

引文格式:徐婷婷,邵毅,周琼. 泪液标志物在系统性疾病中的研究进展[J]. 眼科新进展,2017,37(8):780-784. doi: 10.13389/j.cnki.rao.2017.0198

【文献综述】

泪液标志物在系统性疾病中的研究进展[△]

徐婷婷 邵毅 周琼

Recent progression on tear fluid markers in systemic disease

XU Ting-Ting, SHAO Yi, ZHOU Qiong

【Key words】 biomarkers; tear fluid; eye disease; systemic disease

【Abstract】 Tear is a complex fluid mainly secreted by lacrimal gland. It is a complex body fluid, which may contain thousands of protein/peptides and other molecules. Studies have determined that the changes in the chemical compositions of tears play an important role in some diseases and their progression. Tear components including protein, lipid and metabolites, which is easy to be obtained, not only can be used for biomarkers, can also be used to study an eye the onset of systemic disease process. Measuring the changes in composition of tear may be used to determine the critical path of the disease development, provide a new possibility for prevention and treatment. This article reviews the ophthalmic applications of tear markers in the systemic disease, which has not been determined so far.

【中图分类号】 R771

【关键词】 生物标志物; 泪液; 眼科疾病; 系统性疾病

【摘要】 泪液是主要由泪腺分泌的一种水样液体,是眼表的一种成分复杂的体液,可能含有数千种蛋白质及其他分子,研究已证实这些成分的改变在眼病的发生和发展中具有重要作用。泪液成分包括蛋白质、脂质及代谢物等,容易获取,不仅可以用于生物标志物,还可用于研究眼科系统性疾病的发生过程。通过测定泪液成分的变化,可能用来确定疾病发展的关键通路,为预防及治疗提供了一种新的可能。本文将到目前为止尚未确定的泪液标志物在眼科系统性疾病的应用做一简要综述。

目前为止,还没有专门对用于潜在的系统性疾病生物标志物的泪液进行研究,但其中一些存在于眼表面并发症,如糖尿病(diabetes mellitus, DM)、系统性硬化(systemic sclerosis, SSc)和囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)。然而,随着在低丰度蛋白的蛋白质组学检测中的灵敏性的改进和对于非侵入性地检索组织样品以增强疾病检测的兴趣,这有可能迅速发生改变^[1-4]。

1 伴有眼部并发症的全身性疾病

1.1 糖尿病视网膜病变 已知DM可以引起严重的视网膜疾病,例如糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR),它是工作年龄人群中失明的主要原因之一^[5]。早期诊断和干预对于减缓DR的进展至关重要,因此迫切需要生物标志物来更好地确定临床过程。大多数DR生物标志物的研究已经集中在评估房水标志物,包括炎症细胞因子和趋化因子^[6-7],也有学者检测玻璃体或血浆^[8]等。但这些研究主要涉及眼内液的侵入性检查。然而,近年来已经对泪液进行了针对DR的标志物存在的研究。如PARK等^[9]通过酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA)研究了DR患者的泪液(和血清)中神经生长因子(nerve growth factor, NGF)的水平较非DM对照组高。此外,他们还报道NGF的水平与血糖水平、DM的持续时间、HbA1c和糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)相关,因此说明NGF作为生物标志物的潜在效用。2012年,CSOSZ等^[10]通过纳米高效液相色谱法

作者简介:徐婷婷,女,1989年12月出生,安徽宣城人,硕士研究生。研究方向:眼底疾病。联系电话:15279117340; E-mail: 474820547@qq.com; ORCID: 0000-0003-1265-1049

收稿日期:2016-12-14
修回日期:2017-03-10

本文编辑:付中静

△基金项目:国家自然科学基金资助(编号:81160118、81460092、81400372、81660158);江西省远航工程(编号:2014022);江西省自然科学基金重大项目(编号:20161ACB21017);江西省自然科学基金(编号:20151BAB215016);江西省科技支撑计划项目(编号:20151BBG70223)

作者单位:330006 江西省南昌市,南昌大学第一附属医院眼科
通讯作者:周琼, E-mail: qiong-zhouzxc@sina.com; ORCID: 0000-0002-1810-3775

