

蛋白质组学结合生物信息学分析干眼的蛋白标志物

杨延婷¹, 师雅君², 杨光¹, 纪海洋², 刘婕¹, 洪珏¹, 张丹¹, 马晓芃^{1,2}

引用: 杨延婷, 师雅君, 杨光, 等. 蛋白质组学结合生物信息学分析干眼的蛋白标志物. 国际眼科杂志, 2025, 25(1): 104-111.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81904302); 上海市自然科学基金项目 (No. 22ZR1458500, 21ZR1460100); 上海市卫生健康委员会项目 (No. 20234Y0066); 上海市“科技创新行动计划”启明星项目 (扬帆专项) (No. 23YF1442000)

作者单位: ¹(200030) 中国上海市针灸经络研究所; ²(200437) 中国上海市, 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院

作者简介: 杨延婷, 女, 博士研究生, 助理研究员, 研究方向: 针灸治疗干眼的机制。

通讯作者: 马晓芃, 女, 博士研究生, 研究员, 博士研究生导师, 研究方向: 针灸治疗眼病. pengpengma@163.com

收稿日期: 2024-04-26 修回日期: 2024-11-25

摘要

目的: 通过生物信息学方法分析与干眼 (DE) 发病机制相关的差异蛋白质, 以期揭示其潜在的分子机制。

方法: 通过检索从建库至 2023-08-31 发表在 PubMed 和 EMBASE 数据库中的采用蛋白质组学方法检测干眼临床样本中蛋白质表达的文章, 挑选出差异蛋白, 并通过 STRING 数据库和 Cytoscape 软件进行枢纽基因筛选和模块分析, 进行蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 分析、基因本体 (GO) 功能注释和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。

结果: 最终纳入 21 篇文献, 确定 74 个差异表达的蛋白质。频率最高的差异蛋白为钙粒蛋白 A (calgranulin A, SA1008)、脂质运载蛋白 1 (LCN1)、溶菌酶 (LYZ)、乳铁蛋白-B (SCGB2A1)、富脯氨酸蛋白 4 (PRR4)、转铁蛋白 (TF) 和钙粒蛋白 B (S100A9)。前 10 个枢纽基因为血清白蛋白 (ALB)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白介素 6 (IL6)、IL1 β 、IL8、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、 α -抗胰蛋白酶 (SERPINA1)、IL10、补体 C3 (C3) 和乳铁蛋白 (LTF)。模块分析推测种子基因为 MMP9 和 PRR4。KEGG 分析显示差异表达的蛋白主要富集在 IL17 信号通路 (61.9%)。

结论: 研究结果揭示了 DE 的潜在分子靶点和途径, 并证实了 DE 的发病机制与炎症之间的关联。然而, 还需要进一步深入研究以证实这些生物标志物在临床实践中的意义。

关键词: 干眼; 蛋白质组学; 质谱分析; 生物标志物

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2025.1.19

Proteomics combined with bioinformatics analysis of protein markers of dry eye

Yang Yanting¹, Shi Yajun², Yang Guang¹, Ji Haiyang², Liu Jie¹, Hong Jue¹, Zhang Dan¹, Ma Xiaopeng^{1,2}

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81904302); Natural Science Foundation of Shanghai (No. 22ZR1458500, 21ZR1460100); Scientific Research Project of Shanghai Municipal Health Commission (No. 20234Y0066); Shanghai Sailing Program (No. 23YF1442000)

¹Shanghai Research Institute of Acupuncture and Meridian, Shanghai 200030, China; ²Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China

Correspondence to: Ma Xiaopeng. Shanghai Research Institute of Acupuncture and Meridian, Shanghai 200030, China; Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China. pengpengma@163.com

Received: 2024-04-26 Accepted: 2024-11-25

Abstract

• **AIM:** To analyze differential proteins associated with the pathogenesis of dry eye (DE) using bioinformatics methods, in order to reveal their potential molecular mechanisms.

• **METHODS:** Articles published in PubMed and EMBASE databases from the inception of the database to August 31, 2023, that used proteomic methods to detect protein expression in clinical samples of dry eye were searched. Differential proteins were selected and further analyzed using the STRING database and Cytoscape software for hub gene screening and module analysis. Protein-protein interaction (PPI) analysis, gene ontology (GO) functional annotation, and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed.

• **RESULTS:** A total of 21 articles were included, identifying 74 differentially expressed proteins. The most frequently occurring differential proteins were calgranulin A (SA1008), lipocalin-1 (LCN1), lysozyme C (LYZ), mammaglobin-B (SCGB2A1), proline-rich protein 4 (PRR4), transferrin (TF), and calgranulin B (S100A9). The top 10 hub genes were serum albumin (ALB), tumor necrosis factor (TNF), interleukin 6 (IL6), IL1B, IL8, matrix metalloproteinase 9 (MMP9), alpha-1-antitrypsin (SERPINA1), IL10, complement component 3 (C3), and lactotransferrin (LTF). Module analysis suggested MMP9

and PRR4 as seed genes. KEGG analysis showed that differential proteins were mainly enriched in the IL17 signaling pathway (61.9%).

• **CONCLUSION:** The results reveal potential molecular targets and pathways for DE and confirm the association between the pathogenesis of DE and inflammation. Further in-depth research is needed to confirm the significance of these biomarkers in clinical practice.

• **KEYWORDS:** dry eye; proteomics; mass spectrometry analysis; biomarkers

Citation: Yang YT, Shi YJ, Yang G, et al. Proteomics combined with bioinformatics analysis of protein markers of dry eye. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2025,25(1):104-111.

