

组学技术在糖尿病视网膜病变中的研究进展

周琦,熊鑫,吕红彬

引用:周琦,熊鑫,吕红彬. 组学技术在糖尿病视网膜病变中的研究进展. 国际眼科杂志 2022;22(8):1304-1308

基金项目:四川省科技厅基金项目(No.20KJFX0151)

作者单位:(646000)中国四川省泸州市,西南医科大学附属医院眼科

作者简介:周琦,女,硕士,主治医师,研究方向:玻璃体及视网膜疾病。

通讯作者:吕红彬,女,博士,教授,博士研究生导师,研究方向:玻璃体与视网膜疾病. oculistlvhongbin@163.com

收稿日期:2021-10-13 修回日期:2022-06-30

摘要

糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病常见且严重的眼部并发症之一,是工作年龄人群致盲的首要原因。目前,DR的发病机制尚未完全阐明,晚期治疗效果有限。近年来研究发现DR在基因组学、转录组学、表观遗传组学、蛋白质组学以及代谢组学等方面均有特异性的表现特征。随着高通量组学检测技术的快速发展,可利用不同组学技术从不同层面探究DR的发病机制。本文就DR在不同组学中的研究进展,以及多组学联合分析与DR研究新方向予以综述,最后探讨了当前所存问题以及未来展望。利用不同组学技术从不同层面探究DR的发生发展,这为阐明DR的病理生理机制、寻找新的生物标志物及治疗靶点提供了思路。

关键词:糖尿病视网膜病变;基因组学;转录组学;表观遗传组学;蛋白组学;代谢组学

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2022.8.13

Research progress of omics technology in the field of diabetic retinopathy

Qi Zhou, Xin Xiong, Hong-Bin Lyu

Foundation item: Sichuan Provincial Department of Science and Technology (No.20KJFX0151)

Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Hong-Bin Lyu. Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. oculistlvhongbin@163.com

Received: 2021-10-13 Accepted: 2022-06-30

Abstract

• Diabetic retinopathy (DR) is one of the common and severe ocular complications of diabetes mellitus, representing a leading cause of blindness among working-age people. Currently, the pathogenesis of DR is

not been explained, and the treatment effect is quite limited in advanced stage. In recent years, it has been revealed in some studies that DR could produce a particularly remarkable performance in genomics, transcriptomics, epigenomics, proteomics and metabolomics. With the rapid development of high-throughput sequencing and detection technology, different omics techniques can explore the occurrence and development mechanism of DR from different omics levels. This paper introduces the research progress of DR in different omics techniques, as well as the new direction of integration analysis in multiomics with DR, and finally discusses the current existing problems and future prospects of omics technology. Therefore, the application of different omics techniques to explore the occurrence and development of DR on different levels contributes a novel idea to unraveling the pathophysiological mechanism of DR and identifying new biomarkers and therapeutic targets.

• **KEYWORDS:** diabetic retinopathy; genomics; transcriptomics; epigenomics; proteomics; metabolomics

Citation: Zhou Q, Xiong X, Lyu HB. Research progress of omics technology in the field of diabetic retinopathy. *Guji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022;22(8):1304-1308

0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)的发病机制尚未完全阐明且晚期治疗效果不理想。目前研究发现基因表达异常、表观遗传改变、信号通路及代谢产物紊乱等都参与了DR进程。近年来,随着高通量技术的发展,DR在基因组学、转录组学、表观遗传组学、蛋白质组学以及代谢组学的研究,对探索DR病理生理机制、寻找预测和诊断分子标志物以及发现治疗靶点等提供了新思路。本文就DR在不同组学方面的研究进展予以综述。

1 DR与基因组学

基因组学是多组学的根基,其测序技术主要包括全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)和全外显子测序(whole exon sequencing, WES)技术。有研究指出,DR的发生有25%~50%的遗传可能性^[1]。近年来,随着测序技术的发展及测序成本的下降,DR的基因组学研究得到蓬勃发展。

