

组学技术在年龄相关性黄斑变性中的临床应用

马 静(综述), 徐新荣(审校)

基金项目: 江苏省社会发展项目(编号:BE2018757)

作者单位: 210000 江苏,南京中医药大学第一临床医学院
作者简介: 马 静(1993-),女,在读硕士研究生,研究方向:中西医结合眼底病研究。E-mail:2323906410@qq.com
通讯作者: 徐新荣(1964-),男,医学博士,主任医师,博士研究生导师,研究方向:玻璃体视网膜和青光眼诊治、准分子激光角膜屈光手术。E-mail:xinrong_xu@163.com

[摘要] 年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration,AMD)是常见的老年性致盲眼病。该文从 AMD 发病机制及组学技术在 AMD 中的临床应用进展作一综述。
[关键词] 组学技术; 年龄相关性黄斑变性; 精准医学
[中图分类号] R 77 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2020)06-0639-04
doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2020.06.26

Clinical application of omics technology in age-related macular degeneration MA Jing, XU Xin-rong. *The First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu 210000, China*

[Abstract] Age-related macular degeneration(AMD) is a common senile eye disease that causes blindness. In this paper, we review the research progress of AMD pathogenesis and clinical application of omics technology in AMD.
[Key words] Omics technology; Age-related macular degeneration(AMD); Precision medicine

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration,AMD)是全球主要致盲性眼病之一,目前全球成人患病率约为 3%,预计 2040 年影响全世界将近 2.88 亿人^[1]。我国 AMD 发病率呈逐年上升趋势^[2]。因此,深入研究 AMD 的发生和发展机制,探索新的预防和治疗途径已成为国际眼科发展所面临的重大问题。

1 AMD 发病机制

AMD 主要由细胞和视网膜退行性变引起不可逆性的视力下降或丧失,主要表现为布鲁赫膜(Bruch's membrane)增厚、视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium,RPE)色素沉着过度和 RPE 细胞损耗等。AMD 临床主要分为萎缩型(干性)和新生血管型(湿性或渗出型)两种^[3]。萎缩型 AMD 主要表现为玻璃膜疣、RPE 异常和地图样萎缩改变;新生血管型 AMD 主要表现为脉络膜新生血管、RPE 脱离或盘状纤维化^[4]。目前,AMD 确切的生理病理学机制尚未完全了解。研究^[5]表明年龄、吸烟、饮食习惯、性别以及基因变异与 AMD 的发病率有显著的相关性。干性 AMD 至今尚无确切有效的治疗措施,目前以药物治

疗为主。湿性 AMD 的主要治疗手段以针对脉络膜新生血管发生、发展中起关键作用的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)作为治疗靶点的药物为主,如哌加他尼、兰尼单抗、康柏西普等^[6,7]。光动力疗法结合抗 VEGF 治疗湿性 AMD 可减少药物注射次数,并对单一治疗不敏感的患者起到一定作用。然而,这些治疗需要特殊设备,药物价格也十分昂贵,而药物反复球内注射不仅对患者心理造成很大压力,还给家庭和社会带来沉重的经济负担。因此,深入研究 AMD 的发生和发展机制,探索新的预防和治疗途径已成为国际眼科发展所面临的重大问题。组学技术的迅猛发展为探索本病的发病机制,寻找有效的治疗手段带来了新的契机。

2 组学技术在 AMD 中的临床应用

高通量组学技术从整体角度研究人类各组织细胞结构、基因、蛋白及分子间的相互作用,涵盖了基因、蛋白、代谢、转录等多个组学内容,使人们对细胞、组织及人体有了多水平全面而深刻的认知。在 AMD 的研究中,该技术日益应用于各个方面,基因组学可依靠已证实的基因结构判断出 AMD 发展倾

