

# TTR 蛋白 Gly83Arg 突变对视黄醇以及 TTR 蛋白变化规律的影响

辛诚, 蔡善君

遵义医科大学眼科, 贵州 遵义 563000

**摘要:**目的 探索视黄醇与 TTR 蛋白之间的联系, 为预防遗传性玻璃体淀粉样变性疾病 (Hereditary vitreous amyloidosis, HVA) 提供思路。方法 构造并饲养 Gly83Arg 突变模型小鼠 20 只 (参照文献构建) 作为突变组, 裂隙灯下观察到突变小鼠眼球玻璃体中出现不规则混浊现象后, 再用眼前段照相机进行摄影, 并行 B 超检查, 发现眼部后段出现白色团样混浊, 在确认小鼠玻璃体腔出现混浊后, 选择颈椎脱臼法处死小鼠, 并提取肝细胞中的 DNA 后进行测序, 确证突变组小鼠构建成功。并同时饲养野生型 C57BL/6 小鼠 20 只作为对照组, 随机数字表选取突变组 4 只, 对照组 4 只小鼠眼球, 肝脏组织以及血液, 在高效液相色谱联合质谱测定视黄醇浓度; 随机数字表选取突变组 3 只, 对照组 3 只小鼠, 取眼球组织研磨后提取 RNA 及蛋白质, 采用荧光定量 PCR 检测 TTR 基因 mRNA 表达、SDS-PAGE 蛋白凝胶显色, Western Blot 检测 TTR 基因蛋白质表达, 结果均通过独立样本  $t$  检验。结果 突变位点与课题组前期成功造模小鼠位点一致, 第 3 外显子的第 107 位置的 G 碱基处产生了杂合突变 (c. 107G→C), 第 83 位置的氨基酸的密码子由 GGC 突变成 CGC, 即 Gly83Arg。高效液相色谱联合质谱测定突变组小鼠眼球视黄醇浓度低于对照组正常小鼠, 突变小鼠肝脏组织视黄醇含量要大于对照组小鼠肝脏组织视黄醇含量, 并且突变组小鼠血液中视黄醇含量低于对照组小鼠 (眼球:  $t = 6.600, P = 0.022$ ; 肝脏:  $t = 9.045, P < 0.001$ ; 血液:  $t = 4.343, P = 0.012$ ); 荧光定量 PCR 结果显示突变组小鼠眼球组织的 mRNA 表达低于对照组 ( $t = 5.764, P = 0.004$ ); SDS-PAGE 蛋白凝胶显色表示在接近 11kD 处, 突变组出现蛋白条带; Western Blot 显示突变组小鼠眼球组织 TTR 基因蛋白表达低于对照组 ( $t = 37.48, P < 0.001$ )。结论 Gly83Arg 突变型模型小鼠眼球组织中玻璃体淀粉样蛋白的沉积, 可能与变异的 TTR 蛋白增多以及视黄醇的减少有关, 这对以后的防治有重要的意义。

**关键词:** 视黄醇; 转甲状腺素蛋白 (TTR); 突变

中图分类号: R776.4 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2024)06-1083-06

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202307011

## Effects of TTR Gly83Arg mutation on the change of retinol and TTR protein

XIN Cheng, CAI Shan-jun

Ophthalmology Department of Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China

**Abstract: Objective** To explore the relationship between retinol and TTR protein, and to provide ideas for preventing Hereditary vitreous amyloidosis (HVA). **Methods** Twenty Gly83Arg mutant mice were constructed and bred (reference construction<sup>[2]</sup>) as the mutant group. After the irregular turbidity in the vitreous of the mutant mice eyeball was observed under slit lamp, the lens camera was used for photography, and B-ultrasound examination was conducted, and white clump-like turbidity was found in the posterior ocular region. After the turbidity in the vitreous cavity of the mice was confirmed, the mice were killed by cervical vertebrae dislocation, and DNA in liver cells was extracted and sequenced to confirm the successful construction of mutant mice. At the same time, 20 wild type C57BL/6 mice were fed as the control group, 4 mice in the mutant group and 4 mice in the control group were randomly selected from the number table, and the retinol concentration was determined by high performance liquid chromatography combined with mass spectrometry. Three mice in the mutant group and three mice in the control group were selected from a random number table. After grinding the eyeball tissues, RNA and protein were extracted. TTR gene mRNA expression, SDS-PAGE protein gel color development was detected by fluorescent quantitative PCR, and TTR gene protein expression was detected by Western Blot. The difference at  $P < 0.05$  was statistically

基金项目: 国家自然科学基金 (31871261)

作者简介: 辛诚 (1995—), 男, 硕士, 医师, 研究方向: 眼底病的研究

通信作者: 蔡善君, E-mail: caishanjun@163.com

significant. **Results** The mutation site was consistent with the site successfully modeled by our research group in the previous stage. Heterozygous mutation occurred at the G base at the 107th position of exon 3 (C. 107G → C), and the codon of the amino acid at the 83rd position was mutated from GGC to CGC (Gly83Arg). The concentration of retinol in eye of mutant mice was lower than that of normal mice in control group, the content of retinol in liver tissue of mutant mice was higher than that in control group, and the content of retinol in blood of mutant mice was lower than that in control group (eyeball:  $t = 6.600$ ,  $P = 0.022$ ; liver:  $t = 9.045$ ,  $P < 0.001$ ; blood:  $t = 4.343$ ,  $P = 0.012$ ). Fluorescence quantitative PCR results showed that mRNA expression in eyeball tissue of mutant group was lower than that of control group ( $t = 5.764$ ,  $P = 0.004$ ). SDS-PAGE protein gel color showed that protein bands appeared in the mutant group near 11kD. Western Blot showed that TTR gene protein expression in mutant group was lower than that in control group ( $t = 37.48$ ,  $P < 0.001$ ). **Conclusion** The deposition of vitreous amyloid protein in the eyeball tissue of Gly83Arg mutant mice may be related to the increase of mutant TTR protein and the decrease of retinol, which has important significance for future prevention and treatment.

