

糖尿病性视网膜病变的蛋白质组学研究进展

陈国海, 郑钦象, 李文生

基金项目: 中国浙江省自然科学基金资助项目(No. Y207824)
作者单位: (325027) 中国浙江省温州市, 温州医学院附属眼视光医院
作者简介: 陈国海, 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 玻璃体视网膜膜病。
通讯作者: 李文生, 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 玻璃体视网膜膜病的基础与临床研究. drlws@163.net
收稿日期: 2010-03-08 修回日期: 2010-04-02

Recent progress of proteomics in diabetic retinopathy

Guo-Hai Chen, Qin-Xiang Zheng, Wen-Sheng Li

Foundation item: Science Research Foundation of Zhejiang Province, China (No. Y207824)
Eye Hospital, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Wen-Sheng Li. Eye Hospital, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, Zhejiang Province, China. drlws@163.net
Received: 2010-03-08 Accepted: 2010-04-02

Abstract

• Diabetic retinopathy (DR) is a diabetic microvascular disease affecting the eyes, which is a leading cause of blindness in adults under 75 years old. In recent years, regular screening for DR, blood glucose, blood pressure and blood lipid has contributed to lower incidence of blindness due to retinopathy. But still the pathogenesis of DR is unclear. At present, proteomics and related technologies provide a powerful tool to study the intrinsic pathophysiological mechanisms of DR at the molecular level. This technology can study an abundance of proteins at a time and identify the different expressed proteins. Comparative proteomics show that the DR is not activated by a single protein, but by a variety of proteins. At present, the functions of the identified proteins are not very clear, and there is a complex network between the various proteins. This article briefly reviews the recent progress of proteomics in DR.
• **KEYWORDS:** diabetic retinopathy; proteomics; two-dimension gel electrophoresis; mass spectrometry

Chen GH, Zheng QX, Li WS. Recent progress of proteomics in diabetic retinopathy. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2010;10(5):891-894

摘要

糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病微血管病变在眼部的表现,是<75岁成年人的首要致盲

眼病。定期随访检查糖尿病患者的眼底及控制血糖、血压、血脂都有助于降低因视网膜病变而致失明的发生率,但其机制仍不明确。蛋白质组学及其相关技术的发展为蛋白质水平上研究DR的病理生理机制提供了强有力手段,该技术可以一次性研究大量蛋白质。比较蛋白质组学研究结果表明DR并不是由单一蛋白质启动的疾病,而是多种蛋白质共同参与的病理过程。目前,绝大多数鉴定出的差异性蛋白质其功能都不太明确,而且各蛋白质之间存在着复杂的网络调节关系。我们就其在DR蛋白质组学方面的研究进展作一综述。

关键词: 糖尿病性视网膜病变; 蛋白质组学; 双向电泳; 质谱分析

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2010.05.022

陈国海, 郑钦象, 李文生. 糖尿病性视网膜病变的蛋白质组学研究进展. *国际眼科杂志* 2010;10(5):891-894

0 引言

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一组以慢性血葡萄糖水平增高为特征的代谢疾病群,分为两种类型:1型糖尿病(胰岛素依赖型)和2型糖尿病(非胰岛素依赖型)。全球目前大约有1.8亿的DM患者,到2025年估计将高达3亿人,有70%~90%为2型糖尿病患者^[1]。1997年我国DM患病率为2.51%^[2]。糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病微血管病变在眼部的表现,视网膜病变是糖尿病眼病中最严重的并发症^[3]。DR是50岁以上患者重要的致盲原因^[2],在西方国家则是<75岁成年人的首要致盲眼病^[1]。几乎所有的1型糖尿病患者都会并发DR,特别是诊断为DM后10~15a期间,60%以上的2型糖尿病会并发DR^[1]。在我国糖尿病患者中,DR患病率达44%~51.3%^[2]。蛋白质组学(proteomics)就是从整体的角度分析动态变化的蛋白质组成、表达水平和修饰状态,了解蛋白质之间的相互作用和联系,在整体水平上研究蛋白质的组成与调控的活动规律^[4]。该学说开辟了研究蛋白质功能和细胞生命活动规律的新领域,主要内容包括组成蛋白质组研究、比较蛋白质组研究、蛋白质组学相关技术平台及生物信息学研究^[5]。蛋白质组研究的技术主要有:双向凝胶电泳(two-dimension gel electrophoresis, 2-DE)、生物质谱技术(mass spectrometry, MS)、蛋白质芯片和生物信息学技术^[6]。虽然控制血糖、血压、血脂可以改善DR的病情,但其机制仍不明确,所以有待分子水平的研究来阐明DR的病理生理机制,以期获得更为有效的临床治疗手段。目前,蛋白质组学及其相关技术的发展为蛋白质水平上研究DR的病理生理机制提供了广阔的平台。用比较蛋白质组学对疾病和控制对照组进行研究,可以快速阐明疾病的病理生理机制,如疾病的发生、发展或消退减缓的内在分子机制,为临床诊疗提供新的视角和手段。虽然蛋白质组学发展才短短十几年时间,但关于DR的蛋白质组研究已取得令人瞩目的成果,现将DR