Received date: Dec 14, 2016
Accepted date: Mar 10, 2017

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No: 81160118, 81460092, 81400372, 81660158); Jiangxi Province Voyage Project (No:2014022); Natural Science Key Project of Jiangxi Province (No: 20161ACB21017); Youth Science Foundation of Jiangxi Province (No: 20151BAB215016); Science and Technology Foundation of Jiangxi Province (No:20151BBG70223)

From the Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Responsible author: ZHOU Qiong, E-mail: qiong-zhouzxc@sina.com; ORCID: 0000-0002-1810-3775

此外,他们还报道NGF的水平与血糖水平、DM的持续时间、HbA1c和糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)相关,因此说明NGF作为生物标志物的潜在效用。2012年,CSOSZ等^[10]通过纳米高效液相色谱法

(high performance liquid chromatography, HPLC)耦合高效液相色谱法(electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS)/质谱法,在DR患者的泪液中发现了六种潜在的候选生物标志物,包括脂质运载蛋白-1

(lipocalin-1, LCN-1)、乳转铁蛋白、溶菌酶 C、催泪蛋白、亲脂素 A 和免疫球蛋白 λ 链。KIM 等^[11] 确定了 DM 组(有和无 DR)与健康受试者之间差异表达的许多蛋白质。在这些蛋白质中,与健康对照组相比,在两个 DM 组中,LCN-1、热休克蛋白 27(heat shock protein 27, HSP27)和 β 2 微球蛋白(beta-2 microglobulin, B2M)显示出显著改变(上调和下调)。DM 患者(有无 DR 证据)的 LCN-1、HSP27 和 B2M 中观察到的这些变化可能作为未来早期 DR 的诊断工具和(或)治疗目标。虽然 COSTAGLIOLA 等^[12] 研究发现患有 DR 的 DM 患者的肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的水平显著增加。此外, TNF- α 水平与 DR 的严重程度密切相关。TOROK 等^[13] 最近的另一项研究对 52 例 DM 患者进行泪液的蛋白质组学分析(通过纳米 HPLC 耦合 ESI-MS/质谱法),其中有 39 例患有 DR。通过组合单独但互补的技术(蛋白质数据与微动脉瘤的视网膜成像),寻求增加摄影筛选方法的灵敏度和特异性值,最终目标是创建一种更便宜、更方便用户和更方便的临床 DR 筛查方法。虽然研究表明该系统尚未完全优化,但他们认为该领域的持续发展表明其在 DR 筛选中的未来潜力。NGUYEN-KHUONG 等^[14] 报道了泪液蛋白中聚糖结构的标记保守性,以及糖基 N-连接谱的变化,后者与 DM 和 DR 发病的发生相一致。然而,这限于相对低丰度($<5\%$)的聚糖。与健康对照组相比,具有 DM 或 DR 的患者中的五种低丰度 N-聚糖和一种 O-聚糖有着显著的改变,不能确认这些变化是否与特定蛋白质相关。他们认为个体之间的泪液蛋白的聚糖结构的显著保守和低丰度 N-聚糖的疾病相关变化可能在未来基于泪液的 DM 进展的诊断中是有用的^[14]。

1.2 SSc SSc 是一种罕见的结缔组织病,其特征是软组织的进行性硬化,通过胶原累积使皮肤增厚,以及对小动脉(血管炎)的损伤。在严重的情况下,将呈现为皮肤、关节、肠和其他主要组织的血管炎性病变、营养性吸收不良、关节炎、硬皮病和肾功能障碍^[15]。在眼部,SSc 通常表现为干眼,由于泪腺的纤维化,以及结膜性毛细血管扩张和丝状角膜炎^[16]。尽管这些眼部的表现,迄今只有两项研究调查了在 SSc 中的泪液蛋白质组学^[17-18];RENTKA 等^[17] 在 43 例 SSc 患者和 27 名健康对照者中评估了血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的泪液水平。该研究证明 SSc 患者 VEGF 表达($4.9 \text{ pg} \cdot \text{L}^{-1}$)相对于健康对照者($6.15 \text{ pg} \cdot \text{L}^{-1}$)的有所降低,差异并不显著。此外,还认为 VEGF 水平(20%)的这种差异可能是由于 SSc 患者的泪液分泌减少造成的,表明目前 VEGF 可能不作为疾病的生物标志物。该组的进一步研究使用蛋白质组学并通过多重阵列和流式细胞小球微阵列术来评估细胞因子的水平^[18]。在通过细胞因子阵列分析的 102 个泪液因子