向,开辟新的基因靶向的精准治疗;代谢组学可以将特定的生物标志物用来进行早期 AMD 的诊断;蛋白组学可以指导蛋白靶向的临床治疗。

2.1 基因组学在 AMD 中的应用进展 据统计,高达 71% 的 AMD 风险归因于遗传因素,同时遗传因素还会影响患者对治疗方案的反应差异^[8]。家系研究和流行病学研究表明,AMD 的遗传率高达 23%。从 2005 年第一次对 AMD 进行全基因组关联研究至今,AMD 易感基因如 CFH、LOC387715/HTRA1、TIMP3、SKIV2L 等已在不同人群中得到验证^[9]。而随着全基因组关联研究的发展和应用,又发现部分发生频率较低的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与 AMD 的发病有关。Neale 等^[10]研究发现,SNP 位点 rs10468017 与 AMD 显著相关,可通过减少 LIPS 的表达减少 AMD 的发生。总的来说,基于目前已识别出的与 AMD 相关的基因变异,多数与以下 3 个通路有关:补体通路(如 CFH、CFI、CFB 和 C3)、脂质代谢(如 LIPC、CETP 和 APOE)和细胞外基质(如 COL8A1、COL10A1 和 COL15A1)^[11]。针对补体因子生物制剂的研发是近年干性 AMD 防治的热点。Volz 和 Pauly^[12]在 II 期临床实验中使用补体因子 D 的选择性抑制剂人源化的单克隆抗体 lampalizumab 治疗 AMD 地图样萎缩,并发现萎缩灶的面积减少了 20%。提示补体抑制很可能成为 AMD 治疗的新方向。

2.2 代谢组学在 AMD 中的应用进展 目前,越来越多的研究^[13,14]证明代谢功能障碍在 AMD 的发生和发展中起着重要作用。脂褐素积累是促进 AMD 发展的潜在危险因素,可随着年龄增长在全身各个组织包括 RPE 中积累,导致 AMD 线粒体功能紊乱和氧化应激^[15],促进 AMD 的发生和发展。玻璃膜疣沉积物是地图样萎缩进展的重要因素,其分子组成成分载脂蛋白 E、淀粉样成分、补体成分和玻璃体结合蛋白被羟基磷灰石球体和大 HAP 结节包裹着,说明与矿物形成有关的代谢变化也参与 AMD 的发生^[16]。研究^[17]发现鞘脂类也可能与磷酸钙在 RPE 基底膜沉积有关,这种代谢产物对光感受器的凋亡有促进作用,同时在脉络膜和视网膜新生血管的形成中也可能发挥着作用。RPE 细胞与光感受器之间的代谢连接意味着 RPE 细胞层的丢失不仅对脉络膜毛细血管层有害,而且也会导致晚期 AMD 光感受器变性。Kurihara 等^[18]发现脉络膜毛细血管扩张引起的缺氧环境可导致脂质分子积累、BrM 和 RPE 增厚及光感受器变性。而除了不同细胞类型

的病理改变外,缺氧 RPE 内的葡萄糖代谢也受到损害,在体内缺氧环境下,从氧化磷酸化到糖酵解代谢途径的转变证明了这一点^[19]。在 AMD 的不同阶段,脂质是最稳定的代谢物。虽然脂质在 AMD 发病机制中的作用还有待充分阐明^[20],其中最重要的代谢产物属于甘油磷脂家族,它提供了神经膜的结构稳定性和流动性。最可能的来源是降解的细胞膜和光感受器外节段。利用这些研究为识别 AMD 的潜在代谢生物标志物和构建 AMD 模型提供了基础。代谢组学对 AMD 的进一步研究将揭示潜在代谢物,这些代谢物可以作为早期生物标志物,甚至可以作为未来治疗 AMD 的精密医疗工具,并且有助于人们高效、准确地评价药物的安全性,全面认知疾病的过程^[21]。