0 引言

干眼(dry eye, DE)是一种常见的眼科疾病,其发病率逐年攀升,并有低龄化发展的趋势^[1-4]。DE是一种多因素的眼表疾病,病因包括泪膜稳定性下降、渗透压增强、眼表炎症、损伤以及感觉神经异常等^[5-6]。环境污染、长期使用电子产品、衰老以及戴隐形眼镜等因素都与DE的发病紧密相关。DE常规诊断和临床评估往往基于患者的症状,但是该病的临床症状和体征之间缺乏一致性^[7]。由于DE缺乏诊断金标准,临床上只有约10%有症状的患者被确诊^[8-9]。此外,由于在临床试验中缺乏对治疗结果客观评估的标准,新药物和其他治疗方式的开发受到限制^[10]。因此,进一步研究DE潜在的生物标志物,将有利于提高早期治疗效果。

生物标志物具备揭示疾病严重程度和预测治疗效果的作用^[11]。临床中通过测定泪液中的蛋白质,建立基于泪液的非侵入性诊断技术具有巨大潜力。虽然泪液的样本量非常小,但其在生化分析中有着诸多优势,可作为一个全面的生物分子库,用于发现分子生物标志物^[12]。蛋白质组学技术被广泛用于寻找敏感且特异的生物标志物,特别是与当前常用的诊断方法结合,有助于早期诊断和治疗DE^[13]。利用蛋白芯片技术来分析蛋白质的表达谱,可用于研究蛋白质与蛋白质的相互作用,分析抗体的特性并筛选药物。由于其高通量、高灵敏度、高重复性、高稳定性和高自动化的特点,可用于鉴定DE患者的泪液成分^[14-16]。常用的检测泪液蛋白的方法包括膜微阵列、多重阵列、表面增强激光解吸/电离飞行时间质谱、基质辅助激光解吸/电离和相对和绝对定量的等值标记等^[17]。

STRING(<https://string-db.org/>)数据库是一个整合多种生物体中已知和预测蛋白质功能关联的相互作用数据的平台^[18]。分析功能性蛋白与蛋白间相互作用(protein-protein interaction, PPI)对于深入理解DE发病机制与蛋白质表达变化之间的关联非常关键。通过结合整合分析多个蛋白质数据集的结果,可以更好地理解DE发病的分子机制。本研究回顾和总结了近年来在DE领域应用的蛋白质组学开展的临床研究,通过使用STRING和生物信息学数据库工具确定蛋白质与细胞功能之间的关系,并获取更详尽DE标志性蛋白的信息。

1 资料和方法

1.1 资料 通过检索从建库至2023-08-31在PubMed和EMBASE上发表的文章,系统地回顾基于蛋白芯片或质谱

的蛋白质组学方法探索DE患者差异表达蛋白质的文献。检索策略包括医学主题词和自由词,根据不同的数据库进行调整。检索PubMed的策略为(dry eye OR dry-eye) AND (proteomics OR protein chip OR protein microarray OR mass spectrometry OR protein expression OR biomarker)。EMBASE检索策略为('dry eye'/exp OR 'dry eye' OR 'keratoconjunctivitis sicca') AND ('proteomics'/exp OR 'proteomics' OR 'protein chip' OR 'protein microarray' OR 'mass spectrometry' OR 'protein expression' OR 'biomarker'/exp OR 'biomarker')。排除如干燥综合征、红斑狼疮、类风湿性关节炎等继发性DE,并排除动物实验数据、结膜印迹样本和综述文章。将所有纳入的文章信息整理到Excel表格中用于后续生物信息学分析。

1.2 方法

1.2.1 PPI网络构建 将所有蛋白导入STRING数据库进行相关分析。在该数据库中构建差异表达蛋白质的PPI网络。设定中等的可信度阈值(0.4)以剔除在网络中不发生相互作用的节点蛋白。

1.2.2 枢纽基因和模块分析 将PPI相互作用网络分析结果以TSV表的形式导入Cytoscape软件,利用Cytohubba插件^[19]按程度筛选出相关性最强的10个枢纽基因。PPI网络中的模块分析使用Cytoscape软件中的分子复合体检测(Mcode)插件。默认参数为“度数截止=2”“节点得分截止=0.2”“k-core=2”和“最大深度=100”。

1.2.3 功能和通路富集分析 在Cytoscape软件中,选择Cluego对选定的差异蛋白进行基因本体(gene ontology analysis, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)功能富集分析,GO包括生物过程(biological process, BP)、细胞组分(cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF)等。

2 结果

2.1 DE相关的差异表达蛋白 初步检索数据库后共有514篇文献,排除不符合记录后共有21篇文献被纳入^[16,20-39]。经统计后共有164个差异蛋白。剔除重复的蛋白质和没有相关信息的蛋白质(A8K008、IGHA1和IGLC3)后,共有74个差异表达的蛋白质,其中出现频率≥5次的依次为钙粒蛋白A(calgranulin A, SA1008)、脂质运载蛋白1(lipocalin-1, LCN1)、溶菌酶(lysozyme C, LYZ)、乳腺珠蛋白-B(mammaglobin-B, SCGB2A1)、富脯氨酸蛋白4(proline-rich protein 4, PRR4)、转铁蛋白(Transferrin, TF)和钙粒蛋白B(calgranulinB, S100A9)。

2.2 蛋白质-蛋白质相互作用分析 使用STRING数据库分析74个DE相关的差异表达的蛋白,构建PPI网络图,见图1。使用Cytoscape下载并分析结果。根据程度值筛选出前10个枢纽基因为血清白蛋白(serum albumin, ALB)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白介素6(interleukin 6, IL6)、IL1 β 、IL8、基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)、 α -抗胰蛋白酶(alpha-1-antitrypsin, SERPINA1)、IL10、补体C3(complement component 3, C3)和乳铁蛋白(lactotransferrin, LTF),见图2。MCODE可以通过利用网络中蛋白质之间的固有关系寻找基因集群。通过使用MCODE从PPI网络中筛选出功能模块。模块(基因簇)1的种子基因为MMP9,模块(基因簇)2的种子基因为PRR4,见图2。