中,9 个细胞因子被报道在 SSc 患者中显著增加。分别是补体因子 D(complement factor D, CFD)、几丁质酶-3 样蛋白 1、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、干扰素- γ 诱导蛋白-10(interferon gamma-induced protein-10, IP-10)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、膜免疫球蛋白(monokine induced by gamma interferon, MIG)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)和维生素 D 结合蛋白。在此之后,使用多重阵列的灵敏技术来测定 9 例 SSc 患者和 12 名对照组泪液中的 4 个分子。与对照组相比,SSc 患者的泪液中的 CRP、IP-10 和 MCP-1 水平显著增加。尽管在 SSc 患者中 CFD 的泪液水平是降低的,但是差异并没有统计学意义^[18]。该数据表明这些特异性细胞因子在 SSc 中的作用,其在推荐人工泪液制剂时可用作治疗靶标并辅助临床决策,说明当泪液代表眼表的局部环境时,它们是用于研究眼表病理的更好的组织源。

1.3 CF CF 是影响外分泌腺的一种严重遗传性疾病,其特征是异常分泌,从而导致肺、胰腺、肠以及汗腺中的黏液积累,并影响男性生育力^[19]。作为儿童和年轻成人中最常见的慢性肺病之一,CF 中的黏液会积聚并导致严重的肺部感染和消化问题,并且危及生命的疾病。由于 CF 影响分泌性上皮细胞,所以干眼是这种疾病的眼部表现之一。虽然泪液蛋白质组分析的数目迄今为止有限,但以下文章已经研究了细胞因子在 CF 患者的眼表面功能障碍中的作用。第一项测定泪液细胞因子的研究是由 MRUGACZ 等^[20] 完成的。该组进行 ELISA 以确定患有 CF 的患者的泪液中白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)水平,以及眼表的健康评估,在这类患者中,与对照者相比,细胞因子的水平更高。IL-8 和 IFN- γ 水平与 CF 的临床严重程度显著相关^[20],表明这些细胞因子在患者的眼表面炎症和 CF 病变的进展中重要作用。因此,IL-8 和 IFN- γ 可以用于确定干眼和 CF 临床状态的假定生物标志物。该组随后的 ELISA 研究显示,与健康受试者相比,CF 患者的巨噬细胞炎症蛋白-1 α (macrophage inflammatory protein-1 α , MIP-1 α)^[21]和巨噬细胞炎症蛋白-1 β (macrophage inflammatory protein-1 β , MIP-1 β)^[22]的泪液水平显著增加。此外,在以前的研究^[21]中,他们注意到 CF 临床严重程度和泪液 MIP-1 α 水平之间呈负相关,以及 CF 患者中 MIP-1 α 和干眼之间呈正相关。他们最近的研究^[22]显示 CF 患者的 MIP-1 β 水平显著升高,其中干眼综合征患者的 MIP-1 β 水平较无干眼的 CF 患者显著升高。总之,这些研究表明,与干眼中泪液趋化因子/细胞因子表达研究类似,这两组炎症介质在 CF 表面的眼表炎症反应和进展中具有作用。

