

蛋白质组学技术在干眼研究及针刺治疗干眼中的应用

韦庆波¹, 丁宁¹, 杨小存¹, 吴霞¹, 沈乎醒², 高卫萍², 吴云川¹, 姜志欣³

引用: 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.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No.81774419); 国家自然科学基金青年项目(No.82205259); 江苏省卫生健康发展研究中心开放课题(No. JSHD2021053); 南京市中医药科技专项项目(No. ZYYB202229)

作者单位:¹(210023) 中国江苏省南京市, 南京中医药大学;
²(210029) 中国江苏省南京市, 南京中医药大学附属医院眼科;
³(210003) 中国江苏省南京市, 江苏省卫生健康发展研究中心
作者简介: 韦庆波, 毕业于南京中医药大学, 博士, 讲师, 研究方向: 针灸推拿干预五官科疾病。

通讯作者: 姜志欣, 毕业于南京中医药大学, 硕士, 副研究员, 研究方向: 中医药干预五官科疾病. 563332833@qq.com
收稿日期: 2023-04-04 修回日期: 2023-11-29

摘要

干眼是指由泪液的质、量和动力学异常等原因导致的泪膜稳定性下降或眼表微环境失衡, 造成多种眼部不适甚至视功能障碍。其发病机制复杂, 目前治疗尚局限于缓解症状, 保护视功能。针刺治疗干眼有效, 但作用机制尚未完全明确。蛋白质组学技术能系统全面反映蛋白质的功能、结构以及相互作用关系, 将蛋白质组学技术应用于针刺治疗干眼的研究, 不仅可从不同病因病程揭示干眼蛋白质水平的动态变化, 寻找潜在生物标志物, 还能系统挖掘针刺治疗干眼的调控机制, 为针刺治疗的理论研究和针刺作用的基础研究提供依据。本文旨在探讨蛋白质组学在干眼临床和基础研究中的潜在应用价值, 为干眼的诊疗及针刺机制研究提供科学有效的思路。

关键词: 干眼; 针刺; 蛋白质组学

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2024.1.11

Application of proteomics technology in dry eye disease and acupuncture treatment

Wei Qingbo¹, Ding Ning¹, Yang Xiaocun¹, Wu Xia¹, Shen Huxing², Gao Weiping², Wu Yunchuan¹, Jiang Zhixin³

Foundation items: General Program of National Natural Science Foundation of China (No.81774419); Youth Program of National Natural Science Foundation of China (No.82205259); Open Project of Jiangsu Health Development Research Center (No. JSHD2021053); Traditional Chinese Medicine Science and Technology Special Project of Nanjing (No. ZYYB202229)

¹Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China; ²Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu

Province, China; ³Jiangsu Health Development Research Center, Nanjing 210003, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Jiang Zhixin. Jiangsu Health Development Research Center, Nanjing 210003, Jiangsu Province, China. 563332833@qq.com

Received: 2023-04-04 Accepted: 2023-11-29

Abstract

• Dry eye disease (DED) refers to a condition characterized by reduced stability of the tear film or an imbalance in the microenvironment of the ocular surface, resulting from abnormalities in quality, quantity and kinetics of tear. This condition leads to various ocular discomforts and even visual impairment. The pathogenesis of DED is multifactorial and current treatment mainly focuses on symptom relief and preservation of visual function. Acupuncture has shown effectiveness in treating dry eye, although its underlying mechanism remains incompletely understood. Proteomics technology offers a comprehensive and systematic approach to studying the functions, structures and interactions of proteins. Its application in DED research can provide valuable insights into the dynamic changes in protein levels associated with different etiology or the course of DED and facilitate the identification of potential biomarkers. Furthermore, proteomics can systematically explore the regulatory mechanisms underlying acupuncture treatment for DED, providing a theoretical basis for acupuncture treatment research and contributing to the understanding of its effects at a fundamental level. This paper aims to explore the potential application of proteomics in both clinical and basic research on DED. Ultimately, it strives to offer scientific and effective strategies for the diagnosis and treatment of DED and advance our knowledge of the mechanisms underlying acupuncture therapy.

• KEYWORDS: dry eye disease; acupuncture; proteomics

Citation: Wei QB, Ding N, Yang XC, et al. Application of proteomics technology in dry eye disease and acupuncture treatment. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2024, 24(1): 58-61.