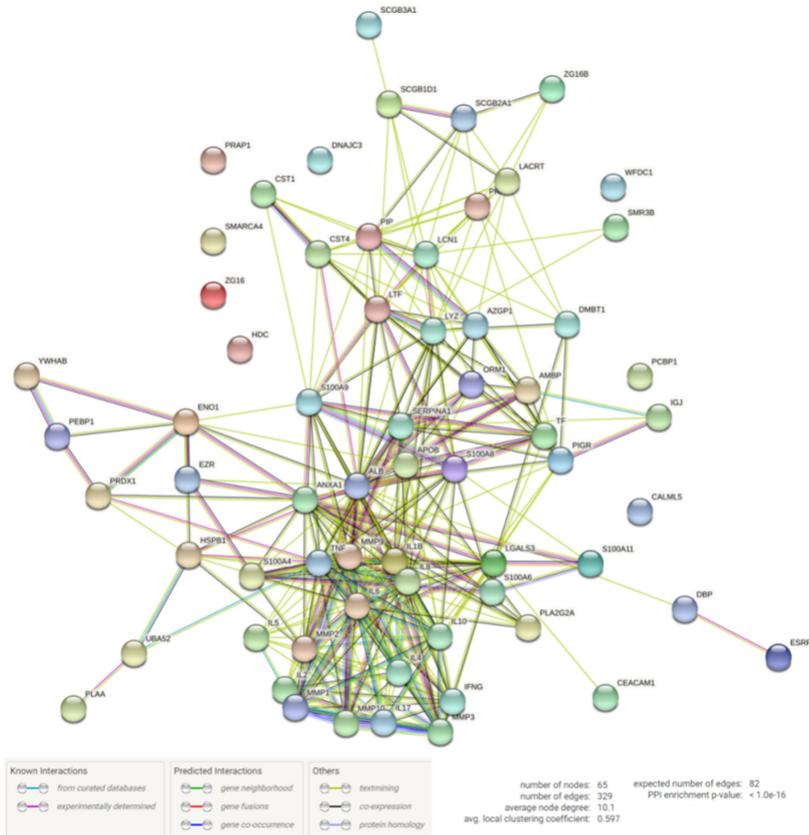


图1 通过 STRING 分析展示的泪液差异表达蛋白的相互作用网络 可信度分数阈值设置为中等(0.4)。

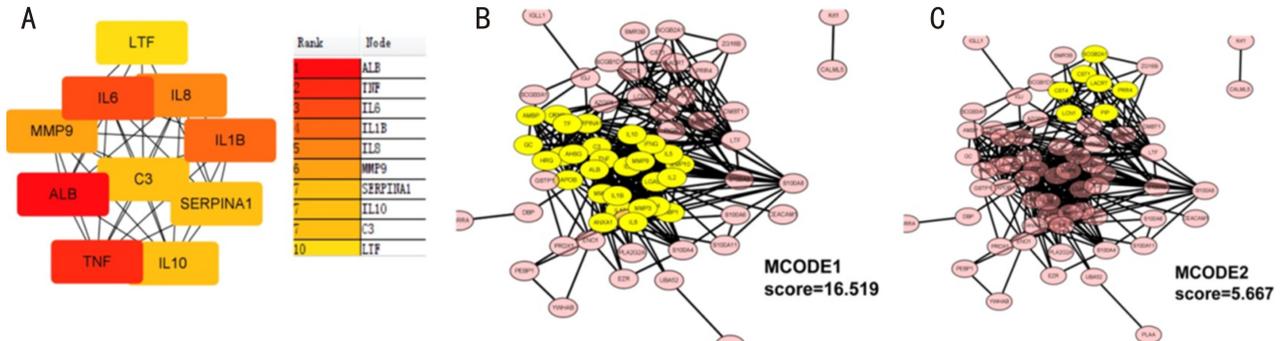


图2 筛选的枢纽基因及其模块分析结果 A:前10枢纽基因;B:功能模板(基因簇)1种子基因 MMP9;C:功能模板(基因簇)2种子基因 PRR4。

2.3 GO 功能注释分析 通过 Cytoscape 插件 Cluego 和 Cluepedia 对这 74 个差异表达的蛋白进行 GO 功能注释, 结果发现 BP 前五位的是 IL1 产生的调节 (36.39%)、白细胞分化的调节 (5.03%)、TNF 产生的调节 (4.48%) 和 IL1 产生 (4.26%), 以及通过 JAK-STAT 对受体信号传导途径的正向调节 (4.26%)。MF 中排名前五的是催化活性的负向调节 (32.65%), 细胞因子活性 (26.53%), 钙乙二醇 1-单氧酶活性的正向调节 (12.24%), 以及 NF- κ B 转录因子活性的正向调节 (6.12%) 和 Jun 激酶活性 (4.08%)。在 CC 中排名前五的是空泡腔 (25.00%)、IgA 免疫球蛋白复合物 (25.00%)、三级颗粒 (15.00%)、外部封装结构 (15.00%)、富含 ficolin-1 的颗粒腔 (10.00%), 见图 3。

2.4 KEGG 信号通路富集度分析 通过 STRING 数据库对差异表达的蛋白进行 KEGG 信号通路富集分析, 富集度最低的前 10 条通路是 IL17 信号通路、炎症性肠病、类风湿性关节炎、南美锥虫病、阿米巴病、异体移植再排斥、百日咳、IgA 生成的内部免疫网络、疟疾和细胞因子受体相互

作用信号通路, 见表 1。通过 Cytoscape 中的插件 Cluego 和 Cluepedia 进行 KEGG 分析结果显示主要富集的五条信号通路为 IL17 信号通路 (61.9%)、唾液分泌 (11.9%)、HIF-1 信号通路 (9.52%)、膀胱癌 (9.52%) 和铁死亡 (7.14%), 见图 4。

3 讨论

DE 的发病率持续攀升, 这使得对新药和治疗策略的需求日益迫切^[40]。近年来, DE 的发病机制已成为研究人员密切关注的焦点。尽管临床上已经开发出多种评估工具用于 DE 的检查, 包括评估眼表和泪液功能单位, 但在确诊 DE 所需的标准方面尚未形成统一的共识^[41]。此外, DE 诊断过程中的多种操作, 如滴眼液使用、试纸接触、触摸眼睛等均可能对测量结果产生干扰。例如, 在 Schirmer 测试中, 眼睑的接触可能会刺激反射性泪液分泌的增加, 从而影响测量结果的准确性^[42]。尽管某些其他测试被认为具有较高的客观性, 但结果依赖于临床医生对眼表变化进行评分, 如角膜荧光素染色, 这很容易受到观察者主观