2 无眼部并发症的全身性疾病

各种文章报道了预测、预防和个性化医疗在治疗主要疾病如癌症及其通过早期检测和靶向治疗从而改善治疗的潜力^[23-24]。仅在过去 10 a 中,不少研究已经评估了来自癌症患者的泪液,以便找到确定该疾病的标志物的非侵入性方法。最早的研究之一是 MANOSROI 等^[25]完成的,他们研究了乳腺癌患者含有泪液球蛋白的泪液水平。泪液球蛋白是与乳腺珠蛋白 A 高度同源的蛋白质,乳腺珠蛋白 A 是泪腺和唾液腺,子宫和乳腺分泌的一组蛋白质,在乳腺癌患者中增加。在他们最新的新研究中,MANOSROI 等^[25]使用 1D(一维)和 2D(二维)电泳从各种癌症患者的泪液样品,以确定泪液筛查的有用性。他们报道泪液球蛋白主要存在于结肠癌(100%)或前列腺癌(100%)中,其次是乳腺癌(88%)、肺癌(83%)和卵巢癌(33%)。对照受试者中的三个(60%)显示泪液球蛋白的存在,并且这些受试者中的两个具有乳腺癌和前列腺癌的家庭史^[25]。这个早期报道表明了泪液球蛋白有作为癌症的非侵入性生物标志物的潜力。作为女性癌症死亡率的第二大最常见原因,乳腺癌在鉴定早期诊断标志物方面特别有意义,因为早期诊断对降低死亡率至关重要^[26]。尽管存在于用于监测转移性疾病的血清标志物癌胚抗原、癌抗原 15-3(cancer antigen 15-3, CA15-3)和癌抗原 27、29(cancer antigen 27, 29, CA27、29)^[27],但是没有确定的生物标志物可用于在较小病变的患者中早期检测乳腺癌。因此,进行乳腺癌患者泪液蛋白的两项研究^[28-29]以确定该疾病的新型早期生物标志物。使用表面增强激光解吸/电离飞行时间质谱法,他们报道了乳腺癌患者和健康对照组、年龄匹配对照组之间泪液(和血液)蛋白质的显著差异,并显示有 90% 特异性和灵敏度^[28]。以上数据表明,除了高度可及和容易检索外,泪液样品并不是太复杂(蛋白质含量),因此使其成为用于通过 SELDI-TOF-MS 鉴定乳腺癌的生物标志物的理想组织样品。BOHM 等^[30]使用来自乳腺癌患者的泪液的基质辅助激光解吸/电离飞行时间法/飞行时间法分析,并且在 20 个生物标志物中相对于健康对照组显示出显著差异。作为全球女性死亡的主要原因^[31],必须确定乳腺癌早期检测的强大生物标志物,理想方法是在容易获得的体液中检测。上述研究表明泪液蛋白质分析在实现这一目标中的有用性。

3 神经系统疾病

3.1 多发性硬化症 多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)是英国早期成人生活中最常见的神经系统疾病^[32],也是导致中枢神经系统(central neural system, CNS)慢性脱髓鞘的原因。诊断通常涉及几种测试,包括磁共振成像,并且最终确认可能需要几年

才能实现。虽然该领域已发表的文献迄今为止受到限制,但泪液分析首先被建议用于 MS 的诊断早在 20 世纪 80 年代中期。从那时起,各种团队进行泪液研究以便更好地确定疾病的生物标志物。如前所述,几个测试用于确认 MS 诊断。迄今为止 MS 的最一致的生物标志物是在脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)中存在免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG)寡克隆条带^[33]。然而,通过腰椎穿刺恢复 CSF 是对患者的高度侵入性手术,涉及显著程度的不适。因此,有必要对这种衰弱性疾病进行更早、更少侵入性的诊断。VIRTANEN 等^[33]的早期工作是第一个使用等电聚焦(isoelectric focusing, IEF)来鉴定泪液中 IgG 的寡克隆条带的研究,显示其在 67% 的测试 MS 患者中的存在(14/21)。相比之下,OBAL 等^[34]执行 IEF 并且没有报道 MS 或视神经炎患者的 IgG 带,而具有 CNS 感染或存在全身性免疫障碍的 16/20 患者确实存在这些带。同样地,PHILLIPS 等^[35]利用眼泪的 IEF 来鉴别差异寡克隆条带,作为腰椎穿刺的替代疗效。与患有 MS 和其他神经障碍患者的泪液相比,在对照组中观察到总 IgG、免疫球蛋白 M(immunoglobulin M, IgM)和免疫球蛋白 A(immunoglobulin A, IgA)水平有细微的增加。然而只有一例 MS 患者在泪液中显示出独特的带,配对的 CSF 和血清表达无差异。该组因此假定 MS 中的主要多克隆免疫球蛋白是 IgG。最近,KAUSHIK 等^[36]研究表明 MS 患者泪液中 IgG 的寡克隆条带的特异性和灵敏度与 CSF 的相似,并且侵袭性更小,他们认为泪液应作为 MS 的生物标志物测量的有价值的生物材料。总之,迄今为止关于泪液中的寡克隆条带的文献似乎是有争议的。LEBRUN 等^[37]表示除了临床上定义的 MS 症状的患者外,放射孤立综合征中的寡克隆条带,这种新鉴定的实体定义具有白质损伤。SALVISBERG 等^[38]所进行的 α -1-抗胰凝乳蛋白酶是在所有三个实验中显著升高的唯一分子($P < 0.05$),表明该急性炎症蛋白升高的泪液水平可以作为未来 MS 的生物标志物,其可以代替传统的腰椎穿刺术。