2.3 蛋白组学在 AMD 中的应用进展 蛋白质组学是指对产生的蛋白质及其修饰进行的大规模研究,可以通过使用公共数据库,以高灵敏度分析复杂蛋白质,为多种疾病的早期诊断和药物治疗靶点提供新的研究方向^[22]。我国蛋白质组学在眼底病研究中的应用尚处于起步阶段,但已成为眼底疾病研究的重要工具,蛋白质组学为一些眼病提供了额外的候选蛋白和途径^[23],敏感的、经过验证的生物标志物对于 AMD 的早期检测以及判断药物对 AMD 进展的影响至关重要。已有文献^[24]报道,某些蛋白组学生物标志物对 AMD 患者血浆识别准确率已高达 76%。目前,蛋白组学已通过多项研究和蛋白质表达情况证实 AMD 的发生与自身免疫反应、氧化应激以及自体吞噬等有密切联系。叶子等^[25]研究发现 AMD 眼组织中氧化修饰蛋白含量明显高于正常眼组织,提示氧化蛋白修饰物可能在玻璃膜疣的形成过程中发挥了重要作用。齐赞等^[26]发现 Bruch 膜中与氧化应激相关的修饰可能导致 RPE 细胞中蛋白降解功能的破坏,受损蛋白的积累和 RPE 细胞的死亡,提示与氧化应激相关的脂质和蛋白修饰在 AMD 的病因学中有着重大的意义。Nordgaard 等^[27]确定了在 AMD 早期阶段,蛋白质表达水平的变化体现在热休克蛋白和凋亡信号通路的组成上,如 α A 晶状体蛋白,电压依赖性阴离子选择通道蛋白 1 (voltage-dependent anion channel 1, VDAC1) 及谷胱甘肽 S 转移酶 pi (glutathione S-transferase π , GST- π)。其中一些已被识别的蛋白质的改变与线粒体功能密切相关,晚期 AMD 来源的 RPE 细胞蛋白表达变化主要与 CRABP1 和 CRALBP 有关,提示着晚期 AMD 蛋白的变化与维甲酸相关功能障碍有关。蛋白质组学目

前已应用于探索 AMD 中泪膜^[28]、房水^[29]、玻璃体^[30]中的蛋白质含量,房水(aqueous humor,AH)是电解质和蛋白质的复杂混合物,AH 中的蛋白质来自血浆。玻璃体中大多数蛋白质是由血浆衍生,血浆中相关的蛋白质可以揭示 VEGF 以外的生物标志物,可以帮助我们更好地了解 AMD 的发病机制,找到新的生物标志物,使精准医疗的开发成为可能。

2.4 转录组学在 AMD 中的应用进展 转录组学是功能基因组学研究的重要组成部分,是在整体水平上研究细胞中所有基因转录和相关调控规律的学科。简而言之,AMD 中转录组学的研究即从 RNA 水平上研究基因转录表达对 AMD 发生发展的影响。董一^[31]在研究中发现 AMD 患者中 TMEM176A 和 TMEM176B 基因表达均表现为明显的升高趋势,FCMR、MS4A1、CD3G、SNORD116-24、KIR3DL3 以及 LEF1 则表现出明显的下调趋势,考虑上述基因参与 AMD 的发生发展。同时,通过差异基因的功能进行注释和基因本体学的富集分析,显示影响 AMD 发生发展的基因产物富集于细胞膜表面及浆膜外侧,可通过膜受体介导的信号转导参与淋巴细胞的激活、分化及固有、适应性免疫应答,且上述差异性表达基因在分子功能、细胞组分及生物进程三方面表现出高度的一致,提示免疫反应在 AMD 疾病的发生发展中发挥着重要的作用。然而目前,转录组学在 AMD 中的研究十分匮乏,尚有较大进步空间。

3 结语

随着精准医疗的发展,组学技术已成为医学研究前沿中不可或缺的一部分,AMD 研究已聚焦于发现可用于预测诊断、治疗和预后反应判断等方面的生物标志物,在 AMD 中的应用必将推动该领域的极大进展。虽然组学技术目前还存在一些亟待解决的问题,如研究费用高昂、研究技术尚不完善等,但组学技术对 AMD 的研究仍具有重要意义和广阔的应用前景。

参考文献

- 1 Miller JW, Bagheri S, Vavvas DG. Advances in Age-related Macular Degeneration Understanding and Therapy[J]. US Ophthalmic Rev, 2017,10(2):119-130.
- 2 李之忠. 年龄相关性黄斑变性流行病学研究进展[J]. 海南医学, 2018, 29(11):1574-1576.
- 3 王彤森,秦波. 年龄相关性黄斑变性的动物模型研究进展[J]. 国际眼科杂志,2019,19(4):586-591.
- 4 袁满,杨安怀. 干性年龄相关性黄斑变性治疗新方向[J]. 武汉大学学报(医学版),2018,39(6):941-944.