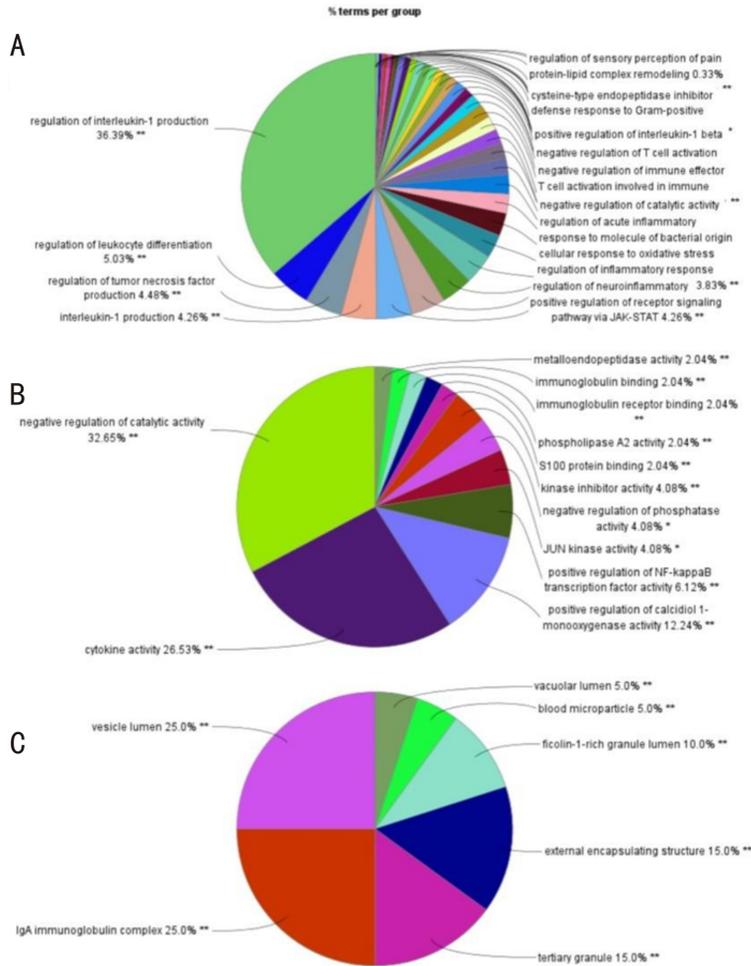


图3 GO 富集分析 A: 生物过程分析;B: 分子功能分析;C: 细胞成分分析。

表1 KEGG 途径富集分析中 DE 差异表达的蛋白最重要的模块

通路 ID	通路名称	基因数	FDR	网络中的匹配蛋白
hsa04657	IL17 signaling pathway	13	4.91E-14	IFNG, IL4, IL5, IL1B, MMP3, CXCL8, MMP1, IL17, S100A8, S100A9, MMP9, IL6, TNF
hsa05321	Inflammatory bowel disease	9	9.94E-10	IL2, IFNG, IL4, IL5, IL1B, IL17, IL6, TNF, IL10
hsa05323	Rheumatoid arthritis	8	3.28E-07	IFNG, IL1B, MMP3, CXCL8, MMP1, IL17, IL6, TNF
hsa05142	Chagas disease	8	7.56E-07	IL2, IFNG, C3, IL1B, CXCL8, IL6, TNF, IL10
hsa05146	Amoebiasis	8	7.56E-07	IFNG, HSPB1, PRDX1, IL1B, CXCL8, IL6, TNF, IL10
hsa05330	Allograft rejection	6	7.56E-07	IL2, IFNG, IL4, IL5, TNF, IL10
hsa05133	Pertussis	7	1.46E-06	C3, IL1B, CXCL8, CALML5, IL6, TNF, IL10
hsa04672	Intestinal immune network for IgA production	6	1.62E-06	IL2, IL4, IL5, PIGR, IL6, IL10
hsa05144	Malaria	6	2.08E-06	IFNG, IL1B, CXCL8, IL6, TNF, IL10
hsa04060	Cytokine-cytokine receptor interaction	10	6.38E-06	IL2, IFNG, IL4, IL5, IL1B, CXCL8, IL17A, IL6, TNF, IL10

注: FDR 为错误发现率(false discovery rate)。

判断的影响^[43]。近年来,蛋白质芯片技术取得了显著进展,已成为临床蛋白质组学研究的关键技术平台。这一技术的发展将为蛋白质组学研究提供更强大的工具。眼表生物标记物能够提供关键信息,有助于评估 DE 的进展,预测治疗效果、不良事件及药物相互作用。值得强调的是,泪液蛋白质组学研究也可用于评估其他眼部或全身性疾病的药物治疗效果和不良反应^[8,42]。

在一般人群中,刺激反应下泪液中的蛋白质浓度约为 8.1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$,而在无刺激状态下,泪液蛋白质含量约为 22.7 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ^[43]。这些蛋白质在防御眼表免受病原体侵害

方面有一定的作用,还可能参与角膜和结膜的修复过程^[44-46]。与健康人群比较,DE 患者的泪液蛋白质谱显示出显著的变化和差异^[26]。另外,诸如有氧运动、吸烟和配戴隐形眼镜等与 DE 相关的干扰因素可能导致眼表蛋白质的重新分布^[47-48]。由于眼表组织结构的复杂而精细,获得相应的组织样本不仅有难度,还可能对眼表产生损伤。因此,能够获得的组织样本数量有限,也使得分析眼表相关的蛋白质组成变复杂。然而,泪液作为眼表薄薄的一层细胞外液,其采集方法具有非侵入性,能够在最小化伤害的情况下获取样本。有研究表明即使是极少的泪液