3.2 帕金森病 帕金森病(parkinson's disease, PD)是主要影响运动系统的中枢神经系统的进行性、退行性神经病学病症^[39]。它是继阿尔茨海默病之后第二大最常见的神经退行性疾病^[40],影响了欧洲大约 120 万人。与其他全身性疾病一样,对泪液生物标志物的研究也处于非常早期的阶段。大多数 PD 泪液研究涉及评估这些患者的泪膜的质量和稳定性^[41]。然而在 2013 年,对来自 18 例 PD 患者和 17 名健康对照组的泪液进行了一项多重阵列研究,并比较了其泪液 IFN- α 水平和临床特征^[42],发现 PD 患者中的 TNF- α 水平显著高于对照组($P = 0.02$),尽管这些水平与 PD 持续时间或严重性不相关,还认为泪液分析是研究生物标志物的合适方法, TNF- α 可能是 PD 患者神经炎症的标志。此后, BÖRGER

等^[43]提出了泪液作为PD生物标志物来源的有用性。我们目前正在执行一个当前的战略文件:“电子探针显微分析仪白皮书2012”^[44],讨论从被动式到电子探针显微分析仪的范式转变。这种对治疗疾病反应的变化对于革新医学领域的发展(例如生物标志物的研究)以及在个性化疗法的临床应用中至关重要。这种诊断和治疗的变化将有助于为每例患者的未来设计和开发出新的、更有选择性的和有效的治疗。然而,这些开发在患者护理中被充分认识和实施之前,泪液检索、处理和存储的标准化是必要的。此外,考虑年龄和性别因素,在健康受试者中建立“正常”分子浓度值范围也将是必要的。

4 总结与展望

综上所述,泪液标志物作为一种新型的微量生物标志物。在眼部并发症的全身性疾病(如DM、SSc、CF)、无眼部并发症的全身性疾病(如癌症)及神经系统疾病(如MS、PD)中都有不同程度的改变,为这些疾病提供一种新的微创的诊断方法。同时泪液成分复杂,由此而产生的标志物的种类也多种多样,要彻底研究泪液标志物的作用,有待我们进一步去研究和探索。因此,通过对泪液标志物的深入研究,可以早发现甚至可能预防这些疾病的发生。

参考文献

[1] Von THUN UND HOHENSTEIN-BLAUL N, FUNKE S, GRUS FH. Tears as a source of biomarkers for ocular and systemic diseases [J]. *Exp Eye Res*, 2013, 117(7): 126-137.

[2] 高妍, 刘新玲, 李筱荣. 糖尿病患者眼表及泪液蛋白改变的临床分析 [J]. 眼科新进展, 2011, 31(3): 267-270.

GAO Y, LIU XL, LI XR. Clinical analysis of ocular surface and tear film changes in type 2 diabetes mellitus [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2011, 31(3): 267-270.

[3] YOU J, WILLCOX MD, MADIGAN MC, WASINGER V, SCHILLER B, WALSH BJ, et al. Tear fluid protein biomarkers [J]. *Adv Clin Chem*, 2013, 62(62): 151-196.

[4] PIERAGOSTINO D, ALESSANDOR M, DI IOIA M, DI ILIO C, SACCHETTA P, DEL BOCCIO P. Unraveling the molecular repertoire of tears as a source of biomarkers: beyond ocular diseases [J]. *Prot Clin Appl*, 2015, 9(1-2): 169-186.