- 5 Schmidt-Erfurth U, Waldstein SM. A paradigm shift in imaging biomarkers in neovascular age-related macular degeneration[J]. Prog Retin Eye Res, 2016,50:1-24.
- 6 Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E and beta carotene for age-related cataract and vision loss: AREDS report No. 9[J]. Arch Ophthalmol, 2001,119(10):1439-1452.
- 7 陈丽妃,李敏,吴学今. 雷珠单抗治疗黄斑区脉络膜新生血管的疗效观察[J]. 中国临床新医学,2016,9(2):125-127.
- 8 肖昊戎,刘菲. 年龄相关性干性黄斑变性危险因素的研究进展[J]. 江西医药,2018,53(11):1349-1354.
- 9 顾虹,刘宁朴. 年龄相关性黄斑变性遗传学研究进展[J]. 中华眼科杂志, 2012, 48(2):176-178.
- 10 Neale BM, Fagerness J, Reynolds R, et al. Genome-wide association study of advanced age-related macular degeneration identifies a role of the hepatic lipase gene(LIPC)[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(16):7395-7400.
- 11 den Hollander AI. Omics in Ophthalmology: Advances in Genomics and Precision Medicine for Leber Congenital Amaurosis and Age-Related Macular Degeneration[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2016, 57(3):1378-1387.
- 12 Volz C, Pauly D. Antibody therapies and their challenges in the treatment of age-related macular degeneration[J]. Eur J Pharm Biopharm,2015,95(Pt B):158-172.
- 13 李娜,孙先勇. 年龄相关性黄斑变性的发病机制及治疗研究现状[J]. 中国全科医学,2016,19(6):724-728.
- 14 张燕枝,彭惠. 干性年龄相关性黄斑变性治疗的研究进展[J]. 眼科新进展, 2017, 37(4):379-383.
- 15 Beranova-Giorgianni Sarka, Giorgianni Francesco. Proteomics of Human Retinal Pigment Epithelium (RPE) Cells[J]. Proteomes, 2018,6(2):pii; E22.
- 16 宋玥. 年龄相关性黄斑变性患眼周边区视网膜改变影像学研究[D]. 石家庄:河北医科大学, 2018.
- 17 Rotstein NP, Miranda GE, Abrahan CE, et al. Regulating survival and development in the retina; key roles for simple sphingolipids[J]. J Lipid Res,2010,51(6):1247-1262.
- 18 Kurihara T, Westenskow PD, Gantner ML, et al. Hypoxia-induced metabolic stress in retinal pigment epithelial cells is sufficient to induce photoreceptor degeneration[J]. eLife,2016,5:e14319.
- 19 陈海霞,张璐. 年龄相关性黄斑变性氧化应激相关性研究进展[J]. 国际眼科杂志, 2017, 17(4):652-654.
- 20 Fan Q, Maranville JC, Fritsche L, et al. HDL-cholesterol levels and risk of age-related macular degeneration: a multiethnic genetic study using Mendelian randomization[J]. Int J Epidemiol,2017,46(6):1891-1902.
- 21 英健民,邓鑫,谭毅. 代谢组学在医学研究中不同方面的应用进展[J]. 中国临床新医学,2010,3(11):1135-1138.
- 22 冯乐. 蛋白质组学在眼底病研究中的应用[J]. 中华实验眼科杂志, 2011, 29(12):1140-1144.
- 23 Lauwen S, de Jong EK, Lefebvre DJ, et al. Omics biomarkers in ophthalmology[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2017,58(6):88-98.