1.1 GWAS与DR遗传风险 GWAS指将基因组中的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)作为分子遗传标记,再行全基因组水平上的对照或相关性分析,进而找到影响复杂性状的基因变异并确定疾病遗传风险。GWAS已应用于识别不同国家DR患者易感基因的研究中。Sheu等^[2]使用GWAS比较了中国437例增殖性

糖尿病视网膜病变 (proliferative diabetic retinopathy, PDR) 患者及 570 例病程大于 8a 的 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 患者, 结果共发现了 3 个新基因座 *TBC1D4 - COMMD6 - UCHL3* (rs9565164), *LRP2 - BBS5* (rs1399634) 以及 *ARLAC - SH3BP4* (rs2380261), 这些基因与胰岛素信号传导、炎症、脂质代谢途径有关, 但以上基因改变没有在患有 T2DM 的西班牙裔美国人群中发现。一项日本的研究使用 GWAS 分析了 11097 例 T2DM 患者 (包括 5532 例 DR 患者及 5565 例糖尿病肾病患者或无视网膜病变的 DM 患者对照) 的 SNP, 确定了两个新的 SNP 位点以及一个新的 DR 易感基因 *EHD3*^[3]。尽管以上研究已经描述了 DR 的遗传风险, 但结果的重复性差。还有一项研究发现了澳大利亚白人染色体 17q25.1 上 *GRB2* 附近的遗传变异与 DR 有关, 且该研究发现的遗传风险位点在同种族人群的 1 型糖尿病 (type 1 diabetes mellitus, T1DM) 及 T2DM 患者及印度 T2DM 患者中得到复制^[4]。故 GWAS 存在一定的局限性, 首先, GWAS 结果较容易呈现假阳性和假阴性, 这也是不同研究结果不一致的原因之一。其次, GWAS 发现的是易感位点, 而并非致病基因, 且多数易感位点位于非编码区或内含子上, 给研究带来一定困难。因此, 以外显子组为重点的检测方法可能为寻找 DR 遗传信息提供更好的指导。

1.2 WES 与 DR 遗传风险 外显子组仅占人类基因组的 1%, 但其涵盖了人体 85% 的基因信息。Ung 等^[5]对 57 例 PDR 患者及 13 例 10a 以上无糖尿病视网膜病变 (no diabetic retinopathy, NDR) 的 T2DM 患者进行 WES 检测, 共筛选出 44 个候选基因, 进一步在高糖培养的人视网膜血管内皮细胞中进行验证, 发现 *VEGFB*、*VPS13B*、*PHF21A*、*NAT1*、*ZNF600*、*PKHD1L1* 表达降低, 表明这 6 个基因可能在 PDR 的发展中发挥重要作用。因此, 基因组学为寻找不同种族 DR 患者的遗传易感基因提供了全面及客观的研究策略, 但目前的研究成果尚无法全面阐释 DR 的确切遗传方式和分子机制。

2 DR 与转录组学

转录组学是连接基因组与蛋白质组的纽带, 其原理是利用新一代高通量测序技术, 检测特定组织或器官在某一状态下所能转录出来的所有 RNA 的总和。目前转录组学已广泛应用于确定 DR 生物标志物、探索病理生理机制以及寻找治疗靶点中。

2.1 转录组学与 DR 生物标志物 张哲等^[6]利用转录组学技术测序分析了高糖对视网膜血管内皮细胞的影响, 结果共发现 449 个差异表达的基因, 差异基因主要富集在转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 信号通路、补体通路及氨基酸相关代谢通路。刘颖等^[7]将转录组学技术与生物信息分析相结合, 前瞻性比较了 DR 与 DM 患者外周血白细胞中差异表达的基因, 结果共筛选出 103 个差异表达的基因, 且差异表达的基因在抗原提呈和处理、自然杀伤细胞介导的细胞毒性通路中富集。其中溶血磷脂酸受体 3 (lysophosphatidic acid receptor 3, *LPAR3*) 和钙调蛋白 (calponin, *CNN1*) 在 DR 组表达显著升高, 推测其分别通过影响 Hippo 通路、调节血管平滑肌细胞的收缩与增生参与 DR 发生, 故 *LPAR3* 和 *CNN1* 可能是 DR 诊断的生物标志物, 但血糖血脂水平、合并症、运动及感染等因

