凝血酶原)、急性期介质($\alpha 1$ -抗糜蛋白酶)、黏附分子(例如肌球蛋白、半乳糖凝集素-3 结合蛋白)、细胞外基质糖蛋白 Opticin 和神经退行性生物标志物(β -淀粉样蛋白、淀粉样蛋白 2)^[37]。此外,Sen 等^[38]发现 DR 的发病机制可能与纤维蛋白原 γ 链、纤维蛋白原 β 链和碳酸酐酶 1, $\alpha 1$ -抗糜蛋白酶、视黄醇结合蛋白 3、神经丝蛋白酶、胱抑素 C、羧肽酶 E 和组织蛋白酶-D 等蛋白酶显著上调有关。通过使用酶联免疫吸附测定(ELISA)或蛋白质印迹进行实验验证,进一步确定这些蛋白质与疾病状态的因果关系,可将它们作为生物标志物或治疗靶点。也有学者通过对 DR 进行蛋白质组学和基因组学综合分析,拟找出可能治疗靶点,如 Anddre 等对 DR 玻璃体液样本进行蛋白质组学分析,并独立分析包括 1 330 例 DR 患者和 395 155 例对照的全基因组数据集(UKBiobank TOPMed-imputed),发现了先前未知的 DR 通路(RUNX2 信号转导及成分 MMP-13 和 LGALS3)的上调,且通过生物信息学分析确定了美国食品和药物管理局(FDA)批准的药物(雷替曲塞、注射用培美曲塞二钠、格列本脲、丙磺舒、盐酸克林霉素和替格瑞洛)理论上也可以调节该途径^[39]。但这些理论上的药物尚需实验研究进行验证。Niu 等^[40]发现组织蛋白酶 B 或 D 可下调高血糖诱导的抗自噬和促凋亡作用,从而可能导致高血糖状态下的视网膜血管损伤。此研究揭示了 PDR 中组织蛋白酶参与的新型致病机制,并揭示了 DR 潜在的治疗靶点。Li 等^[41]采用液相色谱-串联质谱技术(LC-MS/MS)对 PDR 患者玻璃体液蛋白进行分析鉴定出 88 个高表达蛋白,大多数高表达蛋白参与补体和凝血级联反应,调节胞吐和止血作用,胞吐作用在 PDR 进展过程中的机制有待进一步研究。促进这些蛋白高表达且值得重点关注的转录因子包括过氧化物酶体增殖激活受体(PPARA)、类视黄醇 X 受体(RXR)、肝 X 受体(LXR),上调这些转录因子可以发挥视网膜保护作用而延缓 DR 进展,为未来研究 PPARA/RXR/LXR 激动剂治疗 DR 提供了证据。激肽原 1(kininogen1, KNG1)是一种多功能蛋白,在炎症、凝血、血管生成及纤维蛋白的溶解中发挥重要作用^[42-43],目前关于 KNG1 在 DR 患者的研究很少。李鉴清^[44]对糖尿病患者与未患糖尿病的 IMH 患者的玻璃体蛋白质组学分析研究表明,激肽原 1(kininogen1, KNG1)是 PDR 病理机制中的关键蛋白质, KNG1 可能成为 PDR 潜在治疗靶点。玻璃体液中存在的蛋白质差异,为研究者提供了病理生理学见解,并为未来的研究方向提供了建议。

3.4 DR 与房水蛋白质组学 房水(AH)是眼睛前房中的液体,它是由睫状体上皮产生的^[45]。AH 是许多眼部健康

功能不可或缺的组成部分,包括营养和氧气供应、代谢废物清除、眼部免疫以及眼部形状和屈光^[46]。AH的主要成分是蛋白质、水和电解质。尽管与血清相比,AH中的蛋白质浓度相对较低,但它们对维持眼前节稳态至关重要^[47]。Chen等^[48]使用基于液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)的蛋白质组学方法对PDR患者在使用三种玻璃体内抗VEGF药物(雷珠单抗、阿柏西普和康柏西普)治疗前后的房水蛋白谱进行了前瞻性分析,发现无论是哪种治疗策略,VEGF信号通路和EGFR酪氨酸激酶抑制剂耐药通路都是被激活的,同时发现醛脱氢酶3A1(aldehyde dehydrogenase 3A1,ALDH3A1)是一种以前未报道的与血管生成有关的蛋白质,并且与三个抗VEGF治疗组中存在差异表达,其RARRES1、RBP4可能是PDR治疗的新靶点^[49-50]。接受不同抗VEGF药物治疗的PDR患者AH的蛋白质组学发生变化,可能是患者对抗VEGF治疗反应的异质性,这为未来PDR发病机制的研究提供了坚实的基础。Han等^[49]首次报道了与NPDR组相比,PDR组中与VEGFR途径相关的AH蛋白丰度降低,与免疫系统相关的AH蛋白表达下调和上调。此外,还发现AH中胱抑素3(cystatin,CST3)浓度与DR严重程度和中央视网膜厚度呈负相关,表明CST3是DME治疗中独立于VEGFR途径的潜在治疗靶点^[51]。Saucedo等^[15]研究发现AH中载脂蛋白A I、A II、C I、C III、D、E和H的浓度随着DR的进展而增加,这表明它们在DR的发病机制中发挥作用,其中载脂蛋白D、H、A I在抗炎抗新生血管形成中发挥着重要作用,其临床价值值得深入研究。