[5] 高丽涛, 柳力敏, 张媛媛, 刘磊, 胡悦东, 陈蕾. 糖尿病视网膜病变的危险因素分析 [J]. 眼科新进展, 2011, 31(8): 742-744.

GAO LT, LIU LM, ZHANG YY, LIU L, HU YD, CHEN L. Risk factors analysis of diabetic retinopathy [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2011, 31(8): 742-744.

[6] VUJOSEVIC S, MICERA A, BINI S, BERTON M, ESPOSITO G, MIDENA E. Proteomeanalysis of retinal glia cells-related inflammatory cytokines in the aqueous humor of diabetic patients [J]. *Acta Ophthalmol*, 2016, 94(1): 56-64.

[7] CHEUNG CM, VANIA M, ANG M, CHEE SP, LI J. Comparison of aqueous humor cytokine and chemokine levels in diabetic patients with and without retinopathy [J]. *Mol Vis*, 2012, 18: 830-837.

[8] DONG N, SHI H, XU B, CAI Y. Increased plasma S100A12 levels are associated with diabetic retinopathy and prognostic biomarkers of macrovascular events in type 2 diabetic patients [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(8): 4177-4185.

[9] PARK KS, KIM SS, KIM JC, KIM HC, IM YS, AHN CW, et al. Serum and tear levels of nerve growth factor in diabetic retinopathy patients [J]. *Am J Ophthalmol*, 2008, 145(3): 432-437.

[10] CSOSZ E, BOROSS P, CSUTAK A, BERTA A, TOTTH F, POLISKA

S, et al. Quantitative analysis of proteins in the tear fluid of patients with diabetic retinopathy [J]. *J Proteomics*, 2012, 75(7): 2196-2204.

[11] KIM HJ, KIM PK, YOO HS, KIM CW. Comparison of tear proteins between healthy and early diabetic retinopathy patients [J]. *Clin Biochem*, 2012, 45(1-2): 60-67.

[12] COSTAGLIOLA C, ROMANO V, DE TOLLIS M, ACETO F, DELL'OMO R, ROMANO MR, et al. TNF-alpha levels in tears: a novel biomarker to assess the degree of diabetic retinopathy [J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013(9): 629529.

[13] TOROK Z, PETO T, CSOSZ E, TUKACS E, MOLNAR AM, BERTA A, et al. Combined methods for diabetic retinopathy screening, using retina photographs and tear fluid proteomics biomarkers [J]. *J Diabetes Res*, 2015, 2015: 623619.

[14] NGUYEN-KHUONG T, EVEREST-DASS AV, KAUTTO L, ZHAO Z, WILLCOX MD, PACKER N. Glycemic characterization of basal tears and changes with diabetes and diabetic retinopathy [J]. *Glycobiology*, 2015, 25(3): 269-283.

[15] GABRIELLI A, AVVEDIMENTO EV, KRIEG T. Scleroderma [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(19): 1989-2003.

[16] TAILOR R, GUPTA A, HERRICK A, KWARTZ J. Ocular manifestations of scleroderma [J]. *Surv Ophthalmol*, 2009, 54(2): 292-304.

[17] RENTKA A, HARSFALVI J, BERTA A, KOROSKENYI K, SZEKANECZ Z, SZUCS G, et al. Vascular endothelial growth factor in tear samples of patients with systemic sclerosis [J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015(2): 573681.

[18] RENTKA A, HARSFALVI J, SZUCS G, SZEKANECZ Z, SZODORAY P, KOROSKENYI K, et al. Membrane array and multiplex bead analysis of tear cytokines in systemic sclerosis [J]. *Immunol Res*, 2016, 64(2): 619-626.

[19] O'SULLIVAN BP, FREEDMAN SD. Cystic fibrosis [J]. *Lancet*, 2009, 373(9678): 1891-1904.

[20] MRUGACZ M, KACZMARSKI M, BAKUNOWICZ-LAZARCZYK A, ZELAZOWSKA B, WYSOCKA J, MINAROWSKA A. IL-8 and IFN-gamma in tear fluid of patients with cystic fibrosis [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2006, 26(2): 71-75.