素均可能影响结果, 故需扩大样本且联合多组学进行关联分析。Pan 等^[8]对 20 例 PDR 患者及 20 例 NPDR 患者进行血清转录组学分析, 共发现了 6 个基因 (*CCDC144NL*、*DYX1C1*、*KCNH3*、*LOC100506476*、*LOC285847* 和 *ZNF80*), 其预测 PDR 灵敏度和特异性可达到 91.7% 和 91.5%, 因此, 以上基因可作为 PDR 早期诊断的潜在生物标志物, 但尚需在更大规模人群中验证。

2.2 转录组学与 DR 病理生理机制 转录组学有助于认识 DR 病理过程中的基因调控机制。神经退行性病变和神经炎症是 DR 的关键病理过程, 但参与其过程中的胶质细胞、神经元及内皮细胞如何发挥作用却未完全研究清楚。12 周 Akimba (*Ins2^{Akimba} VEGF^{+/-}*) 小鼠可出现类似于 DR 患者的眼底改变, 包括微动脉瘤、毛细血管渗漏、神经变性、视网膜水肿等, 一项研究对 12 周 Akimba 小鼠视网膜进行单细胞 RNA 测序, 描述了 DR 模型中神经细胞、神经胶质细胞和免疫细胞中差异表达的基因网络, 结果发现视杆细胞、视锥细胞、双极细胞及大胶质细胞差异表达的基因主要在细胞代谢和核糖体基因表达、神经胶质增生、免疫系统激活、金属离子和氧化还原平衡失调, 结果认为大胶质细胞在 DR 早期神经退行性过程中发挥关键作用, 但该研究无法对 Müller 细胞和星形胶质细胞进行单独解析^[9]。Xiao 等^[10]对自发性 T2DM 的食蟹猴模型的视网膜进行单细胞 RNA 分析, 结果显示小胶质细胞对高血糖最敏感且差异表达基因最多。高血糖环境下 TNF- α 通过自分泌方式介导小胶质细胞的活化, 活化的小胶质细胞不仅通过分泌促炎因子影响神经元功能, 还可能与视网膜血管内皮细胞相互作用后破坏血-视网膜屏障, 从而导致视网膜血管损伤。

2.3 转录组学与 DR 治疗靶点 抗 VEGF 治疗可显著减少 PDR 患者视网膜新生血管, 但却促进了纤维化增殖, 为探究血管新生和纤维化增殖之间的关键调控基因, 牛瑞等^[11]使用抗 VEGF 药物干预恒河猴视网膜血管内皮细胞, 并联合转录组测序及生物信息分析, 结果发现抗 VEGF 药物可能导致钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II β 、胶原蛋白 III 型 $\alpha 1$ 链、细胞球蛋白及前列腺素 E 受体 2 等 TGF- β 通路相关基因表达异常, 进而加剧视网膜纤维化进程, 因此该研究为减轻抗 VEGF 药物治疗后视网膜纤维化提供了治疗切入点。Dong 等^[12]进一步利用转录组学分析了高糖对视网膜血管内皮细胞的影响, 结果表明 TGF- β 通路成员骨形态发生蛋白 4 (bone morphogenetic protein 4, *BMP4*) 和 SMAD 家族成员 9 (SMAD family member 9, *SMAD9*) 表达升高。通过进一步体内外实验验证后, 研究中认为 *BMP4* 可显著上调 *SMAD9* 的表达并促进 VEGF 和纤维化因子的表达, 因此 *BMP4* 可能是 DR 病程中抗 VEGF 和抗纤维化的双重治疗靶点。

3 DR 与表观遗传组学

DR 发病与遗传和环境因素密切相关, 表观遗传学是连接基因与环境因素之间的桥梁, 即在不改变 DNA 序列的前提下, 通过影响 DNA 甲基化、组蛋白修饰以及非编码 RNA 调控等表观遗传因素, 改变相关基因表达, 进而影响疾病的发生发展。其中, DNA 甲基化是一种主要的表观遗传修饰方式, 是在 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferase, DNMT) 的催化下, 以 S-腺苷甲硫氨酸作