3.5 DR与泪液蛋白质组学 泪液是唯一可以通过非侵入式方法获取且反映视网膜病变的液体^[52]。泪液生物标志物可能为检测DR风险增加或疾病进展的糖尿病患者提供一种非侵入性策略^[53]。Amorim等^[54]运用基于质谱(MS)的鸟枪法蛋白质组学和基于微球的多重检测方法分析NPDR与PDR泪液蛋白。与对照组相比,NPDR和PDR泪液中分别有42和26个蛋白表达差异,显著高表达的蛋白质参与了维持视网膜稳态的关键过程如内皮细胞迁移的调节和血管直径的维持等。NPDR组中IL-2/-5/-18、TNF、MMP-2/-3/-9浓度及PDR组中IL-5/-18和MMP-3/-9浓度显著升高,而PDR组中IL-13浓度较低,同时通过多重荧光免疫组化和受试者工作曲线评估了泪液中IL-4和TNF浓度对区分非DR的T2D患者与NPDR患者的准确性,这对预测早期NPDR的发生有一定帮助;该研究还发现与NPDR组相比,PDR组的TNF水平降低,而其他研究^[55]在PDR组的泪液中检测TNF水平显著升高,提示需要对TNF因子在DR发展中的确切作用进行更多研究。也有学者对DR动物模型进行泪液蛋白组学分析,如Dagmara等在糖尿病犬模型的泪膜中发现了一种上调的蛋白SRC激酶信号抑制剂1(SRC kinase signaling inhibitor 1, SRCIN1)^[56]。8种蛋白下调:磷脂酰肌醇-4-激酶II型 α (PI4K II α)、黑色素浓缩激素原(Pro-MCH)、Flotillin-1、蛋白单ADP核糖基转移酶、含GRIP和卷曲螺旋结构域的蛋白2、四肽重复蛋白36、丝氨酸蛋白酶抑制剂和前纤层蛋白A/C,并探讨了上述蛋白与糖尿病病因病理学的可能联系。总之,通过识别疾病的关键分子对开发新的治疗途径和现有药物的新用途至关重要(表1)。

表1 目前DR蛋白质组学研究中重要意义的部分蛋白

| 组织 | 潜在生物标志物或治疗靶点 |
|-----|--|
| 血液 | TNFAIP8、 β_2 -GPI、AHSG、SERPINC1 |
| 视网膜 | CFH、Wwox、CI、GST α 1、GST α 4、玻连蛋白 |
| 玻璃体 | MMP-13、LGALS3、组织蛋白酶B或D、KNG1 |
| 房水 | ALDH3A1、CST3 |
| 泪液 | IL-2、IL-18、IL-5、TNF |