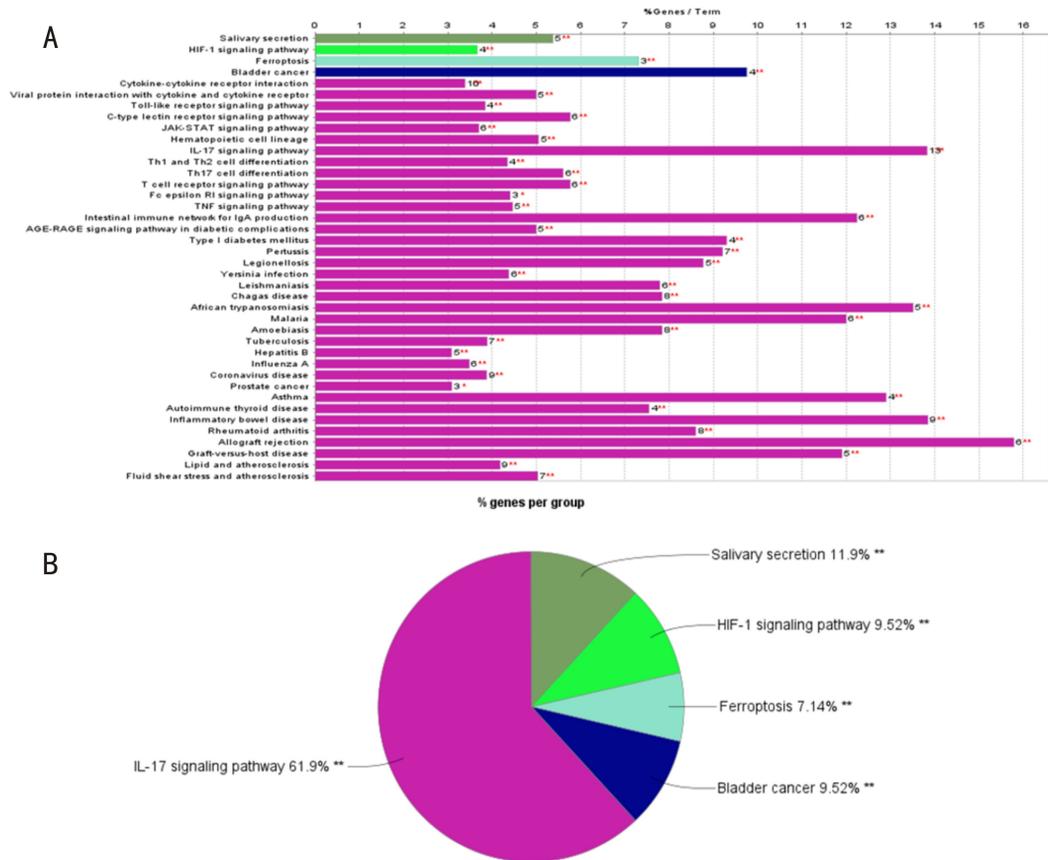


图4 KEGG 信号通路富集分析 A:柱状图;B:饼状图。

样本(<5 μL),也足以发现与DE相关的蛋白质组学生物标志物^[6-9]。

通过系统的文献检索和深入的数据挖掘,本研究发现SA1008、LCN1、LYZ、SCGB2A1、PRR4、TF和S100A9在164个差异蛋白中出现频率最高。已有研究证实S100A8和S100A9与DE的发病机制密切相关^[49],作为钙和锌的结合蛋白,在调节炎症过程和免疫反应中发挥着重要作用。此外,也有研究认为S100A9和S100A8是DE的潜在标志蛋白^[26]。与症状相关的研究发现,S100A8蛋白的表达水平与DE患者眼表的砂砾感明显相关,并且S100A8和S100A9与红眼和短暂视力模糊的症状相关,LCN1与眼脸沉重和流泪症状相关^[27]。在DE患者的泪液中,LCN1、LYZ、SCGB2A1、PRR4和TF的水平呈现下降趋势。这些蛋白质在眼表的防御机制中扮演重要角色。特别是LYZ、LCN1和防御素,构成了眼表先天免疫防御系统的核心。大量研究已经揭示,在DE患者中LYZ的水平降低,使其成为DE客观诊断测试的关键指标之一^[50-52]。值得注意的是,PRR4在DE患者眼表表达特征下降已有明确依据,但其在泪液中的确切生物学作用还需进一步研究^[32]。PRR4作为一种多功能蛋白质,其多种同位素和翻译后修饰的特性,为确定其在疾病状态下的功能后果提供了重要线索^[37]。此外,本研究还观察到S100A9和S100A8与LYZ和Clu之间的紧密相互作用,提示了这些蛋白质在DE的发病机制中的重要性。研究进一步证实了这四种蛋白与DE炎症机制的密切关系^[53-55]。动物实验也证实S100A9和Clu蛋白的表达上调可能是干燥环境引起DE症状的潜在机制^[56]。综上所述,DE患者泪液蛋白质组的变化倾向于炎症标记物的上调和保护性蛋白的下降。

本研究中蛋白质与蛋白质相互作用网络分析的结果为识别高度相关和共同表达的基因和蛋白质提供了坚实的基础,提示着它们很可能受相同机制的精细调控^[57]。关于蛋白质组学在干眼中的应用已有相关报道总结分析,但对蛋白质间相互作用及相关信号通路的深入分析仍显不足^[58]。本研究中,74个蛋白质之间的相互作用行为主要是通过额外的数据库证据以及实验证据得以确认的,其余的依据则大多来源于预测和通过文本挖掘得到的证据。蛋白质在生物体内以多种方式与其他蛋白质相互作用,以执行多样的生物功能。之外,蛋白质还可以通过间接相互作用调节彼此的合成和降解,交换反应产物,激活或抑制特定的信号通路,从而协同促进整个生物体的功能运作。这种直接和间接相互作用的广泛组合,决定了蛋白质之间功能的相互关联性^[59-61]。

本研究揭示了ALB、TNF、IL6、IL1 β 、IL8、MMP9、SERPINA1、IL10、C3和LTF等蛋白质与免疫和炎症反应的密切关联。其中,MMP9属于内肽酶家族,其活性依赖于锌和钙离子,研究证实MMP9在小鼠干眼眼表损伤中扮演着关键角色^[62]。进一步研究表明,随着泪液渗透压的增高,MMP9的产生增多,不仅破坏了角膜屏障,而且随着DE严重程度增加进一步加剧^[63-64]。一些研究者认为,TLR抑制剂可作为DE的潜在治疗药物^[65]。有研究发现DE疼痛感可能与IL6和IL8有关^[66-67]。在DE的发病机制中,已经明确TNF和IL1 β 的表达增加与眼表炎症和泪腺功能障碍有关^[68-69]。ALB基因编码的蛋白质是白蛋白(Albumin),主要负责维持血浆的胶体渗透压,同时也参与多种代谢过程和药物的运输。泪液中ALB可能与DE眼表炎症和免疫反应有关^[70],而SERPINA1可能通过

影响眼部的免疫反应和炎症过程间接与 DE 相关^[71]。LTF 的减少表明眼表防御系统严重受损,其稳态微环境被破坏^[72]。研究发现 DE 患者泪液中的 LTF 普遍下降,尤其是反射性泪液,LTF 浓度与轻度至中度 DE 患者的症状评分有关^[73]。C3 也在 DE 的炎症反应中发挥着重要作用,而针对 C3 及其补体系统的调节可能为 DE 的治疗提供新的策略^[74]。综上所述,这些蛋白质及其相互作用可能通过多种机制参与 DE 的发病过程,包括炎症反应的调节、角膜屏障的破坏、免疫细胞的激活和招募,以及眼表防御系统的损害。这些发现为 DE 的免疫调节机制提供了新的见解,并可能为未来的治疗策略提供潜在的靶点。