为甲基供体,将活化的甲基加在胞嘧啶的5'碳端,将其修饰为5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)。5mC多位于启动子胞嘧啶-鸟嘌呤(cytosinephosphate guanine, CpG)岛,该区域高甲基化通常会导致基因表达的下调。目前,DNA甲基化检测已应用于DR预测、诊断及发病机制的探索中。

3.1 DNA甲基化与DR预测和诊断 Agardh等^[13]对T1DM伴PDR患者血液进行了全基因组DNA甲基化检测,总共鉴定了233个独特基因的349个CpG位点差异,其中79%呈低甲基化,这些位点代表了与炎症、氧化应激等相关的基因的高表达,通路分析提示差异性甲基化基因显著富集于自然杀伤细胞介导的细胞毒性通路。进一步前瞻性队列研究确定了17个基因的28个CpG位点可以作为预测T1DM患者发生PDR的表观遗传标记。Duraisamy等^[14]亦研究证明,与NDR患者相比,PDR患者外周血液DNA甲基化明显增高,提示DM患者的甲基化检测结果可以作为诊断PDR的生物标志物。

3.2 DNA甲基化与DR发病机制 临床和实验研究表明,DR进展并不会随着高血糖控制而终止,这称为“代谢记忆”现象,表观遗传学可以解释“代谢记忆”发生的机制^[15]。高血糖导致的线粒体DNA(mtDNA)功能障碍的恶性循环,是一系列视网膜病变的起端,其原因在于高糖诱导DNMT活性增加,导致mtDNA高甲基化从而损伤转录过程,进而产生线粒体功能障碍及毛细血管凋亡,对DNMT进行抑制具有恢复线粒体稳态及延缓DR发展的潜力^[16]。在DR大鼠模型中同样观察到,血糖控制差持续3mo的DM大鼠恢复血糖良好控制3mo后,视网膜DNMT1激活及5mC水平的增加并不能逆转,但是在诱导DM大鼠后立即进行血糖控制则可抑制视网膜DNMT1激活及5mC水平的增加。该结果表明在早期DM阶段进行血糖控制可以通过抑制DNA甲基化,从而维持线粒体稳态以及抑制DR的发展^[17]。因此,对DNA甲基化的干预可能对血糖控制良好,但DR仍持续进展患者的病情控制产生积极作用。

4 DR与蛋白组学

蛋白组学是指一个细胞或者组织基因组所表达的全部蛋白组,即从整体的角度分析细胞或者组织动态变化的蛋白质的组成成分、表达水平、翻译后修饰状态以及蛋白质之间的相互规律,进而了解疾病的发生发展。目前蛋白组学已应用于DR筛查、发病机制以及治疗的研究中。

4.1 蛋白组学与生物标志物 DR患者的玻璃体、房水、泪液以及唾液的蛋白组学研究为DR筛查提供了可能的生物标志物。Balaiya等^[18]运用蛋白组学分析了PDR患者与视网膜前膜或黄斑裂孔患者的玻璃体液,在PDR患者玻璃体液中发现了16种独特的蛋白质,这些蛋白质功能与凝血、补体和激肽释放酶-激肽系统相关,并可能成为PDR的生物标志物。PDR患者房水中与玻璃体中差异表达的蛋白类似,其原因可能在于玻璃体中蛋白突破玻璃体-房水屏障或血-房水屏障渗透至房水中。相关研究进一步比较PDR患者与年龄相关性白内障患者房水中的蛋白表达,共发现有191个蛋白改变,其中111个表达下调,80个表达上调,差异表达的蛋白主要在补体和凝血级联反应、PI3K/Akt信号通路以及胆固醇代谢通路富集^[19]。