0 引言

干眼(dry eye disease, DED)是临床常见的眼表疾病之一, 据估计我国的干眼患者人数已接近3亿, 且发病率呈现不断上升的趋势^[1-2]。干眼症状表现多样, 如: 干涩感、异物感、眼痒、眼胀、畏光、疼痛等, 已成为严重影响国民眼部健康的重要问题。而不同严重程度的干眼, 治疗方案亦不相同, 轻度干眼通过人工泪液等进行治疗, 即可起到缓解症状的作用; 中重度干眼则需在人工泪液的基础上增加

局部抗炎治疗,临床常用药物为糖皮质激素,如:氟米龙滴眼液等,但此类药物长期使用会发生眼压升高、继发感染等副作用,停药后炎症又得不到控制^[3]。临床研究证实,针刺治疗可显著提高干眼患者的泪膜稳定性,促进泪液分泌^[4],但其具体机制尚未得到明确证实,可能与调控眼表炎症、抑制泪腺细胞凋亡、促进泪液蛋白分泌等因素有关^[5-8]。蛋白质组学是基于生物体的整体水平,研究细胞、组织和器官的蛋白质组成及变化规律的一门科学^[9]。通过观察蛋白质的表达、修饰、蛋白质-蛋白质网络作用以及动态转化情况等,从而在蛋白质水平上揭示生物体的活动以及对疾病发生、发展和治疗等过程的认知^[10-11]。近年来,随着蛋白质组学技术的日益发展成熟,其在眼科疾病中的应用亦日趋广泛^[12]。本文对近年来国内外蛋白质组学技术在针刺治疗干眼中的应用情况进行系统整理归纳,以期对针刺治疗干眼的研究提供新的研究思路和方法。

1 蛋白质组学技术在干眼临床和基础研究中的应用

1.1 蛋白质组学技术在干眼临床研究中的应用

目前临床对干眼的检查和诊断方法呈现多样化趋势,但是多数检查检测方法都存在不同程度的主观性以及客观量化指标和分析缺乏等缺点。由于干眼的发病机制不同,需要多种检查检测技术的联合应用,从而提高干眼诊断的效率和特异性^[13]。蛋白质组学则有希望通过对不同差异性蛋白表达和蛋白质翻译修饰的研究,挖掘可应用于干眼早期诊断的标记性蛋白,为干眼的诊断、鉴别诊断、分型、严重程度、治疗靶标、干预疗效和疾病预后等提供较为全面的依据。

Zhou 等^[14]通过定量蛋白质组学联合等量异位标签技术(iTRAQ),对 56 例干眼患者和 40 名健康志愿者的泪液潜在生物标志物进行识别,发现 6 种蛋白上调(包括:α-烯醇酶、α-1 酸性糖蛋白 1、S100 A8、S100 A9、S100 A4 和 S100 A11)和 4 种蛋白下调(包括:催乳素诱导蛋白、载脂蛋白-1、乳铁蛋白和溶菌酶)与干眼相关,而随机采用以上 4 种蛋白质标记物组合对于干眼进行诊断,其准确性可达 96%(灵敏性:91.0%,特异性:90.0%),此外,通过 3 种与炎症相关的蛋白质(包括:S100 A8、S100 A9 和 α1-酸性糖蛋白 1)的联合检测,可对干眼的严重程度进行监测。Srinivasan 等^[15]通过 iTRAQ 技术对 18 例不同严重程度干眼患者的泪液蛋白情况进行分析,共发现 386 种蛋白质,脂质运载蛋白-1、溶菌酶和催乳素诱导蛋白等在 DED 的各种类型中均表现出显著下调,在中重度 DED 及其他类型 DED 尚存在多种蛋白质的显著下调,其中以中重度 DED 泪液蛋白质的下调数量最多,所涉及的功能包括:应激反应、免疫反应过程、生物调节过程以及离子转运等。

按照泪液的主要成分或功能异常情况对干眼进行分类,其最主要的两种类型为:水液缺乏型和蒸发过强型^[16]。Perumal 等^[17]招募了 80 例受试者,平均分为 4 组,分别是:健康受试者组、水液缺乏组(DRYaq)、蒸发过强组(DRYlip)和二者结合组(DRYaqlip),通过基于质谱的蛋白质组学技术策略对泪液蛋白质组学进行深入研究,发现与健康受试者组比较,DRYaq、DRYlip 和 DRYaqlip 组泪液中均有大量显著差异表达的蛋白质;而对泪液的靶标蛋白质组学研究发现,与健康受试者组比较,富含脯氨酸蛋白 1/4 和酶原颗粒蛋白 16 同源物 B 在 DRYaq 和 DRYaqlip 组中显著降低,但在 DRYlip 组中仅略有降低,乳腺珠蛋白 2 和脑恶性肿瘤缺失基因 1 在 DRYaq 和