蛋白质组研究的最新进展作一综述。

1 蛋白质组学在 DR 动物模型中的应用

鼠类模型已经成为 DM 并发症研究的主要模型,鼠类 DR 模型与人类 DR 的自然病程有很多类似,但依旧没有与人类 DR 病理生理机制完全一样的动物模型,不过这类模型为 DR 的基础研究提供了丰富的组织来源^[7]。实验多选用 200g 左右的 SD 大鼠或 Wistar 大鼠,腹腔内注射四氧嘧啶 200mg/kg 或链脲霉素 35~65mg/kg 来制造 DM 模型,5d 后测血糖, $>16.7\text{mmol/L}$ 为造模成功。

1.1 DR 早期蛋白质组的变化 早期 DM 鼠神经视网膜组织的研究可以发现 DR 早期的病理生理改变,对于预防及干预 DR 都有很大的现实意义。2007 年刘尚清等^[8,9]在早期 DM 鼠视网膜上检测出 36 个蛋白有显著差异 ($P < 0.05$),5 个上调,23 个下调,8 个消失。该实验反映出 2mo 病程的 DM 大鼠视网膜已有蛋白质表达的差异,但未作 MS 鉴定,不知道是哪些蛋白质发生了变化。2007 年 Quin 等^[10]的研究结果显示在早期 DM 大鼠视网膜上有 8 个蛋白上调,27 个下调。经 MS 鉴定,热休克蛋白 70 的两个亚型(Hsp70.1, AHsp70.8)和血小板活化因子 α -2 只出现在 DM 组; β 钙黏蛋白、光导蛋白及醛还原酶在 DM 组高表达,而琥珀酰辅酶 A 连接酶和二氢嘧啶酶相关蛋白-2 低表达。热休克蛋白的出现证实了炎症诱发 DR 的病理机制;血小板活化因子与缺氧性新生血管形成有关; β 钙黏蛋白是视网膜毛细血管内皮细胞之间的连接物,其高表达可能与视网膜毛细血管渗漏引发的代偿机制有关;光导蛋白高表达可能与光传导功能障碍有关;琥珀酰辅酶 A 连接酶与能量合成有关;二氢嘧啶酶相关蛋白-2 与神经连接有关,其低表达可致神经营养不良。