DR患者泪液中脂质运载蛋白1、乳铁蛋白、催泪蛋白、溶菌酶C、亲脂蛋白A和免疫球蛋白λ链C区等具有更高的表达水平^[20]。在DR筛查中,将泪液蛋白组学与眼底照相相结合,获得了较高的敏感性和特异性(0.93/0.78)^[21]。唾液的收集更加简单无创且具可重复性,Chee等^[22]比较了T2DM伴PDR、NPDR和NDR患者的唾液蛋白组学结果,共发现了119种差异表达的蛋白,其中PDR组中增加最多的是与免疫炎症反应相关的防御蛋白和代谢蛋白,这也意味着差异表达的蛋白质可能成为NDPR进展到PDR的生物标志物。

4.2 蛋白组学与DR发病机制 2007年,首次有研究采用蛋白组学技术比较了正常大鼠及DM大鼠视网膜差异性蛋白谱^[23]。在DR体外研究中,Chen等^[24]在高糖培养的视网膜色素上皮细胞中鉴定出多种参与细胞代谢、细胞凋亡、信号转导、基因调控和转运的蛋白,并通过进一步在DR患者血浆中进行验证后得出结论,DR体外模型中存在完整的蛋白质网络并可能在DR发展中发挥作用。DR体内体外实验仅能用于早期DR的研究,目前仍缺乏晚期DR动物模型。随着精准医学的发展,越来越多的研究集中于玻璃体液的蛋白组学研究,原因在于玻璃体液作为一种通过手术获得的视网膜近端生物流体,可用以识别视网膜疾病的蛋白质和通路改变。李志琛等^[25]比较了14例DR患者与6例NDR患者的血浆蛋白组学,共筛选出41个差异表达蛋白,其可能通过促进新生血管形成、影响凝血系统和血小板活性等多种机制参与DR发病。Weber等^[26]应用蛋白组学分析了PDR患者与黄斑裂孔或视网膜前膜患者玻璃体液的蛋白质改变并进行通路分析,结果证实PDR患者玻璃体液中表现出显著的代谢通路的激活及神经保护通路的抑制。另有研究首先通过比较PDR与孔源性视网膜脱离患者玻璃体液蛋白组学,发现PDR患者玻璃体液中组织蛋白酶B、D和L显著下调,进一步在高糖诱导的视网膜血管内皮细胞模型中进行验证后证实,下调的组织蛋白酶B、D和L会通过降低自噬从而增加细胞凋亡^[27]。

4.3 蛋白组学与治疗 蛋白组学用于DR药物疗效评估及治疗指导。Ly等^[28]研究发现使用二甲双胍治疗与未治疗的T2DM(db/db)小鼠视网膜有63种差异表达的蛋白质,通路富集分析表明二甲双胍能使部分参与电子传递和细胞信号传导的蛋白质正常化。激光是DR的有效治疗方法,研究通过比较DR大鼠激光治疗前后的视网膜蛋白组学,证实33种蛋白质及2条生物学通路可能发挥作用^[29]。抗VEGF治疗已成为中晚期DR主要方式,但仍存在疗效有限、需反复注射以及注射后纤维化反应增加等不足。有研究发现,PDR患者玻璃体液中补体因子及凝血调节因子的富集程度明显增高,其可能通过诱发血栓形成、白细胞停滞和炎症反应,从而参与DR病理过程。而贝伐单抗玻璃体腔注射后,并未对补体因子及凝血调节因子表达水平产生影响,这也意味着类固醇、非甾体抗炎药以及他汀类药物可能对PDR的治疗产生积极疗效^[30]。近年来,越来越多的研究表明抗VEGF增加了PDR患者发生牵拉性视网膜脱离的风险,但其分子机制尚未完全清楚。通过对行抗VEGF及PRP治疗的PDR患者玻璃体液进行蛋白组学比较,发现抗VEGF诱导的纤连蛋白及纤维