本研究通过 GO 富集分析揭示了差异表达的蛋白与免疫系统的紧密联系,特别是在 IL1 的产生调节、白细胞的生成调节、肿瘤坏死因子调控等方面。DE 发病机制涉及 Th17 相关细胞因子 IL6、IL23 和 IL17 的表达增加,其中 Th17 细胞分泌的 IL17 已被证实可以促进角膜上皮屏障的破坏。抗 IL17 的治疗策略被证实可以减轻 DE 的严重程度^[75-76]。此外,KEGG 富集分析显示这些差异表达的蛋白主要与 IL17 信号通路有关。IL17 的升高与慢性炎症免疫介导的疾病的发生有关^[77]。Gao 等^[78]发现 DE 患者泪液中 IL17 的水平增加,并且与眼病的严重程度呈正相关。此外,IL17 与眼表疾病指数之间也有相关性^[79]。IL17 的治疗潜力还没有得到深入研究,进一步研究确定 IL17 信号通路对 DE 的发病的影响,有潜力成为新的治疗方向。此外,缺氧诱导因子(HIF)-1 α 信号通路也在 DE 的发病机制中扮演重要角色^[80]。作为依赖氧气的转录因子,HIF-1 α 可以保护泪腺细胞免受 DE 引起的损伤。此外,有研究指出 DE 发生时,HIF-1 α 信号通路可以激活自噬,以维持泪腺的正常功能^[81]。因此,HIF-1 α 信号通路和 DE 的发病机制之间的关系也值得从更多角度深入研究。

泪液蛋白组学分析在眼科临床上有潜在的应用价值,但还需要开发更敏感、更可靠的蛋白鉴定方法。因为这些技术的检测成本高于传统技术,所以通过文本挖掘总结可以有效降低资金和时间成本。本研究通过生物信息学方法对 DE 的潜在分子靶点和途径进行了深入分析,揭示了与疾病发病相关的炎症机制。尽管分析基于广泛的文献筛选和生物信息学工具,但仍存在一些局限性:(1)数据集可能未能涵盖所有相关研究。(2)分析方法主要依赖于文献中的蛋白质组学数据,缺乏实验室验证,这意味着确定的差异表达的蛋白质和分子机制需要进一步的实验研究来确认其在 DE 中的作用。此外,纳入的文章比较陈旧,且缺乏大样本研究。分析原因可能是由于各种技术没有得到明显地更新和改进,或者对 DE 的研究相对有限,没有发挥其应有的价值。蛋白质芯片技术容易受到各种因素的影响,如不同的泪液采集方法、不同的操作、分析方法等。因此蛋白芯片技术和质谱技术在 DE 诊断和辅助治疗中的应用还需要进一步探索。本研究主要发现炎症与免疫的环节在 DE 中扮演着关键的角色。未来的研究需要进一步探讨 DE 以及其他疾病,例如炎症性肠病和膀胱癌之间可能存在的共同发病机制。探索这些生物标志物在临床实践中的应用,包括诊断、治疗和预后评估,将是未来研究的重要方向。

利益冲突声明: 本文不存在利益冲突。

作者贡献声明: 杨延婷、马晓芃论文选题与修改,初稿撰写;师雅君协助选题;杨光、纪海洋文献检索,数据分析;刘婕、洪珏、张丹选题指导,数据分析,论文修改。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

- [1] Papas EB. Diagnosing dry-eye: Which tests are most accurate? *Contact Lens Anterior Eye*, 2023,46(5):102048.
- [2] Stapleton F, Velez FG, Lau C, et al. Dry eye disease in the young: a narrative review. *Ocul Surf*, 2024,31:11-20.
- [3] Kobia - Acquah E, Ankamah - Lomotey S, Owusu E, et al. Prevalence and associated risk factors of symptomatic dry eye in Ghana: a cross-sectional population-based study. *Cont Lens Anterior Eye*, 2021,44(6):101404.
- [4] Valdés - Arias D, Locatelli EVT, Sepulveda - Beltran PA, et al. Recent United States developments in the pharmacological treatment of dry eye disease. *Drugs*, 2024,84(5):549-563.
- [5] Craig JP, Nelson JD, Azar DT, et al. TFOS DEWS II report executive summary. *Ocul Surf*, 2017,15(4):802-812.
- [6] Rao SK, Mohan R, Gokhale N, et al. Inflammation and dry eye disease-where are we? *Int J Ophthalmol*, 2022,15(5):820-827.
- [7] Tawfik A, Pistilli M, Maguire MG, et al. Association of dry eye symptoms and signs in patients with dry eye disease. *Ophthalmic Epidemiol*, 2024,31(3):274-282.
- [8] Labetoulle M, Benitez - Del - Castillo JM, Barabino S, et al. Artificial tears: biological role of their ingredients in the management of dry eye disease. *Int J Mol Sci*, 2022,23(5):2434.
- [9] Zhang XY, Wang LZ, Zheng YL, et al. Prevalence of dry eye disease in the elderly: a protocol of systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 2020,99(37):e22234.
- [10] Ousler GW, Gomes PJ, Welch D, et al. Methodologies for the study of ocular surface disease. *Ocul Surf*, 2005,3(3):143-154.
- [11] Chen JW, Zheng NY. Accelerating protein biomarker discovery and translation from proteomics research for clinical utility. *Bioanalysis*, 2020,12(20):1469-1481.
- [12] Zhou L, Beuerman RW. The power of tears: how tear proteomics research could revolutionize the clinic. *Expert Rev Proteomics*, 2017,14(3):189-191.
- [13] Ponzini E, Santambrogio C, de Palma A, et al. Mass spectrometry-based tear proteomics for noninvasive biomarker discovery. *Mass Spectrom Rev*, 2022,41(5):842-860.
- [14] Winiarczyk M, Biela K, Michalak K, et al. Changes in tear proteomic profile in ocular diseases. *Int J Environ Res Public Health*, 2022,19(20):13341.
- [15] Tong L, Zhou L, Koh SK, et al. Changes in tear proteome after acupuncture treatment in dry eye. *Clin Ophthalmol*, 2021, 15: 4585-4590.
- [16] Soria J, Durán JA, Etxebarria J, et al. Tear proteome and protein network analyses reveal a novel pentamer panel for tear film characterization in dry eye and meibomian gland dysfunction. *J Proteomics*, 2013,78:94-112.
- [17] 杨延婷,张丹,洪珏,等.蛋白芯片和质谱检测技术在干眼症中的应用. *国际眼科杂志*, 2020,20(9):1551-1555.
- [18] Szklarczyk D, Kirsch R, Koutrouli M, et al. The STRING database in 2023: protein-protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(D1):D638-D646.
- [19] Doncheva NT, Morris JH, Holze H, et al. Cytoscape stringApp 2.0: analysis and visualization of heterogeneous biological networks. *J Proteome Res*, 2023,22(2):637-646.