1.2 晶状体蛋白的相关研究 晶状体蛋白增多可能与抗氧化应激及代谢压力的代偿机制有关,晶状体蛋白还可能是有效的凋亡抑制因子,这些都是 DR 重要的病理机制^[11]。2007 年 Wang 等^[12]运用 2-DE 技术对 2 型糖尿病 SD 大鼠神经视网膜作了比较蛋白质组研究,检测发现 α -晶状体蛋白在 2 型糖尿病 SD 大鼠神经视网膜上高表达,并经蛋白印迹技术验证。2009 年 Fort 等^[13]用差异凝胶电泳(difference in gel electrophoresis, DIGE)及 MS 技术鉴定出 DM 大鼠视网膜上各类型的晶状体蛋白均高表达, α -晶状体蛋白家族(αA , αB)和 $\beta\gamma$ -晶状体蛋白家族($\beta A2$, $\beta A4$, $\beta B3$, γB , γD)均上调 18 倍。同 Wang 等的研究结果相似,但 $\beta\gamma$ -晶状体蛋白家族的高表达则是第一次被检测出来,并经蛋白印迹技术及实时定量 RT-PCR 验证。蛋白印迹结果及实时定量 RT-PCR 结果显示: α -晶状体蛋白、 β -晶状体蛋白和 γ -晶状体蛋白表达上调的时间点及其持续时间都不一样。这些结果提示各类晶状体蛋白在视网膜上定位不同,因此该实验小组用免疫荧光技术对各类晶状体蛋白进行了定位。 α -晶状体蛋白定位在光感受器外节、外丛状层、神经节细胞/神经纤维层上,在 DM 鼠视网膜神经节细胞/神经纤维层及激活的 Müller 细胞上高表达; β -晶状体蛋白定位在神经节细胞内丛状层和感光细胞上,可能是由双极细胞、无长突细胞或水平细胞分泌,在 DM 鼠视网膜内丛状层高表达; γ -晶状体蛋白定位在神经节细胞/神经纤维层、内丛状层及光感受器上,在 DM 鼠视网膜神经节细胞层高表达。

1.3 干预后蛋白质组的变化 经干预后,某些上调或下调的蛋白质可以恢复到正常水平,这些蛋白质可能与该药物发挥效用有关。2008 年 Li 等^[14]运用 DIGE 及 MS 技术对

葡萄籽原花青素提取物(grape seed proanthocyanidin extracts, GSPE)治疗后的 DM 大鼠与非治疗组作了比较蛋白质组研究,结果显示有 7 个蛋白经过 GSPE 治疗后恢复到正常水平,分别是 αB -晶状体蛋白、 $\beta A4$ -晶状体蛋白、 αA -晶状体蛋白、泛素羧基末端水解酶-L1, G 蛋白- $\beta 1$, IgG-2A 和丙酮酸激酶。 αB -晶状体蛋白和 αA -晶状体蛋白在 DM 鼠视网膜上高表达,经 GSPE 治疗后恢复到正常水平,说明 αB -晶状体蛋白和 αA -晶状体蛋白的高表达参与 DR 的病理生理机制,而 GSPE 对 αB -晶状体蛋白和 αA -晶状体蛋白表达的抑制作用可能有助于 DR 的恢复;泛素羧基末端水解酶-L1 在糖尿病鼠视网膜上低表达,它可能是细胞周期调控蛋白,与视网膜色素上皮细胞的变性增殖有关,经 GSPE 治疗后恢复到正常水平,从而可以看出 GSPE 有助于改善 DR 的病情。2009 年 Fort 等^[14]的研究结果显示全身使用胰岛素治疗后可恢复上调的 α -晶状体蛋白和 γ -晶状体蛋白,但对 β -晶状体蛋白没有影响;在处死 DM 鼠的前 4d 结膜下注射低剂量的胰岛素,此方法并不影响血糖水平,但仍能恢复 8wk 时上调的 α -晶状体蛋白和 γ -晶状体蛋白,说明全身或局部使用胰岛素皆能恢复上调的 α -晶状体蛋白和 γ -晶状体蛋白。全身或局部使用胰岛素可以恢复 α -晶状体蛋白和 γ -晶状体蛋白,可能与视网膜上的胰岛素受体/磷酸肌醇激酶-3 途径有关。

2 蛋白质组学在 DR 患者中的应用

DR 患者的蛋白质组研究多以玻璃体液作为研究材料,因为玻璃体与视网膜关系密切,眼底的病变必然会导致玻璃体液的蛋白组成及其量的改变,而且取材也比较方便,通过检测玻璃体液中的差异性蛋白有助于了解 DR 的分子病理机制。