蛋白原 a、b、c 链在玻璃体内表达增加,因此,PDR 患者接受抗 VEGF 治疗后应及时进行玻璃体切割手术^[31]。

5 DR 与代谢组学

代谢组学是对氨基酸、脂肪酸、碳水化合物或其他细胞代谢产物的定量收集,代谢产物水平可反映机体代谢功能。代谢组学分析具有较高的灵敏度及特异性,且方法相对经济简单并更易应用于临床,其提供的生物标志物在疾病早期诊断中具有巨大潜力。代谢组学分析分为非靶向和靶向检测,非靶向是将样本中所有的代谢物进行识别,范围广,可全面寻找差异的代谢物,主要用于初步筛查,但缺点在于准确性不高。靶向是对既定代谢物进行定量定性分析。代谢组学已应用于 DR 筛查及发病机制的研究中。

5.1 代谢组学与生物标志物 DR 相关代谢组学检测样本多来源于患者的血浆、血清、玻璃体液或房水。2021 年一篇系统评价纳入了 9 项 DR 患者的非靶向代谢组学研究,结果总结了包括 L-谷氨酰胺、L-乳酸、丙酮酸、乙酸、L-谷氨酸、D-葡萄糖、L-丙氨酸、L-苏氨酸、瓜氨酸、L-赖氨酸和琥珀酸在内 9 种 DR 潜在生物标志物,提示 DR 患者与正常人在氨基酸代谢和能量代谢方面存在差异^[32]。Curovic 等^[33]对不同分级的 DR 患者的血清脂代谢产物进行检测,发现血清 3,4 二羟基丁酸(3,4 dihydroxybutyric acid, 3,4-DHBA)是 DR 进展的独立风险标志物。

5.2 代谢组学与 DR 发病机制 DR 的代谢组学研究证实多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFA)及肌酸等参与 DR 启动与发展过程^[34]。PUFA 在血管生成、炎症调节等方面具有关键作用,DR 患者血清 PUFA 降低可能是视网膜病变进展的重要原因^[35]。Peng 等^[36]亦证实血浆不饱和脂肪酸 PGF2 α 降低是 NPDR 进展的危险因素,予以 STZ 诱导的 DM 小鼠 PGF2 α 类似物,可减轻视网膜毛细血管损伤。脂质代谢组学结合多元分析及靶点预测认为,渴络欣胶囊可通过逆转 db/db 小鼠 22 个关键脂质分子的表达从而延迟 DR,其过程涉及 MAPK/NF- κ B、PI3K/Akt 以及 MAPK/Erk 通路^[37]。Tomita 等^[38]分析了日本 43 例 PDR 患者及 21 例视网膜前膜患者玻璃体液代谢物,发现 PDR 患者肌酸水平明显降低。进一步建立氧诱导小鼠视网膜病变模型,并在小鼠出生后 12~16d 予以肌酸治疗,发现视网膜新生血管出现闭塞,此结果证实了肌酸降低与 PDR 新生血管形成之间的密切关系。代谢组学可反应机体的生理或病理状态,但其结果可能随年龄、性别、饮食、疾病状态、环境变化或者治疗干预等因素变化而变化。

6 DR 与多组学结合

尽管以上不同组学的研究在探索 DR 发病机制、提供分子标志物及寻找治疗靶点等方面提供了极大的帮助,但 DR 发生发展涉及多系统、多层次的改变,从单一角度无法很好地解释疾病的发展过程,故多组学联合分析能从多水平、多角度地描述 DR 特征。Skol 等^[39]联合基因组学和转录组学研究证实促卵泡激素基因(folliculin, *FLCN*)是 DR 的易感基因。视网膜激光光凝已广泛应用于 DR 的治疗中,Tababat-Khani 等^[40]对体外培养的人视网膜色素上皮细胞进行激光光凝,联合转录组学和蛋白组学进行分析表明,激光可诱导细胞保护性热休克蛋白 Hsp70 表

达,抑制血管通透性因子碳酸酐酶 9 的表达,从而通过参与细胞更新、修复和炎症过程,最终改善视网膜缺血及血管渗漏。

7 小结与展望

通过对不同组学研究结果的整合,能帮助我们全面认识 DR 的病理生理机制及生物标志物,为寻找治疗靶点提供新思路。然而,目前的研究仍存在局限性:(1)多组学之间相互调控的机制十分复杂,尚需进一步深入研究。(2)尽管生物标志物表现出较好的 DR 诊断和预测功能,但因不同研究对象的基因表型、治疗方案、血糖控制情况及随访时间等因素存在异质性,生物标志物还无法广泛应用于临床。我们还需进行多中心的临床研究,建立丰富的生物样本库并进行多组学检测。相信随着组学技术的发展和多组学的联合应用,DR 的诊治水平将得到重大提高。