4 展望

近年来,随着蛋白质组学技术的进步,通过分析DR患者和糖尿病动物模型的眼部生物液体的蛋白质组学研究对我们理解DR发病机制做出了重要贡献。随着高通量蛋白分析技术的不断改进,蛋白质组学技术不仅在生物标志物的发现和新治疗靶点的鉴定方面具有巨大的潜力,也是筛选新型治疗药物效果的有价值的工具。血清蛋白质组学中,更多涉及的是糖蛋白的变化如 β_2 -GPI、AHSG,但也发现了如TNFAIP8、SERPINC1可以作为潜在治疗靶点的蛋白,同时血浆外泌体蛋白质变化可能作为DR发生发展的潜在标记物,用于DR的早期诊断,但是目前尚缺乏具体的外泌体蛋白质用于检测DR的发展,这可能需要同阶段DR及大量的样本才能完成;虽然血液最容易获得液体,但它反映的是全身变化,这些变化可能反映也可能不反映组织特异性疾病(如DR)中的变化,这可能需要研究者们反复验证才能得出可靠的结果;视网膜蛋白质组学不仅发现了缺氧、炎症相关的蛋白质,同时也有助于进一步了解DR患者神经退行性病变过程,让临床工作者更加注重糖尿病视神经病变,若能进一步研究胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein,GFAP)在Müller细胞与星形胶质细胞之间异常表达的确切机制,可能有助于糖尿病视神经病变的治疗;目前运用最多的眼部生物液体为玻璃体液,但也存在缺点:玻璃体液通常取材不方便,且DR患者存在血-视网膜屏障的破坏对研究结果有影响;在玻璃体蛋白质组学研究中,我们可能需更加重视KNG1在DR中的病理机制,因为KNG1在DR中的发病机制尚少,并且在炎症、凝血,特别是血管形成中发挥很重要的作用,有望成为新的治疗靶点。在有关抗VEGF房水蛋白质组学中,可能为DR的治疗药物的开发提供新的方向,特别是双靶点药物,例如抗VEGF和抗RBP4双靶点药物,然而未来需要进一步的动物和临床研究。泪液蛋白质组学进一步证明了炎症与DR息息相关。在以上生物标本的蛋白质组学中,都涉及到了补体和凝血级联通路。关于DR的蛋白质组学的研究,针对NPDR和DME的研究较以往增加,但是样本量都较小。此外,运用蛋白质组学预测药物敏感性方面也有待进一步研究,如:地塞米松玻璃体内植入剂或联合不同抗VEGF药物治疗DR前后相关蛋白质的横向及纵向差异等。同时,由于DR蛋白质组学分析时,DR组与非DR组之间存在一定的选择偏倚等,如果将蛋白质组学分析的结果运用孟德尔随机化等方法进行验证可以增加结果可靠性。若能进一步证明泪液和视网膜或视网膜相关液体(如玻璃体液)之间的联系,用泪液蛋白或泪液中外泌体对不同阶段DR进行蛋白质组学研究将会变得简单而可靠;目前关于的DR蛋白质组学大多关注于蛋白质种类和数量的差异性,对蛋白质组翻译后修饰的异常研究尚少,如:乳酸化修饰、乙酰化修饰等,若能对

差异蛋白的活性及结构进一步研究,可能对推动 DR 做出巨大贡献。随着医学与实验技术的发展,越来越多的 DR 相关蛋白或异常蛋白将会被发现,从而推动 DR 病因学的发展,了解更加全面的 DR 致病信号通路,寻找更加精确的治疗靶点。

利益冲突声明: 本文不存在利益冲突。

作者贡献声明: 周顺论文选题与修改,初稿撰写;王雁、李宁、冷静文献检索;赵勇选题指导,论文修改及审阅。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

[1] Antonetti DA, Klein R, Gardner TW. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med*, 2012,366(13):1227-1239.

[2] Teo ZL, Tham YC, Yu M, et al. Global prevalence of diabetic retinopathy and projection of burden through 2045: systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*, 2021,128(11):1580-1591.

[3] Song PG, Yu JY, Chan KY, et al. Prevalence, risk factors and burden of diabetic retinopathy in China: a systematic review and meta-analysis. *J Glob Health*, 2018,8(1):010803.

[4] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022,183:109119.

[5] 郭明义,刘谨慎,雷雨馨,等.糖尿病视网膜病变发病机制及诊疗的研究进展.世界最新医学信息文摘,2023,23(36):31-37.

[6] 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. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 1996,13:19-50.

[7] Deutsch EW, Lane L, Overall CM, et al. Human proteome project mass spectrometry data interpretation guidelines 3.0. *J Proteome Res*, 2019,18(12):4108-4116.

[8] Mathivanan S. Integrated bioinformatics analysis of the publicly available protein data shows evidence for 96% of the human proteome. *J Proteomics Bioinform*, 2014,7(2):041-049.

[9] Rozanova S, Barkovits K, Nikolov M, et al. Quantitative mass spectrometry-based proteomics: an overview. *Methods Mol Biol*, 2021,2228:85-116.

[10] Cui M, Cheng C, Zhang L. High-throughput proteomics: a methodological mini-review. *Lab Invest*, 2022,102(11):1170-1181.

[11] Xiao J, Zhang H, Yang FH, et al. Proteomic analysis of plasma sEVs reveals that TNFAIP8 is a new biomarker of cell proliferation in diabetic retinopathy. *J Proteome Res*, 2021,20(3):1770-1782.

[12] Zhang L, Liu R, Luan YY, et al. Tumor necrosis factor- α induced protein 8: pathophysiology, clinical significance, and regulatory mechanism. *Int J Biol Sci*, 2018,14(4):398-405.