2.1 DM 患者(NDR)与 NDM 患者玻璃体液中的差异性蛋白质 研究 DM 患者(NDR)与 NDM 患者玻璃体液中的差异性蛋白可以发现 DR 的促发因子,明确 DR 的促发机制可以有效地预防 DM 患者的眼部并发症。2008 年 Gao 等^[15]运用 2-DE 及液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)技术对 6 个 NDM,4 个 DM 患者(NDR)和 7 个增生性糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)患者的玻璃体液作了比较蛋白质组研究。结果显示载脂蛋白 A-IV、补体 C4b 和补体因子 B 在 DM 患者中比 NDM 患者高 ($P > 0.05$),而碳酸酐酶只在 DM 患者中表达。碳酸酐酶-1 和碳酸酐酶-2 的增高可能是由 PDR 患者玻璃体液中红细胞裂解导致的,这说明玻璃体出血、红细胞溶解及红细胞内物质的释放(包括铁、血红素和碳酸酐酶等)可能是 PDR 的促发机制。该实验小组对 NDR 与 PDR 玻璃体液也作了比较,其中血管紧张素原在 PDR 玻璃体液中表达升高,而钙同线蛋白、感受器间视黄醛结合蛋白和神经源性丝氨酸蛋白酶抑制剂表达降低。

2.2 PDR 与 MH 患者玻璃体液中的差异性蛋白 黄斑裂孔(macular holes, MH)患者常作为 PDR 研究的控制对照组,可能是因为 MH 患者对玻璃体液中的蛋白质成分改变不大,而且比取正常人眼的玻璃体液更符合伦理。研究 PDR 与 MH 患者玻璃体液中的差异性蛋白质可以从多方位了解 PDR 的病理生理机制。2006 年 Kim 等^[16]应用 2-DE 及 MS 技术鉴定了 15 个 PDR 和 10 个 MH 患者玻璃体液中的差异性蛋白质。检测出 8 个蛋白点有显著差异,5 个上调(色素上皮细胞衍生因子、丝氨酸蛋白酶抑制剂、前列腺素-H2D 异构酶、 $\alpha 2$ -HS-糖蛋白和锚蛋白重复域 15)和 3 个下调($\alpha 1$ -抗胰蛋白酶前体、 βV -血影蛋白和载脂蛋

白 A-IV 前体)。色素上皮细胞衍生因子有控制新生血管形成的作用;丝氨酸蛋白酶抑制剂可能在血液凝固、补体激活和细胞凋亡中发挥调控作用;前列腺素-H2D 异构酶具有抗增殖功能及抑制纤维血管增殖的作用;βV-血影蛋白与感光细胞外节相联接,可能参与破坏光感受器和视网膜色素上皮细胞,与感光细胞新陈代谢有关;载脂蛋白 A-IV 前体参与胆固醇逆向转运,其表达降低与 PDR 患者脂质沉积有关。鉴于玻璃体液中的高丰度蛋白质(白蛋白、转铁蛋白和 α1-抗胰蛋白酶等)使得低丰度蛋白质的检测困难,该实验小组进一步运用 2-DE、液相色谱-基质辅助激光解吸电离-串联质谱(LC-MALDI-MS/MS)和液相色谱-电喷雾电离-串联质谱(LC-ESI-MS/MS)技术对 19 只 PDR 眼和 11 只 MH 眼的玻璃体液中的微量蛋白质进行了检测^[17]。共检测到 531 个蛋白点,其中有 240 个蛋白点是第一次在玻璃体液中被检测到。鉴定结果显示胰岛素样生长因子结合蛋白-2 和胰岛素样生长因子结合蛋白-5 只在 PDR 玻璃体液中表达;碳酸酐酶-1、碳酸酐酶-2、血管生成素、骨桥蛋白、血管紧张素原和聚集素在 PDR 玻璃体液中表达增高。胰岛素样生长因子结合蛋白有防止血管氧化损伤和促进血管再生的功能,其与 PDR 的关系有待进一步研究;肝细胞生长因子激活前体与视网膜新生血管形成及增加血管通透性有关;碳酸酐酶-1 和碳酸酐酶-2 有增加视网膜血管通透性的作用,可通过激活激肽释放酶原而引起视网膜水肿;骨桥蛋白具有广泛的生理功能,如细胞黏附、免疫调节和血管生成等,其高表达可能与 DR 的病理机制有关;肾素血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)存在于眼部^[18], PDR 患者可能激活眼部 RAS,并且血管紧张素 II 有增强血流动力和促进增殖的功能,可促进新生血管形成。血管紧张素原在 PDR 患者玻璃体液中高表达说明 RAS 与 DR 的病理机制有关。