参考文献

- 1 Chang YC, Chang EYC, Chuang L. Recent progress in the genetics of diabetic microvascular complications. *World J Diabetes* 2015; 6(5): 715-725
- 2 Sheu WHH, Kuo JZ, Lee IT, et al. Genome-wide association study in a Chinese population with diabetic retinopathy. *Hum Mol Genet* 2013;22(15):3165-3173
- 3 Imamura M, Takahashi A, Matsunami M, et al. Genome-wide association studies identify two novel loci conferring susceptibility to diabetic retinopathy in Japanese patients with type 2 diabetes. *Hum Mol Genet* 2021;30(8):716-726
- 4 Burdon KP, Fogarty RD, Shen WY, et al. Genome-wide association study for sight-threatening diabetic retinopathy reveals association with genetic variation near the GRB2 gene. *Diabetologia* 2015; 58(10): 2288-2297
- 5 Ung C, Sanchez AV, Shen LS, et al. Whole exome sequencing identification of novel candidate genes in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Vision Res* 2017;139:168-176
- 6 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. *中华眼底病杂志* 2018;34(4):377-381
- 7 刘颖,何徐军,陈建斌,等.糖尿病视网膜病变患者转录组学初步研究. *眼科* 2020;29(2):105-113
- 8 Pan J, Liu S, Farkas M, et al. Serum molecular signature for proliferative diabetic retinopathy in Saudi patients with type 2 diabetes. *Mol Vis* 2016;22: 636-645
- 9 van Hove I, de Groef L, Boeckx B, et al. Single-cell transcriptome analysis of the Akimba mouse retina reveals cell-type-specific insights into the pathobiology of diabetic retinopathy. *Diabetologia* 2020;63(10): 2235-2248
- 10 Xiao YH, Hu X, Fan SX, et al. Single-cell transcriptome profiling reveals the suppressive role of retinal neurons in microglia activation under diabetes mellitus. *Front Cell Dev Biol* 2021;9:680947
- 11 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. *中华眼底病杂志* 2018;34(3):275-280
- 12 Dong LJ, Zhang Z, Liu X, et al. RNA sequencing reveals BMP4 as a basis for the dual-target treatment of diabetic retinopathy. *J Mol Med (Berl)* 2021;99(2):225-240
- 13 Agardh E, Lundstig A, Perfilyev A, et al. Genome-wide analysis of DNA methylation in subjects with type 1 diabetes identifies epigenetic modifications associated with proliferative diabetic retinopathy. *BMC Med* 2015;13:182
- 14 Duraisamy AJ, Radhakrishnan R, Seyoum B, et al. Epigenetic modifications in peripheral blood as potential noninvasive biomarker of diabetic retinopathy. *Transl Vis Sci Technol* 2019;8(6):43