[21] MRUGACZ M, ZELAZOWSKA B, BAKUNOWICZ-LAZARCZYK A, KACZMARSKI M, WYSOCKA J. Elevated tear fluid levels of MIP-1alpha in patients with cystic fibrosis [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2007, 27(6): 491-495.

[22] MRUGACZ M. CCL4/MIP-1beta levels in tear fluid and serum of patients with cystic fibrosis [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2010, 30(7): 509-512.

[23] GRECH G, ZHAN X, YOO BC, BUBNOV R, HAGAN S, DANESI R, et al. EPMA position paper in cancer: current overview and future perspectives [J]. *EPMA J*, 2015, 6(1): 1-31.

[24] HAGAN S, ORR MC, DOYLE B. Targeted therapies in colorectal cancer-an integrative view by PPPM [J]. *EPMA J*, 2013, 4(1): 3.

[25] MANOSROI A, SAINAKHAM M, CHANKHAMPAN C, MANOSROI W, MANOSROI J. *In vitro* anti-cancer activities of Job's tears (Coix lachryma-jobi Linn.) extracts on human colon adenocarcinoma [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2016, 23(2): 248-256.

[26] ALNAES GI, RONNEBERG JA, KRISTENSEN VN, TOST J. Heterogeneous DNA methylation patterns in the GSTP1 promoter lead to discordant results between assay technologies and impede its implementation as epigenetic biomarkers in breast cancer [J]. *Genes (Basel)*, 2015, 6(3): 878-900.

[27] WU SG, HE ZY, REN HY, YANG LC, SUN JY, LI FY, et al. Use of CEA and CA15-3 to predict axillary lymph node metastasis in patients with breast cancer [J]. *J Cancer*, 2016, 7(1): 37-41.

[28] LEBRECHT A, BOEHM D, SCHMIDT M, KOELBL H, GRUS FH. Surface-enhanced laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry to detect breast cancer markers in tears and serum [J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2009, 6(2): 75-83.

[29] LEBRECHT A, BOEHM D, SCHMIDT M, KOELBL H, SCHWIRZ RL, GRUS FH. Diagnosis of breast cancer by tear proteomic pattern [J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2009, 6(3): 177-182.

[30] BOHM D, KELLER K, PIETER J, BOEHM N, WOLTERS D, SIGGELKOW W, et al. Comparison of tear protein levels in breast cancer patients and healthy controls using a de novo proteomic approach [J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(2): 429-438.

[31] JEMAL A, BRAY F, CENTER MM, FERLAY J, WARD E, FORMAN D. Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2):69-90.

[32] ALONSO A, JICK SS, OLEK MJ, HERNAN MA. Incidence of multiple sclerosis in the United Kingdom; findings from a population-based cohort [J]. *J Neurol*, 2007, 254(12):1736-1741.

[33] VIRTANEN JO, WOHLER J, FENTON K, REICH DS, JACOBSON S. Oligoclonal bands in multiple sclerosis reactive against two herpesviruses and association with magnetic resonance imaging findings [J]. *Mult Scler*, 2014, 20(1):27-34.

[34] OBAL I, KLAUSZ G, MANDI Y, DELI M, SIKLOS L, ENGELHARDT JI. Intraperitoneally administered IgG from patients with amyotrophic lateral sclerosis or from an immune-mediated goat model increase the levels of TNF- α , IL-6, and IL-10 in the spinal cord and serum of mice [J]. *J Neuroinflammation*, 2016, 13(1):1-12.

[35] PHILLIPS TE, SHARP J, RODGERS K, LIU H. M cell-targeted ocular immunization; effect on immunoglobulins in tears, feces, and serum [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(3):1533-1539.

[36] KAUSHIK DK, YONG HY, HAHN JN, SILVA C, CASHA S, HURLBERT RJ, et al. Evaluating soluble EMMPRIN as a marker of disease activity in multiple sclerosis; studies of serum and cerebrospinal fluid [J]. *PLoS One*, 2016, 11(10):e0163802.

[37] LEBRUN C, FORZY G, COLLONGUES N, COHEN M, DE SEZE J, HAUTECOEUR P, et al. Tear analysis as a tool to detect oligoclonal bands in radiologically isolated syndrome [J].