24 徐新荣, 仲路, 黄冰林, 等. 年龄相关性黄斑变性血浆蛋白质组学初步研究[J]. 眼科新进展, 2013, 33(2): 147-151.

25 叶子, 李朝辉, 何守志. 丛生蛋白参与年龄相关性黄斑变性的作用机制[J]. 眼科新进展, 2015, 35(11): 1087-1089, 1093.

26 齐赟, 白玉婧, 黎晓新, 等. p75NTR受体过表达对人RPE细胞氧化应激损伤的促进作用[J]. 中华实验眼科杂志, 2016, 34(1): 17-23.

27 Nordgaard CL, Berg KM, Kapphahn RJ, et al. Proteomics of the retinal pigment epithelium reveals altered protein expression at progressive stages of age-related macular degeneration[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47(3): 815-822.

28 Winiarczyk M, Kaamiranta K, Winiarczyk S, et al. Tear film proteome in age-related macular degeneration[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2018, 256(4): 1127-1139.

29 Lee H, Choi AJ, Kang GY, et al. Increased 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 1 in the aqueous humor of patients with age-related macular degeneration[J]. BMB Rep, 2014, 47(5): 292-297.

30 Koss MJ, Hoffmann J, Nguyen N, et al. Proteomics of Vitreous Humor of Patients with Exudative Age-Related Macular Degeneration[J]. PLoS One, 2014, 9(5): e96895.

31 董一. 年龄相关性黄斑变性转录组表达特征及临床治疗研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2017.

[收稿日期 2019-09-20][本文编辑 韦颖 潘洪平]

本文引用格式

马静, 徐新荣. 组学技术在年龄相关性黄斑变性中的临床应用[J]. 中国临床新医学, 2020, 13(6): 639-642.

新进展综述

高通量测序对脓毒症病原学诊断及病原菌耐药性预测的应用价值

韩林, 蒋玲玉, 黄璐, 胡苗(综述), 熊滨(审校)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院重症医学科
作者简介: 韩林(1974-), 男, 大学本科, 学士学位, 副主任医师, 研究方向: 脓毒症、ARDS等危重病诊治。E-mail: xhan0507@sina.com
通讯作者: 熊滨(1965-), 男, 大学本科, 学士学位, 主任医师, 研究方向: 重症肺炎、脓毒症和ARDS等危重病诊治。E-mail: icuxiong@sina.com

[摘要] 脓毒症是机体对感染反应失调所致的危及生命的器官功能障碍, 是急危重症医学面临的重要疾病, 也是临床亟待解决的难题。明确病原学后尽早针对性抗感染治疗可降低病死率, 是治疗脓毒症的关键。目前的病原学检测技术在及时性和准确性等方面仍存在欠缺。高通量测序技术在诊断病原微生物方面, 具有检测种类多、快速、精准等特点, 且近年对于监测病原学及耐药性方面有特殊优势, 并逐步应用于临床。该文就高通量测序对脓毒症病原学诊断及病原菌耐药性预测的应用价值进行综述。

[关键词] 高通量测序; 脓毒症; 病原学; 病原菌耐药

[中图分类号] R 37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2020)06-0642-05
doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2020.06.27

Application value of high-throughput sequencing in pathogenic diagnosis and drug-resistance prediction of pathogenic bacteria in sepsis HAN Lin, JIANG Ling-yu, HUANG Lu, et al. Department of Critical Care Medicine, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] Sepsis is a life-threatening organ dysfunction caused by the dysregulation of the body's response to infections and remains a challenge in emergency and critical care medicine and also is a clinical problem to be solved urgently. Targeted anti-infection treatment as soon as possible after the pathogeny is clear can reduce the mortality, which is the key to the treatment of sepsis. At present, the detection technology of pathogeny is still lacking in timeliness and accuracy. In the diagnosis of pathogenic microorganisms, high-throughput sequencing technology can detect a wide range of species with rapid and accurate characteristics. In recent years, high-throughput sequencing has special