- [20] Grus FH, Podust VN, Bruns K, et al. SELDI - TOF - MS ProteinChip array profiling of tears from patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005,46(3):863-876.
- [21] Akkurt Arslan M, Kolman I, Pionneau C, et al. Proteomic analysis of tears and conjunctival cells collected with schirmer strips using timsTOF pro: preanalytical considerations. *Metabolites*, 2021,12(1):2.
- [22] Kramann C, Boehm N, Lorenz K, et al. Effect of contact lenses on the protein composition in tear film; a ProteinChip study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2011,249(2):233-243.
- [23] Li B, Sheng MJ, Li JH, et al. Tear proteomic analysis of Sjögren syndrome patients with dry eye syndrome by two-dimensional-nano-liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Sci Rep*, 2014,4:5772.
- [24] Srinivasan S, Thangavelu M, Zhang LW, et al. iTRAQ quantitative proteomics in the analysis of tears in dry eye patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012,53(8):5052-5059.
- [25] Lai YD, Li XY, Li T, et al. Endotoxin stabilizes protein arginine methyltransferase 4 (PRMT4) protein triggering death of lung epithelia. *Cell Death Dis*, 2021,12(9):828.
- [26] Leonardi A, Palmigiano A, Mazzola EA, et al. Identification of human tear fluid biomarkers in vernal keratoconjunctivitis using iTRAQ quantitative proteomics. *Allergy*, 2014,69(2):254-260.
- [27] Tong L, Zhou L, Beuerman RW, et al. Association of tear proteins with Meibomian gland disease and dry eye symptoms. *Br J Ophthalmol*, 2011,95(6):848-852.
- [28] Leonardi A, Sathe S, Bortolotti M, et al. Cytokines, matrix metalloproteases, angiogenic and growth factors in tears of normal subjects and vernal keratoconjunctivitis patients. *Allergy*, 2009,64(5):710-717.
- [29] Boehm N, Riechardt AI, Wiegand M, et al. Proinflammatory cytokine profiling of tears from dry eye patients by means of antibody microarrays. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011,52(10):7725-7730.
- [30] Hagan S, Tomlinson A. Tear fluid biomarker profiling: a review of multiplex bead analysis. *Ocul Surf*, 2013,11(4):219-235.
- [31] Versura P, Bavelloni A, Grillini M, et al. Diagnostic performance of a tear protein panel in early dry eye. *Mol Vis*, 2013,19:1247-1257.
- [32] Aluru SV, Agarwal S, Srinivasan B, et al. Lacrimal proline rich 4 (LPRR4) protein in the tear fluid is a potential biomarker of dry eye syndrome. *PLoS One*, 2012,7(12):e51979.
- [33] Versura P, Bavelloni A, Blalock W, et al. A rapid standardized quantitative microfluidic system approach for evaluating human tearproteins. *Mol Vis*, 2012,18:2526-2537.
- [34] Jung JH, Ji YW, Hwang HS, et al. Proteomic analysis of human lacrimal and tear fluid in dry eye disease. *Sci Rep*, 2017,7(1):13363.
- [35] Matheis N, Grus FH, Breitenfeld M, et al. Proteomics differentiate between thyroid-associated orbitopathy and dry eye syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015,56(4):2649-2656.
- [36] de Almeida Borges D, Alborghetti MR, Franco Paes Leme A, et al. Tear proteomic profile in three distinct ocular surface diseases: keratoconus, pterygium, and dry eye related to graft-versus-host disease. *Clin Proteomics*, 2020,17(1):42.
- [37] Perumal N, Funke S, Pfeiffer N, et al. Proteomics analysis of human tears from aqueous-deficient and evaporative dry eye patients. *Sci Rep*, 2016,6:29629.
- [38] Chen XL, Rao J, Zheng Z, et al. Integrated tear proteome and metabolome reveal panels of inflammatory-related molecules *via* key regulatory pathways in dry eye syndrome. *J Proteome Res*, 2019,18(5):2321-2330.
- [39] Huang Z, Du CX, Pan XD. The use of in-strip digestion for fast proteomic analysis on tear fluid from dry eye patients. *PLoS One*, 2018,13(8):e0200702.
- [40] O'Neil EC, Henderson M, Massaro-Giordano M, et al. Advances in dry eye disease treatment. *Curr Opin Ophthalmol*, 2019,30(3):166-178.
- [41] Kojima T, Dogru M, Kawashima M, et al. Advances in the diagnosis and treatment of dry eye. *Prog Retin Eye Res*, 2020,78:100842.
- [42] Gundersen M, Jensen P, Nilsen C, et al. Method development for omics analyses using schirmer strips. *Curr Eye Res*, 2024,49(7):708-716.
- [43] Dohlman CH, Friend J, Kalevar V, et al. The glycoprotein (mucus) content of tears from normals and dry eye patients. *Exp Eye Res*, 1976,22(4):359-365.
- [44] Tervo T, Vesaluoma M, Bennett GL, et al. Tear hepatocyte growth factor (HGF) availability increases markedly after excimer laser surface ablation. *Exp Eye Res*, 1997,64(4):501-504.
- [45] Pflugfelder SC, Stern ME. Biological functions of tear film. *Exp Eye Res*, 2020,197:108115.
- [46] Lépine M, Zambito O, Sleno L. Targeted workflow investigating variations in the tear proteome by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *ACS Omega*, 2023,8(34):31168-31177.
- [47] Sun C, Chen XF, Huang YM, et al. Effects of aerobic exercise on tear secretion and tear film stability in dry eye patients. *BMC Ophthalmol*, 2022,22(1):9.
- [48] Grus FH, Sabuncuo P, Augustin A, et al. Effect of smoking on tear proteins. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2002,240(11):889-892.
- [49] Tong L, Lan WW, Lim RR, et al. S100A proteins as molecular targets in the ocular surface inflammatory diseases. *Ocul Surf*, 2014,12(1):23-31.
- [50] Goren MB, Goren SB. Diagnostic tests in patients with symptoms of keratoconjunctivitis sicca. *Am J Ophthalmol*, 1988,106(5):570-574.
- [51] Boersma HG, van Bijsterveld OP. The lactoferrin test for the diagnosis of keratoconjunctivitis sicca in clinical practice. *Ann Ophthalmol*, 1987,19(4):152-154.
- [52] McDonnell A, Lee JH, Makrai E, et al. Tear film extensional viscosity is a novel potential biomarker of dry eye disease. *Ophthalmology*, 2019,126(8):1196-1198.
- [53] Lee D, Song S, Cho G, et al. Elucidating the molecular interactions between lipids and lysozyme: evaporation resistance and bacterial barriers for dry eye disease. *Nano Lett*, 2023,23(20):9451-9460.
- [54] Gernert M, Schmalzing M, Tony HP, et al. Calprotectin (S100A8/S100A9) detects inflammatory activity in rheumatoid arthritis patients receiving tocilizumab therapy. *Arthritis Res Ther*, 2022,24(1):200.
- [55] Nair AP, D'Souza S, Khamar P, et al. Ocular surface immune cell diversity in dry eye disease. *Indian J Ophthalmol*, 2023,71(4):1237-1247.
- [56] Sun YL, Cui AY, Wang LX, et al. Dry environment on the expression of lacrimal gland S100A9, Anxa1, and Clu in rats *via* proteomics. *Int J Ophthalmol*, 2024,17(3):435-443.
- [57] Robin V, Bodein A, Scott-Boyer MP, et al. Overview of methods for characterization and visualization of a protein-protein interaction network in a multi-omics integration context. *Front Mol Biosci*, 2022,9:962799.
- [58] 韦庆波, 丁宁, 杨小存, 等. 蛋白质组学技术在干眼研究及针刺治疗干眼中的应用. *国际眼科杂志*, 2024,24(1):58-61.
- [59] Hu J, Li Z, Rao B, et al. Improving protein-protein interaction prediction using protein language model and protein network features. *Anal Biochem*, 2024,693:115550.