Rev Neurol (Paris), 2015, 171(4):390-393.

[38] SALVISBERG C, TAJOURI N, HAINARD A, BURKHARD PR, LALIVE PH, TURCK N. Exploring the human tear fluid; discovery of new biomarkers in multiple sclerosis [J]. *Proteomics Clin Appl*, 2014, 8(3-4):185-194.

[39] JANKOVIC J. Parkinson's disease; clinical features and diagnosis [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2008, 79(4):368-376.

[40] CERAVOLO R, PAGNI C, TOGNONI G, BONUCCELLI U. The epidemiology and clinical manifestations of dysexecutive syndrome in Parkinson's disease [J]. *Front Neurol*, 2012, 3(3):159.

[41] PACHOULAKIS I, XILOURGOS N, PAPAPOPOULOS N, ANALYTI A. A Kinect-based physiotherapy and assessment platform for parkinson's disease patients [J]. *J Med Eng*, 2016, 2016(4):1-8.

[42] ÇOMOĞLU SS, GÜVEN H, ACAR M, ÖZTÜRK G, KOÇER B. Tear levels of tumor necrosis factor-alpha in patients with Parkinson's disease [J]. *Neurosci Lett*, 2013, 553(10):63-7.

[43] BÖRGER M, FUNKE S, BÄHR M, GRUS F, LINGOR P. Biomarker sources for Parkinson's disease; time to shed tears [J]? *Basal Ganglia*, 2015, 5(2):63-69.

[44] GOLUBNITSCHAJA O, COSTIGLIOLA V, EPMA. General report & recommendations in predictive, preventive and personalised medicine 2012; white paper of the European Association for Predictive, Preventive and Personalised Medicine [J]. *EPMA J*, 2012, 3(1):14.

(上接第 779 页)

[21] 王宇, 周晓光, 陈志均. 早产儿视网膜病治疗研究进展 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2017, 32(2):146-148.
WANG Y, ZHOU XG, CHEN ZJ. Advances in treatment of retinopathy of prematurity [J]. *J Appl Clin Pediatr*, 2017, 32(2):146-148.

[22] DO DV, NGUYEN QD, KHWAJA AA, CHANNA R, SEPAH YJ, SOPHIE R, et al. Ranibizumab for edema of the macula in diabetes study; 3-year outcomes and the need for prolonged frequent treatment [J]. *JAMA Ophthalmol*, 2013, 131(2):139-145.

[23] COMYN O, LIGHTMAN SL, HYKIN PG. Corticosteroid intravitreal implants vs. ranibizumab for the treatment of vitreoretinal disease [J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2013, 24(3):248-254.

[24] FONG AH, LAI TY. Long-term effectiveness of ranibizumab for age-related macular degeneration and diabetic macular edema [J]. *Clin Interv Aging*, 2013, 8:467-483.

[25] 李秀娟. 重复玻璃体内注射雷珠单抗治疗糖尿病性黄斑水肿

[J]. *中华眼外伤职业病杂志*, 2013, 35(12):887-889.
LI XJ. Consecutive intravitreal injection of Lucentis for the treatment of diabetic macular edema [J]. *Chin J Ocul Traumat Occupat Eye Dis*, 2013, 35(12):887-889.

[26] MARTINEZ-ZAPATA MJ, MARTÍ-CARVAJAL AJ, SOLÁ I, PIJOÁN JI, BUIL-CALVO JA, Cordero JA, et al. Anti-vascular endothelial growth factor for proliferative diabetic retinopathy [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014, 24(11):CD008721.

[27] 王丽丽, 张雯, 李立婕, 金丽英, 霍敏, 何斌. 玻璃体内注射抗血管内皮生长因子单克隆抗体 bevacizumab 联合超视网膜激光光凝治疗高危型糖尿病视网膜病变 [J]. *中华眼底病杂志*, 2010, 26(2):116-119.
WANG LL, ZHANG W, LI LJ, JIN LY, HUO M, HE B. Intravitreal injection with bevacizumab combined with extra pan-retinal photocoagulation for high-risk proliferative diabetic retinopathy [J]. *Chin J Ocul Fund Dis*, 2010, 26(2):116-119.