DRYaqlip 组中均显著降低,催泪蛋白仅在 DRYaqlip 组显著降低,S100A8、S100A9 在 DRYaq 和 DRYaqlip 组中均显著增加,但在 DRYlip 组中仅略有增加,α-烯醇化酶、血清转铁蛋白、磷脂酰乙醇胺结合蛋白 1 和 α-1-酸性糖蛋白 1 在 DRYaq 和 DRYaqlip 组中均显著增加,乙醛脱氢酶和乙醛脱氢酶 3 家族成员 A1 则仅在 DRYaqlip 组中显著增加。

干燥综合征(Sjögren syndrome,SS)是以外分泌腺功能障碍为特征的自身免疫性疾病,主要受累器官是泪腺和唾液腺。在干眼中,SS-DED 是最为严重的一类,且并发症发生率最高^[18]。Kuo 等^[19]通过对 10 例 SS-DED 女性患者和 10 例非 SS-DED 女性患者的泪液蛋白质组学研究发现,与非 SS-DED 患者相比,稳定控制的 SS-DED 受试者仍然存在泪液分泌较少、眼表炎症程度较高、泪液 MMP-9/乳铁蛋白的浓度比较高以及泪液蛋白质更加多样化等情况,而在丰富的泪液蛋白质中,脂质运载蛋白-1、催泪蛋白和催乳素等诱导蛋白的光谱强度较低。通过以上方法不仅可以对 SS-DED 监测,避免稳定控制的 SS-DED 患者病情再次恶化,同时可以对不同类型的干眼进行鉴别。

目前,DED 的研究大多选择单眼进行,并依此得出结论,而涉及泪液蛋白质组学的研究则多采用一组 DED 患者的泪液进行汇集分析^[20-21]。Kuo 等^[22]对 23 例女性干眼患者的研究发现,DED 患者的双眼可能具有相似但又不完全相同的眼表表现和泪液蛋白质组。虽然在 DED 患者的双眼中,大多数眼表稳态标志物和泪液生物学标志物并没有发生显著差异,但多数临床参数和泪液生物学标志物在双眼间存在显著关联性,其中乳铁蛋白和溶菌酶 C 在 DED 患者的两只眼睛之间显示出高度显著的相关性。眼表动态平衡标记物和泪液蛋白表现上的差异性表明,一只眼睛的表现并不能代表另一只眼睛或两只眼睛的表现。而左右眼差异的发生可能与非侵入式泪膜破裂时间检测具有一定的相关性,因为在该检测过程中会反射性地刺激另一只眼睛的泪液分泌,从而暂时增强其泪膜的稳定性^[23]。因此,在研究过程中,应采用更严格的评价指标评估双眼的严重程度,并从更为严重一侧的眼睛中收集泪液样本,进行蛋白质组学的数据分析,防止在此过程中丢失部分潜在的重要信息。

1.2 蛋白质组学技术在探究干眼发病机制中的基础研究进展

SS 的诊断主要取决于临床评估和特异性抗体,主要表现为:泪腺和唾液腺中的大量淋巴细胞浸润,以及血液中的抗核抗体(ANA)和类风湿因子水平^[24-25]。虽然有许多理论对 SS 外分泌腺分泌功能的病因进行阐述,但确切的机制仍未可知。Zhou 等^[26]利用兔自身免疫性干眼模型,通过 iTRAQ 和纳米液相色谱-串联质谱(nano-LC-MS/MS)对泪液进行蛋白质组学分析,并通过高分辨率多反应监测(MRM)验证特定蛋白质的研究发现,在造模 2、4 wk 后,泪液中 S100 A6、S100 A9 和血清白蛋白上调,而血清转铁蛋白(TF)、催乳素诱导蛋白(PIP)、聚合免疫球蛋白受体(pIgR)和 Igγ 链 C 区下调,采用相对和绝对定量的不等量标签(mTRAQ)标记的高分辨率 MRM 验证 S100 A6、TF、PIP 和 pIgR 的变化,显示泪液蛋白发生了显著变化,这些蛋白可能被用作干眼诊断和预后的生物标志物。在非 SS-DED 泪液中也发现其中部分蛋白质改变,这表明不同类型 DED 的病理学基础是共同的,然而,pIgR 似乎是 SS 所特有的。