2007 年 Garcia-Rameriez 等^[19]应用 DIGE 技术鉴定了 8 个 PDR 患者与 10 个 MH 患者玻璃体液中的差异性蛋白。检测出 41 个蛋白有显著差异($P < 0.05$),28 个上调,13 个下调。共鉴定出 11 种蛋白,包括 8 个上调蛋白(锌 α2-糖蛋白、载脂蛋白 A-I、载脂蛋白 H、纤维蛋白原 A、补体 C3、C4b、C9 和补体因子 B)和 3 个下调蛋白(色素上皮衍生因子、间质性视黄醇结合蛋白和间 α 胰蛋白酶抑制剂重链),并用蛋白印迹和实时定量 RT-PCR 技术验证了锌 α2-糖蛋白、补体 C3、补体因子 B、色素上皮衍生因子和间质性视黄醇结合蛋白。色素上皮衍生因子表达下调与 kim 等的结果正好相反,因 kim 等未用蛋白印迹技术加以证实,所以 Garcia-Rameriez 等^[19]的实验结果更为可靠。锌 α2-糖蛋白可以抑制细胞增殖,可能是 PDR 增殖反应的抑制因子;补体系统的参与验证了 PDR 的炎症病理机制,激活补体系统可引发血栓形成、白细胞停滞和细胞凋亡,这些都参与了 DR 新生血管形成;色素上皮衍生因子可能是参与光凝治疗 DR 减少视网膜新生血管形成的作用因子,因此可以作为疗效评价指标;间质性视黄醇结合蛋白与视色素再生有关,其量的减少可致视力下降。该实验小组又进一步运用蛋白印迹及实时定量 RT-PCR 技术对载脂蛋白 A-I 和载脂蛋白 H 进行了深入研究^[20]。结果显示载脂蛋白 A-I 和载脂蛋白 H 皆在 DM 患者中表达高。载脂蛋白 A-I 是强有力的活性氧清除物,可能有保护视网膜免受氧化损伤的作用;载脂蛋白 H 可能有清除凋亡细胞和防止细胞凋亡的功能,而细胞凋亡正是 DR 发病机制的一个早期事件,但仍需要更多的研究来支持

这个假说。

2.3 DME 与 NDME 患者玻璃体液中的差异性蛋白 糖尿病黄斑水肿(diabetic macular edema, DME)患者表现为后极部有明显的视网膜增厚或硬性渗出,是引起 DM 患者失明的主要原因之一,其发生主要与病程长、高血压、使用胰岛素、高糖化血红蛋白和蛋白尿有关^[21]。研究 DME 与 NDME 患者玻璃体液中的差异性蛋白有助于预防和治疗 DME,降低致盲率。2005 年 Ouchi 等^[22]应用 2-DE 及 LC-MS/MS 对 DME 患者的玻璃体液作了蛋白质组研究。4 个 NPDR 未并发 DME 患者(NDEM 组)的 4 眼和 14 个 NPDR 并发 DME 患者(DEM 组)的 16 眼玻璃体液经 2-DE 及 LC-MS/MS 分析,共检测到 200 个蛋白点。有 6 个蛋白(色素上皮细胞衍生因子、载脂蛋白 AI-V、载脂蛋白 A-I、甲状腺激素受体相互作用蛋白-11、血浆视黄醇结合蛋白和维生素 D 结合蛋白)在 DME 组高表达,而有一个蛋白(载脂蛋白 H)只在 NDME 组中表达。载脂蛋白 A-IV 高表达可能与 DME 患者视网膜硬性渗出有关;甲状腺激素受体相互作用蛋白-11 与甲状腺激素受体和视黄醇类受体有相互作用,其具体功能不明;载脂蛋白 A-I 在视网膜色素上皮细胞中发现,参与脂质运输;载脂蛋白 H 是血浆脂蛋白的组成部分,具有激活脂蛋白脂肪酶和刺激血浆清除脂质的功能。载脂蛋白 A-I 的高表达和载脂蛋白 H 只在 NDME 患者玻璃体液中表达,可能与 DME 患者视网膜脂质沉积有关。