[13] Moremen KW, Tiemeyer M, Nairn AV. Vertebrate protein glycosylation: diversity, synthesis and function. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012,13(7):448-462.

[14] 刘银萍.糖尿病性视网膜病变患者血清差异蛋白质组学研究.南方医科大学,2012.

[15] Saucedo L, Pfister IB, Schild C, et al. Aqueous humor apolipoprotein concentration and severity of diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Mediators Inflamm*, 2022,2022:2406322.

[16] Sharma A, Cox J, Glass J, et al. Serum glycoproteomic alterations in patients with diabetic retinopathy. *Proteomes*, 2020,8(3):25.

[17] Zhuo LS, Kimata K. Structure and function of inter- α -trypsin inhibitor heavy chains. *Connect Tissue Res*, 2008,49(5):311-320.

[18] Ochieng J, Nangami G, Sakwe A, et al. Impact of fetuin-A (AHSG) on tumor progression and type 2 diabetes. *Int J Mol Sci*, 2018,19(8):2211.

[19] Wang L, Wang J, Fang JZ, et al. High glucose induces and activates Toll-like receptor 4 in endothelial cells of diabetic retinopathy. *Diabetol Metab Syndr*, 2015,7:89.

[20] Pal D, Dasgupta S, Kundu R, et al. Fetuin-a acts as an endogenous ligand of TLR4 to promote lipid-induced insulin resistance. *Nat Med*, 2012,18(8):1279-1285.

[21] Zhou ZW, Ju HX, Sun MZ, et al. Serum fetuin-a levels are independently correlated with vascular endothelial growth factor and C-reactive protein concentrations in type 2 diabetic patients with diabetic retinopathy. *Clin Chim Acta*, 2016,455:113-117.

[22] Levy JH, Sniecinski RM, Welsby IJ, et al. Antithrombin: anti-inflammatory properties and clinical applications. *Thromb Haemost*, 2016,115(4):712-728.

[23] Ceriello A, Giugliano D, Dello Russo P, et al. Metabolic control may alter antithrombin III activity but not its plasma concentration in diabetes: a possible role for nonenzymatic glycosylation. *Diabetes Care*, 1986,9(1):32-35.

[24] Sundstrom JM, Hernández C, Weber SR, et al. Proteomic analysis of early diabetic retinopathy reveals mediators of neurodegenerative brain diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018,59(6):2264-2274.

[25] Rajendran S, Narayansamy A, Annamalai R, et al. Proteome of pericytes from retinal vasculature of diabetic donor eyes. *Exp Eye Res*, 2024,251:110178.

[26] Starr CR, Zhylkibayev A, Mobley JA, et al. Proteomic analysis of diabetic retinas. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023,14:1229089.

[27] Shahulhameed S, Vishwakarma S, Chhablani J, et al. A systematic investigation on complement pathway activation in diabetic retinopathy. *Front Immunol*, 2020,11:154.

[28] Gao X, Iqbal H, Yu DQ, et al. The SCR-17 and SCR-18 glycans in human complement factor H enhance its regulatory function. *J Biol Chem*, 2024,300(9):107624.

[29] Patrick AT, He WL, Madu J, et al. Mechanistic dissection of diabetic retinopathy using the protein-metabolite interactome. *J Diabetes Metab Disord*, 2020,19(2):829-848.

[30] Saadane A, Du YP, Thoreson WB, et al. Photoreceptor cell calcium dysregulation and calpain activation promote pathogenic photoreceptor oxidative stress and inflammation in prodromal diabetic retinopathy. *Am J Pathol*, 2021,191(10):1805-1821.

[31] Ni R, Zheng D, Xiong SD, et al. Mitochondrial calpain-1 disrupts ATP synthase and induces superoxide generation in type 1 diabetic hearts: a novel mechanism contributing to diabetic cardiomyopathy. *Diabetes*, 2016,65(1):255-268.

[32] Vähätupa M, Järvinen TAH, Uusitalo-Järvinen H. Exploration of oxygen-induced retinopathy model to discover new therapeutic drug targets in retinopathies. *Front Pharmacol*, 2020,11:873.

[33] 闫梦阳.基于定量蛋白组学对褪黑素在糖尿病性视网膜病变中的作用及分子机制研究.苏州大学,2021.

[34] dos Santos FM, Giordia S, Mesquita J, et al. Vitreous humor proteome: unraveling the molecular mechanisms underlying proliferative and neovascular vitreoretinal diseases. *Cell Mol Life Sci*, 2022,80(1):22.