2 蛋白质组学技术在针刺治疗干眼中的应用

2.1 蛋白质组学技术在干眼中医证型中的应用 干眼属于中医“白涩症”和“神水将枯”的范畴。《审视瑶函》中云:“不肿不赤,爽快不得,沙涩昏朦,名曰白涩”。干眼的主要证型包括:肝经郁热,肺阴不足和气阴两虚等^[27]。由于中医辨证存在一定的主观性,而如何运用现代生物学技术,对中医证型进行阐述,探索疾病中不同证候的本质特征,具有非常重要的使用价值。刘培等^[28]采用数据非依赖性采集(DIA)高分辨率色谱-质谱技术(LC-MS),对5例肝经郁热型干眼患者与5例健康志愿者的泪液蛋白质组学对比发现,共存在127个差异蛋白(其中:115个上调,12个下调),涉及的生物过程包括:补体激活、经典途径和Fcγ受体信号通路等,涉及的差异蛋白包括:Fcγ受体介导的吞噬作用、PI3K-Akt信号通路和原发性免疫缺陷等,而节点蛋白包括:外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族成员1(ENPP1)、表皮生长因子受体(EGFR)、70 kDa 热休克蛋白4(HSPA4)和柠檬酸合成酶(CS)等。然而,其他干眼证型的蛋白质组学研究尚未见文献报道,对不同证型之间蛋白质组学差异比较研究尚未开展,尚需进一步的研究证实。

2.2 蛋白质组学技术在针刺治疗干眼临床研究中的应用

临床发现,针刺治疗可显著改善干眼患者的泪膜稳定性,促进泪液分泌。多项系统评价和Meta分析研究亦证实,针刺在干眼的治疗中疗效确切,但具体分子机制尚不明确^[4,29-30]。而通过观察针刺后DED患者泪液蛋白质组学的变化,有可能为深入了解针刺治疗DED的作用机制提供更多依据。Tong等^[31]通过对15例接受针刺治疗的干眼患者进行泪液蛋白质组学分析发现,经过1 mo的针刺治疗,泪液中分泌蛋白的总体含量呈现增加趋势,其中以溶菌酶、催乳素诱导蛋白和S100 A11等3种蛋白质的增加最为明显。

眼部作为性激素的重要靶器官,性激素受体(包括:雄激素、雌激素、催乳素以及孕激素等)在人的角膜、泪腺及睑板腺等眼表组织中分布广泛^[32],围绝经期女性由于性激素水平的下降,导致泪膜稳定性下降和眼部的炎症反应加重,干眼的发病风险明显增加,且发病率远超男性^[33]。围绝经期干眼患者通过人工泪液治疗仅能缓解症状,效果并不理想^[34],而激素替代疗法虽可促进房水分泌,但不能改善患者泪液的质量,且长期使用有增加干眼风险的可能^[35-36]。临床研究显示,针刺对围绝经期干眼有潜在的治疗价值^[37-38]。Liu等^[39]通过二维纳米液相色谱耦合串联质谱法(2D Nano-LC-MS/MS)技术对针刺治疗围绝经期干眼女性的泪液蛋白质组学研究发现,针刺联合人工泪液治疗可下调泪液中细胞质蛋白以及与增殖相关的蛋白质的表达,并可上调分泌蛋白以及与免疫和调节相关的蛋白质的表达。

2.3 蛋白质组学技术在针刺治疗干眼基础研究中的应用

针刺治疗具有整体性和多靶点性等特点,与蛋白质组学的整体性和系统性相契合。针刺与蛋白质组学技术相结合,开展针刺治疗的理论研究和针刺作用的基础研究已得到广泛发展^[40]。因此,将蛋白质组学运用于针刺治疗干眼的基础研究,对深入挖掘其潜在机制有积极的推动作用。Qiu等^[41]通过针刺治疗新西兰兔干眼模型,取穴:攒竹、丝竹空、太阳,每次30 min,每周3次,共10次,通过对治疗前后干眼模型兔泪液蛋白质组学的研究发现,针刺后