- 15 Zheng J, Cheng J, Zhang Q, *et al.* Novel insights into DNA methylation and its critical implications in diabetic vascular complications. *Biosci Rep* 2017;37(2):BSR20160611
- 16 Mishra M, Kowluru RA. Epigenetic modification of mitochondrial DNA in the development of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(9):5133-5142
- 17 Mishra M, Kowluru RA. The role of DNA methylation in the metabolic memory phenomenon associated with the continued progression of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(13):5748
- 18 Balaiya S, Zhou ZM, Chalam KV. Characterization of vitreous and aqueous proteome in humans with proliferative diabetic retinopathy and its clinical correlation. *Proteomics Insights* 2017;8:1178641816686078
- 19 Xiao H, Xin W, Sun LM, *et al.* Comprehensive proteomic profiling of aqueous humor proteins in proliferative diabetic retinopathy. *Transl Vis Sci Technol* 2021;10(6):3
- 20 Csösz É, Boross P, Csutak A, *et al.* Quantitative analysis of proteins in the tear fluid of patients with diabetic retinopathy. *J Proteom* 2012;75(7):2196-2204
- 21 Torok Z, Peto T, Csoz E, *et al.* Combined methods for diabetic retinopathy screening, using retina photographs and tear fluid proteomics biomarkers. *J Diabetes Res* 2015;2015:623619
- 22 Chee CS, Chang KM, Loke MF, *et al.* Association of potential salivary biomarkers with diabetic retinopathy and its severity in type-2 diabetes mellitus: a proteomic analysis by mass spectrometry. *Peer J* 2016;4:e2022
- 23 Quin GJ, Len ACL, 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
- 24 Chen YH, Chen JY, Chen YW, *et al.* High glucose - induced proteome alterations in retinal pigmented epithelium cells and its possible relevance to diabetic retinopathy. *Mol Biosyst* 2012;8(12):3107-3124
- 25 李志琛, 陈建斌, 张华北, 等. 糖尿病视网膜病变血浆差异蛋白分析. *解放军医学杂志* 2019;44(1):42-50
- 26 Weber SR, Zhao YJ, Ma JQ, *et al.* A validated analysis pipeline for mass spectrometry - based vitreous proteomics: new insights into proliferative diabetic retinopathy. *Clin Proteomics* 2021;18(1):28
- 27 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 (Albany NY)* 2020;13(1):973-990
- 28 Ly A, Scheerer MF, Zukunft S, *et al.* Retinal proteome alterations in a mouse model of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2014;57(1):192-203
- 29 Safaei A, Rezaei Tavirani M, Zamanian Azodi M, *et al.* Diabetic retinopathy and laser therapy in rats: a protein - protein interaction network analysis. *J Lasers Med Sci* 2017;8(Suppl 1):S20-S21
- 30 Loukovaara S, Nurkkala H, Tamene F, *et al.* Quantitative proteomics analysis of vitreous humor from diabetic retinopathy patients. *J Proteome Res* 2015;14(12):5131-5143
- 31 Wei QL, Zhang T, Jiang R, *et al.* Vitreous fibronectin and fibrinogen expression increased in eyes with proliferative diabetic retinopathy after intravitreal anti-VEGF therapy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58(13):5783-5791
- 32 Hou XW, Wang Y, Pan CW. Metabolomics in diabetic retinopathy: a systematic review. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2021;62(10):4
- 33 Curovic VR, Suvitaival T, Mattila I, *et al.* Circulating metabolites and lipids are associated to diabetic retinopathy in individuals with type 1 diabetes. *Diabetes* 2020;69(10):2217-2226
- 34 Elmasyr K, Ibrahim AS, Abdulmoneim S, *et al.* Bioactive lipids and pathological retinal angiogenesis. *Br J Pharmacol* 2019;176(1):93-109
- 35 Busik JV. Lipid metabolism dysregulation in diabetic retinopathy. *J LIPID RES* 2021;62(100017):1-12
- 36 Peng LY, Sun B, Liu MM, *et al.* Plasma metabolic profile reveals PGF2 α protecting against non - proliferative diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;496(4):1276-1283
- 37 Ge N, Kong L, Zhang AH, *et al.* Identification of key lipid metabolites during metabolic dysregulation in the diabetic retinopathy disease mouse model and efficacy of Keluoxin capsule using an UHPLC-MS-based non-targeted lipidomics approach. *RSC Adv* 2021;11(10):5491-5505
- 38 Tomita Y, Cagnone G, Fu ZJ, *et al.* Vitreous metabolomics profiling of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetologia* 2021;64(1):70-82
- 39 Skol AD, Jung SC, Sokovic AM, *et al.* Integration of genomics and transcriptomics predicts diabetic retinopathy susceptibility genes. *eLife* 2020;9:e59980
- 40 Tababat-Khani P, de la Torre C, Canals F, *et al.* Photocoagulation of human retinal pigment epithelium *in vitro*: unravelling the effects on ARPE-19 by transcriptomics and proteomics. *Acta Ophthalmol* 2015;93(4):348-354