[35] Zou C, Zhao MJ, Yu JJ, et al. Difference in the vitreal protein profiles of patients with proliferative diabetic retinopathy with and without intravitreal conbercept injection. *J Ophthalmol*, 2018,2018:7397610.

[36] Santos FM, Giordia S, Mesquita J, et al. Proteomics profiling of vitreous humor reveals complement and coagulation components, adhesion factors, and neurodegeneration markers as discriminatory biomarkers of vitreoretinal eye diseases. *Front Immunol*, 2023,14:1107295.

[37] Le Goff MM, Sutton MJ, Slevin M, et al. Opticin exerts its anti-angiogenic activity by regulating extracellular matrix adhesiveness. *J Biol*

Chem, 2012,287(33):28027–28036.

[38] Sen S, Udaya P, Jeya Maheshwari J, et al. Comparative proteomics of proliferative diabetic retinopathy in people with Type 2 diabetes highlights the role of inflammation, visual transduction, and extracellular matrix pathways. *Indian J Ophthalmol*, 2023, 71(8):3069–3079.

[39] Valdivia AO, He Y, Ren XJ, et al. Probable treatment targets for diabetic retinopathy based on an integrated proteomic and genomic analysis. *Transl Vis Sci Technol*, 2023, 12(2):8.

[40] Niu R, Wang JD, Geng C, et al. Tandem mass tag-based proteomic analysis reveals cathepsin-mediated anti-autophagic and pro-apoptotic effects under proliferative diabetic retinopathy. *Aging*, 2020, 13(1):973–990.

[41] Li SY, Jin EZ, Shi X, et al. Proteomics of vitreous humor reveals PPARA, RXR, and LXR are possible upstream regulators of proliferative diabetic retinopathy. *Front Med*, 2021, 8:724695.

[42] Markaki I, Bergström S, Tsitsi P, et al. Cerebrospinal fluid levels of kininogen-1 indicate early cognitive impairment in Parkinson's disease. *Mov Disord*, 2020, 35(11):2101–2106.

[43] Colman RW. Biologic activities of the contact factors *in vivo* – potentiation of hypotension, inflammation, and fibrinolysis, and inhibition of cell adhesion, angiogenesis and thrombosis. *Thromb Haemost*, 1999, 82(6):1568–1577.

[44] 李鉴清. 增生性糖尿病视网膜病变患者玻璃体蛋白组学分析. 苏州大学, 2019.

[45] Carreon T, van der Merwe E, Fellman RL, et al. Aqueous outflow – A continuum from trabecular meshwork to episcleral veins. *Prog Retin Eye Res*, 2017, 57:108–133.

[46] Grus FH, Joachim SC, Pfeiffer N. Proteomics in ocular fluids. *Proteomics Clin Appl*, 2007, 1(8):876–888.

[47] Kliuchnikova AA, Samokhina NI, Ilina IY, et al. Human aqueous humor proteome in cataract, glaucoma, and pseudoexfoliation syndrome. *Proteomics*, 2016, 16(13):1938–1946.

[48] Chen H, Qiu BT, Gao GP, et al. Proteomic changes of aqueous humor in proliferative diabetic retinopathy patients treated with different intravitreal anti-VEGF agents. *Exp Eye Res*, 2022, 216:108942.

[49] 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. *Curr Eye Res*, 2022, 47(7):1050–1060.

[50] Voulgaridou GP, Theologidis V, Venetikidou M, et al. Investigating the functional roles of aldehyde dehydrogenase 3A1 in human corneal epithelial cells. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(6):5845.

[51] Katzeff JS, Bright F, Phan K, et al. Biomarker discovery and development for frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, 2022, 145(5):1598–1609.

[52] Ghosh S, Ghosh S, Azharuddin M, et al. Change in tear protein profile in diabetic retinopathy with duration of diabetes. *Diabetes Metab Syndr*, 2014, 8(4):233–235.

[53] Torok Z, Peto T, Csoz E, et al. Tear fluid proteomics multimarkers for diabetic retinopathy screening. *BMC Ophthalmol*, 2013, 13(1):40.

[54] Amorim M, Martins B, Caramelo F, et al. Putative biomarkers in tears for diabetic retinopathy diagnosis. *Front Med*, 2022, 9:873483.

[55] Costagliola C, Romano V, De Tollis M, et al. TNF-alpha levels in tears; a novel biomarker to assess the degree of diabetic retinopathy. *Mediat Inflamm*, 2013, 2013:629529.

[56] Winiarczyk D, Winiarczyk M, Winiarczyk S, et al. Proteomic analysis of tear film obtained from diabetic dogs. *Animals (Basel)*, 2020, 10(12):2416.