泪液收集时间较前缩短,泪液中蛋白质含量增加,并发现针刺可调控6种蛋白质上调(包括:泪液脂蛋白、富组氨酸糖蛋白、α-1-抗蛋白酶、血凝酶、维生素D结合蛋白和α-2-HS-糖蛋白等)和5种蛋白质下调(包括:膜联蛋白A1、解旋酶样转录因子、血清淀粉样蛋白A-3、15 kDa蛋白A和S100 A9等)。

3 展望和思考

近年,蛋白质组学在临床和基础研究中发展迅速,但在眼科疾病尤其是干眼的研究中,仍存在诸多不足之处。目前,对针刺治疗干眼蛋白质组学的临床研究样本主要集中于泪液,其优点在于方便获取,避免给患者带来不必要的眼部损伤和痛苦。然而,针刺治疗干眼蛋白质组学的基础研究开展较为缓慢,与干眼发病相关的眼表组织(包括:角膜、结膜和泪腺等)的蛋白质组学研究尚需进一步全面开展。此外,大部分干眼的蛋白质组学研究,还局限在研究相关蛋白质的变化情况,只有加大对蛋白质之间的相互作用关系、蛋白质翻译后修饰功能、差异蛋白数据挖掘、表达蛋白和功能蛋白之间的转变融合以及针刺治疗中特异性生物标记物的深入挖掘,才能为干眼的早期预防、疗效评价和疾病预后等方面提供科学依据。

参考文献

- [1] 干眼诊疗中心规范化建设专家共识专家组,中国康复医学会视觉康复专委会干眼康复专业组,晋秀明.中国干眼诊疗中心规范化建设专家共识(2021).中华实验眼科杂志,2021,39(6):473-476.
- [2] Stapleton F, Alves M, Bunya VY, et al. TFOS DEWS II epidemiology report. Ocul Surf, 2017,15(3):334-365.
- [3] Hakim FE, Farooq AV. Dry eye disease. JAMA, 2022,327(5):478-479.
- [4] Wei QB, Ding N, Wang JJ, et al. Acupoint selection for the treatment of dry eye: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Exp Ther Med, 2020,19(4):2851-2860.
- [5] 韦庆波,林佳,顾嘉凌,等.针灸治疗干眼症的临床与机制研究现状.中华中医药杂志,2021,36(1):319-323.
- [6] 韦庆波,徐倩,丁宁,等.针刺对干眼兔结膜胆碱能抗炎通路的影响.中华中医药杂志,2022,37(1):411-415.
- [7] 李宝花,宁博彪,魏宇娇,等.TLRs信号通路在干眼发病机制中的研究进展.国际眼科杂志,2021,21(5):827-831.
- [8] 韦庆波,徐倩,丁宁,等.电针对干眼兔泪腺高迁移率族蛋白B1的影响.中华中医药杂志,2022,37(6):3466-3470.
- [9] 卫军营,钱小红.蛋白质组学研究技术进展.中华检验医学杂志,2009,32(2):137-141.
- [10] Zhan XQ, Li B, Zhan XH, et al. Innovating the concept and practice of two-dimensional gel electrophoresis in the analysis of proteomes at the proteoform level. Proteomes, 2019,7(4):36.
- [11] 韦庆波,高卫萍,赵凡,等.蛋白质组学在干眼症研究中的应用进展.辽宁中医杂志,2019,46(2):429-431.
- [12] 伍满,谭亭,王平.泪液蛋白质组学分析在眼部疾病中的应用及研究进展.国际眼科杂志,2021,21(4):656-659.
- [13] 亚洲干眼协会中国分会,海峡两岸医药卫生交流协会眼科学专业委员会眼表与泪液病学组,中国医师协会眼科医师分会眼表与干眼学组.中国干眼专家共识:检查和诊断(2020年).中华眼科杂志,2020,56(10):741-747.
- [14] Zhou L, Beuerman RW, Chan CM, et al. Identification of tear fluid biomarkers in dry eye syndrome using iTRAQ quantitative proteomics. J Proteome Res, 2009,8(11):4889-4905.
- [15] 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.