2.4 DR 患者相关组织细胞的差异性蛋白质研究 不同于以往采用玻璃体液来检测 DR 与 NDR 患者间的差异性蛋白,Decanini 等^[23]提取视网膜色素上皮层组织作为研究材料。共鉴定出 18 个差异性蛋白质,有 15 个上调。鉴定出的蛋白质中有 62% 在以往的研究中报道过,但皆为非视网膜组织的蛋白质组研究。鉴定出的蛋白质中有 29% 参与各种代谢过程,包括糖酵解代谢途径(磷酸变位酶和 γ-烯醇化酶)、柠檬酸循环(二硫辛酰胺脱氢酶)、脂质代谢(胆固醇载体蛋白-X)、酮代谢(琥珀酰辅酶 A:3-酮酸辅酶 A 转移酶-1)、维甲酸代谢(细胞视黄醛结合蛋白)、膜动力蛋白(膜联蛋白 A4 和 A7)和蛋白质运输(硒结合蛋白)。在该实验中未检测到与 DR 相关的生长因子,如血管内皮生长因子和色素上皮细胞衍生因子,可能是细胞外分泌后,视网膜色素上皮细胞内的生长因子不足以被检测到。鉴于 DR 患者血-视网膜屏障的破坏,血清中抗视网膜蛋白自身抗体的出现及升高与 DR 的病理机制相关,Ahn 等^[24]收集了 11 个 NDR、14 个 NPDR、11 个 PDR 和 5 个 NDM 患者的血清及正常人的视网膜组织。经 2-DE 和 ESI-MS/MS 分析,共鉴定出 18 种差异性蛋白。有 4 种蛋白(肌酸激酶-B、醛缩酶-C、磷酸激酶-1 和碳酸酐酶-2)只存在 NPDR 和 PDR 患者血清中,而在 NDR 及正常对照组中没有。鉴于醛缩酶-C 只在脑部神经元中表达,其自身抗体的出现可能意味着 DR 患者的血视网膜屏障受到破坏,可以作为 DR 临床诊断标志物,所以该实验小组进一步用 ELISA 检测了 10 个 NDM、20 个 NDR 和 40 个 DR 患者(包括 20 个 NPDR 和 20 个 PDR)血清中抗醛缩酶-C 自身抗体的浓度。结果显示:NDR 患者血清中的抗醛缩酶-C 自身抗体浓度比 NDM 患者高($P = 0.05$);DR 患者比 NDR 患者高($P = 0.01$);而 NPDR 患者和 PDR 患者相比没有统计学差异,说明抗醛缩酶-C 自身抗体浓度与 DR 严重程度无关。从而可以看出抗醛缩酶-C 自身抗体可以作为诊断 DR 的临床标志物。

3 小结

运用蛋白质组学及其相关技术鉴定出多种差异性蛋白质反映了 DR 并不是由单一蛋白质启动的疾病,而是多种蛋白质共同参与的病理过程。如载脂蛋白 A1 和载脂蛋白 A4 在 DME 患者玻璃体液中高表达,而载脂蛋白 H 只在 NDME 患者玻璃体液中表达,反映出这些蛋白质共同参与了 DME 患者视网膜脂质沉积的病理过程; α -晶状体蛋白、 β -晶状体蛋白、 γ -晶状体蛋白和载脂蛋白 H 等都与 DR 的细胞凋亡病理机制有关;色素上皮衍生因子、 β 血小板活化因子、钙黏蛋白、肝细胞生长因子激活前体、碳酸酐酶和骨桥蛋白等共同参与了视网膜新生血管形成及血管通透性增加的病理过程等。目前,研究重点是发现早期诊断 DR 及评价其预后的蛋白标记物上,如抗醛缩酶-C 自身抗体可以作为诊断 DR 的临床标记物;色素上皮衍生因子可能是参与光凝治疗 DR 减少视网膜新生血管形成的作用因子,可以作为光凝治疗的评价指标等。对于鉴定出来的大部分蛋白质,其相关功能都不太明确,而且各蛋白质之间存在着复杂的网络调节关系,还不能清楚地从蛋白质水平阐明 DR 的病理生理机制,所以这些蛋白质的功能及其与 DR 病理生理机制的关系都有待进一步深入研究。