- [60] Snel B, Bork P, Huynen MA. The identification of functional modules from the genomic association of genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002,99(9):5890–5895.
- [61] Jake G, Cary Gregory A, Wiley Jesse C, et al. Protein - protein interaction networks reveal paths connecting functional domains associated in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2021, 17 (S3):e057673.
- [62] Fini ME, Jeong S, Wilson MR. Therapeutic potential of the molecular chaperone and matrix metalloproteinase inhibitor clusterin for dry eye. *Int J Mol Sci*, 2020,22(1):116.
- [63] Lanza NL, Valenzuela F, Perez VL, et al. The matrix metalloproteinase 9 point-of-care test in dry eye. *Ocul Surf*, 2016,14 (2):189–195.
- [64] Choi M, Park YM, Ko BY. Comparative evaluation of matrix metalloproteinase-9 immunoassay and tear osmolarity measurement for diagnosing severity of dry eye disease. *Korean J Ophthalmol*, 2023,37 (5):409–416.
- [65] Reins RY, Lema C, Courson J, et al. MyD88 deficiency protects against dry eye-induced damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018,59 (7):2967–2976.
- [66] Xu R, Zhang YW, Gu Q, et al. Alteration of neural activity and neuroinflammatory factors in the insular cortex of mice with corneal neuropathic pain. *Genes Brain Behav*, 2023,22(2):e12842.
- [67] Enríquez-de-Salamanca A, Castellanos E, Stern ME, et al. Tear cytokine and chemokine analysis and clinical correlations in evaporative-type dry eye disease. *Mol Vis*, 2010,16:862–873.
- [68] Zhang Y, Li JM, Lu R, et al. Imbalanced IL-37/TNF- α /CTSS signaling disrupts corneal epithelial barrier in a dry eye model *in vitro*. *Ocul Surf*, 2022,26:234–243.
- [69] Zhao DD, Zhao HX, He Y, et al. BMSC alleviates dry eye by inhibiting the ROS - NLRP3 - IL - 1 β signaling axis by reducing inflammation levels. *Curr Eye Res*, 2024,49(7):698–707.
- [70] Sebbag L, Moody LM, Mochel JP. Albumin levels in tear film modulate the bioavailability of medically-relevant topical drugs. *Front Pharmacol*, 2019,10:1560.
- [71] Mogensen EH, Poulsen ET, Thøgersen IB, et al. The low-density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1) interactome in the human Cornea. *Exp Eye Res*, 2022,219:109081.
- [72] Yoltan DP, Mende S, Harper A, et al. Association of dry eye signs and symptoms with tear lactoferrin concentration. *J Am Optom Assoc*, 1991,62(3):217–223.
- [73] Schmelter C, Brueck A, Perumal N, et al. Lectin-based affinity enrichment and characterization of N-glycoproteins from human tear film by mass spectrometry. *Molecules*, 2023,28(2):648.
- [74] Ben -Eli H, Solomon A, Aframian DJ, et al. Serological and hematological characteristics of Sjogren's syndrome and dry eye syndrome patients using a novel immune serology technique. *PLoS One*, 2020,15 (12):e0244712.
- [75] Chen YH, Wang SD, Alemi H, et al. Immune regulation of the ocular surface. *Exp Eye Res*, 2022,218:109007.
- [76] De Paiva CS, Chotikavanich S, Pangelinan SB, et al. IL - 17 disrupts corneal barrier following desiccating stress. *Mucosal Immunol*, 2009,2(3):243–253.
- [77] Rafael-Vidal C, Pérez N, Altabás I, et al. Blocking IL-17: a promising strategy in the treatment of systemic rheumatic diseases. *Int J Mol Sci*, 2020,21(19):7100.
- [78] Gao F, Hong XP, Ding FD, et al. High level of inflammatory cytokines in the tears: a bridge of patients with concomitant exotropia and dry eye. *Oxid Med Cell Longev*, 2021,2021:5662550.
- [79] Liu RJ, Gao CF, Chen HJ, et al. Analysis of Th17-associated cytokines and clinical correlations in patients with dry eye disease. *PLoS One*, 2017,12(4):e0173301.
- [80] Ji YW, Lee JH, Choi EY, et al. HIF1 α - mediated TRAIL expression regulates lacrimal gland inflammation in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020,61(1):3.
- [81] Seo Y, Ji YW, Lee SM, et al. Activation of HIF-1 α (hypoxia inducible factor-1 α) prevents dry eye-induced acinar cell death in the lacrimal gland. *Cell Death Dis*, 2014,5(6):e1309.