- [16] Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, et al. TFOS DEWS II definition and classification report. *Ocul Surf*, 2017,15(3):276-283.
- [17] 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.
- [18] Hwang JH, Lee JH, Chung SH. Comparison of meibomian gland imaging findings and lipid layer thickness between primary Sjögren syndrome and non-sjögren syndrome dry eyes. *Ocul Immunol Inflamm*, 2020,28(2):182-187.
- [19] Kuo MT, Fang PC, Chao TL, et al. Tear proteomics approach to monitoring sjögren syndrome or dry eye disease. *Int J Mol Sci*, 2019,20(8):1932.
- [20] Arita R, Mizoguchi T, Kawashima M, et al. Meibomian gland dysfunction and dry eye are similar but different based on a population-based study: the hirado-takushima study in Japan. *Am J Ophthalmol*, 2019,207:410-418.
- [21] Nebbioso M, Del Regno P, Gharbiya M, et al. Analysis of the pathogenic factors and management of dry eye in ocular surface disorders. *Int J Mol Sci*, 2017,18(8):1764.
- [22] Kuo MT, Fang PC, Kuo SF, et al. Tear proteomics study of dry eye disease: which eye do you adopt as the representative eye for the study? *Int J Mol Sci*, 2021,22(1):422.
- [23] Koh S, Ikeda C, Watanabe S, et al. Effect of non-invasive tear stability assessment on tear meniscus height. *Acta Ophthalmol*, 2015,93(2):e135-e139.
- [24] Tsubota K, Fujita H, Tsuzaka K, et al. Mikulicz's disease and Sjögren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000,41(7):1666-1673.
- [25] 中华医学会风湿病学分会.干燥综合征诊断及治疗指南.中华风湿病学杂志, 2010,11:766-768.
- [26] Zhou L, Wei RH, Zhao P, et al. Proteomic analysis revealed the altered tear protein profile in a rabbit model of Sjögren's syndrome-associated dry eye. *Proteomics*, 2013,13(16):2469-2481.
- [27] 彭清华. 中医眼科学. 第3版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 119-121.
- [28] 刘培, 蒋鹏飞, 梁昊, 等. 肝经郁热型干眼患者的泪液蛋白质组学研究. 中华中医药杂志, 2022,37(5):2712-2717.
- [29] Na JH, Jung JH, Park JG, et al. Therapeutic effects of acupuncture in typical dry eye: a systematic review and meta-analysis. *Acta Ophthalmol*, 2021,99(5):489-498.
- [30] Kim BH, Kim MH, Kang SH, et al. Optimizing acupuncture treatment for dry eye syndrome: a systematic review. *BMC Complement Altern Med*, 2018,18(1):145.
- [31] Tong L, Zhou L, Koh SK, et al. Changes in tear proteome after acupuncture treatment in dry eye. *Clin Ophthalmol*, 2021, 15: 4585-4590.
- [32] 刘超, 王传富. NFκBp65、NOS2 在去势雄兔角膜、结膜和泪腺中的表达及意义. 眼科研究, 2006,24(1):81.
- [33] 邵毅, 余瑶, 余静, 等. 鬼针草滴眼液治疗兔围绝经期干眼症的实验研究. 中国中药杂志, 2015,40(6):1151-1155.
- [34] Truong S, Cole N, Stapleton F, et al. Sex hormones and the dry eye. *Clin Exp Optom*, 2014,97(4):324-336.
- [35] Feng YH, Feng G, Peng SL, et al. The effects of hormone replacement therapy on dry eye syndromes evaluated by Schirmer test depend on patient age. *Cont Lens Anterior Eye*, 2016,39(2):124-127.
- [36] AlAwlaqi A, Hammadeh M. Examining the relationship between hormone therapy and dry-eye syndrome in postmenopausal women: a cross-sectional comparison study. *Menopause*, 2016,23(5):550-555.
- [37] 郭文宣, 曹宁, 韩昀彤, 等. 针灸治疗围绝经期干眼症疗效系统评价. 中国民族民间医药, 2022,31(2):80-85.
- [38] 温勇, 曾汉东, 秦智勇, 等. 经络脏腑辨证针灸治疗围绝经期肝肾阴虚型干眼症的临床观察. 中国民族民间医药, 2018,27(3):111-113.
- [39] Liu QY, Liu JL, Ren CD, et al. Proteomic analysis of tears following acupuncture treatment for menopausal dry eye disease by two-dimensional nano-liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Int J Nanomedicine*, 2017,12:1663-1671.
- [40] 张鸿嫣, 卢圣锋, 孙志岭, 等. 针灸研究领域应用蛋白质组学技术的文献计量学分析. 中国中西医结合杂志, 2016,36(7):827-830.
- [41] Qiu XD, Gong L, Sun XH, et al. Efficacy of acupuncture and identification of tear protein expression changes using iTRAQ quantitative proteomics in rabbits. *Curr Eye Res*, 2011,36(10):886-894.