参考文献

- Williams R, Airey M, Baxter H, et al. Epidemiology of diabetic retinopathy and macular oedema: a systematic review. *Eye* 2004;18(10):963-983
- 葛坚. 眼科学. 北京:人民卫生出版社 2005:304-305
- Kohner EM. Microvascular disease: what does the UKPDS tell us about diabetic retinopathy? *Diabet Med* 2008;25(2):20-24
- Hochstrasser DF, Banks RE, Dunn MJ, et al. Proteomics and its trends facing nature's complexity. *Proteomics* 2002;2(7):807-812
- 郭疆,吴开力,余敏斌. 眼蛋白质组学. 眼科学报 2003;19(2):67-70
- 肖迎,唐仕波. 视网膜疾病的蛋白质组研究. 中华眼底病杂志 2005;21(3):199-202
- Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med* 2005;22(4):359-370
- 刘尚清,张艳艳,羊惠君,等. 早期糖尿病大鼠视网膜蛋白质表达变化的初步研究. 眼科研究 2007;25(3):186-189
- Liu S,Zhang Y,Xie X, et al. Application of two-dimensional electrophoresis in the research of retinal proteins of diabetic rat. *Cell Mol Immunol* 2007;4(1):65-70
- Quin GG, Len AC, Billson FA, et al. Proteome map of normal rat retina and comparison with the proteome of diabetic rat retina: new insight in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Proteomics* 2007;7(15):2636-2650

- Kamradt MC, Chen F, Cryns VL. The small heat shock protein alpha B-crystallin negatively regulates cytochrome c- and caspase-8-dependent activation of caspase-3 by inhibiting its autoproteolytic maturation. *J Biol Chem* 2001;276(19):16059-16063
- Wang YD, Wu JD, Jiang ZL, et al. Comparative proteome analysis of neural retinas from type 2 diabetic rats by two-dimensional electrophoresis. *Curr Eye Res* 2007;32(10):891-901
- Fort PE, Freeman WM, Losiewicz MK, et al. The retinal proteome in experimental diabetic retinopathy: up-regulation of crystallins and reversal by systemic and periocular insulin. *Mol Cell Proteomics* 2009;8(4):767-779
- Li M, Ma YB, Gao HQ, et al. A novel approach of proteomics to study the mechanism of action of grape seed proanthocyanidin extracts on diabetic retinopathy in rats. *Chin Med J* 2008;121(24):2544-2552
- 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 Proteome Res* 2008;7(6):2516-2525
- Kim SJ, Kim S, Park J, et al. Differential expression of vitreous proteins in proliferative diabetic retinopathy. *Curr Eye Res* 2006;31(3):231-240
- Kim T, Kim SJ, Kim K, et al. Profiling of vitreous proteomes from proliferative diabetic retinopathy and nondiabetic patients. *Proteomics* 2007;7(22):4203-4215
- Sramek SJ, Wallow IH, Tewksbury DA, et al. An ocular renin-angiotensin system. Immunohistochemistry of angiotensinogen. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33(5):1627-1632
- Garcia-Ramirez M, Canals F, Hernandez C, et al. Proteomic analysis of human vitreous fluid by fluorescence-based difference gel electrophoresis (DIGE): a new strategy for identifying potential candidates in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetologia* 2007;50(6):1294-1303
- Simo R, Higuera M, Garcia-Ramirez M, et al. Elevation of apolipoprotein A-I and apolipoprotein H levels in the vitreous fluid and overexpression in the retina of diabetic patients. *Arch Ophthalmol* 2008;126(8):1076-1081
- Klein R, Klein BE, Moss SE, et al. The wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy diabetic macular edema. *Ophthalmology* 1984;91(12):1464-1474
- Ouchi M, West K, Crabb JW, et al. Proteomic analysis of vitreous from diabetic macular edema. *Exp Eye Res* 2005;81(2):176-182
- Decanini A, Karunadharm PR, Nordgaard CL, et al. Human retinal pigment epithelium proteome changes in early diabetes. *Diabetologia* 2008;51(6):1051-1061
- Ahn BY, Song ES, Cho YJ, et al. Identification of an anti-aldolase autoantibody as a diagnostic marker for diabetic retinopathy by immunoproteomic analysis. *Proteomics* 2006;6(4):1200-1209