**Keywords:** Retinol; Transthyretin (TTR); Mutation

遗传性玻璃体淀粉样变性 (Hereditary vitreous amyloidosis, HVA) 是遗传性淀粉样变性中一种罕见的常染色体显性遗传性疾病,特点是仅有眼部有淀粉样物质异常的聚集,主要与 TTR 蛋白的基因突变有关<sup>[1]</sup>,但目前关于其形成机制尚不明确。

TTR 蛋白绝大部分在肝细胞中合成,其余则从眼球中视网膜色素上皮细胞 (Retinal pigment epithelium, RPE) 以及脉络层中合成<sup>[3]</sup>,并且由于存在的血-视网膜屏障,阻止了血清中的 TTR 蛋白进入视网膜内<sup>[4]</sup>,但在人类的眼球中,TTR 蛋白的表达却可能与视黄醇的浓度直接相关。视黄醇是重要的营养物质,主要由外界补充(包括饮食等其他方式),并且大部分储存于肝细胞中,视黄醇从肝细胞到血液中需要通过和视黄醇结合蛋白 4 (Retinol binding protein 4, RBP4) 以及 TTR 蛋白结合形成 TTR-RBP4-视黄醇三元复合物来进行运输<sup>[5-8]</sup>。前期研究证实,突变模型小鼠由于 TTR 蛋白的基因突变,导致 TTR 蛋白在肝脏及血液中的表达量下降<sup>[2]</sup>,理论上肝脏中转运至眼部的视黄醇含量以及在眼部中 TTR 蛋白也会发生相应的变化。因此,本研究拟探索突变模型鼠眼部,肝脏组织以及血液中视黄醇表达量,以及眼部组织中 TTR 蛋白的表达量,明确视黄醇与 TTR 蛋白之间的关系,深入认识该突变所致的 HVA 的形成机制,并为 HVA 的预防提供思路。

## 1 动物与材料

**1.1 实验动物** 课题组前期已成功构建模型<sup>[2]</sup>,饲养 Gly83Arg 模型小鼠 20 只 (NEO<sup>-</sup>; FLP<sup>-</sup>; TTR<sup>+/-</sup>), 对照组小鼠 (C57BL/6) 20 只,所有小鼠饲养在相同的控制条件下,包括光照 (12h 光/12h 暗循环)、湿度 (50% ~ 60%) 和温度 (22 ~ 24℃),并且可以获得标准食物和水,本次实验已通过伦理审查,审查编号: ZMU21-2303-135。

**1.2 主要设备** 高分辨度动物超声摄像系统,低温

冷冻离心机 (Sigma 3K15), Real-time 检测仪 (ABI-7500), 液质联用仪 (AB SCIEX 4000 Q TRAP), 电泳仪 BIO-RAD (公司型号 mini protean 3 cell), 电转仪 PS-9 (大连竞迈科技股份集团公司), 酶标仪 (Thermo 型号 MK3), 移液枪 (Thermo), 水浴锅 (莱卡公司 HI1210), 一体式化学发光成像仪 (ChemiScope 5300 Pro)

**1.3 主要试剂** BCA 蛋白定量试剂盒 (凯基 KGD BCA), 丽春红 S (上海国药 3761-53-3), Tween-20 (Amresco BYL40713), ECL 发光液 (北京鼎国 ECL-0011), 甲醇/乙腈/甲酸 (HPLC 级), 正己烷 (HPLC 级), 维生素 A (50 mg/L) 标准品 (成都瑞芬思), 维生素 A 乙酸酯 (VA-D6) 内标标准品 (成都瑞芬思), Trizol 试剂盒 (invitrogen), 氯仿/异丙醇/无水乙醇 (上海国药), SYBRGreen PCR 试剂盒 (Thermo F-415XL), 逆转录试剂盒 (Thermo K1622), GAPDH (Proteintech 60004-1-Ig), Anti-Prealbumin (abcam ab215202), 辣根酶标记后的山羊抗兔 IgG (中杉金桥 ZB2301), 辣根酶标记后的山羊抗小鼠 IgG (中杉金桥 ZB2305), M5 HiPer“染立显”蛋白染胶液 (聚合美 MF767-01)

## 2 研究方法

**2.1 模型小鼠的构建与验证** 前期通过与上海南方生物模式研究中心合作,在 Ensembl 数据库选出 TTR 基因序列,ET 克隆法构建 TTR 基因点突变载体。用 pBR322-MK-TTR (KI) 打靶载体对 C57BL/6N 小鼠 ES 细胞进行基因打靶。获得 F0 代甲状腺素蛋白基因 Gly83Arg 点突变的 C57BL/6N 嵌合体小鼠。将 F0 代和 Flp 转基因小鼠、C57BL/6J 野生型小鼠交配得到 F2 代无 Flp 的 TTR 基因 Gly83Arg 点突变的杂合子小鼠。F2 代小鼠和纯系 C57BL/6 小鼠交配获得 F3 代纯合子及杂合子,建立了 TTR 基因 Gly83Arg 点突变小鼠模型。将构建的突变小鼠通过裂隙灯下眼

前段照相确认发现不规则混浊,小鼠眼部 B 超:模型小鼠乙酰吸入麻醉后,在小鼠 B 超机下进行拍摄,证实突变组小鼠眼部出现混浊。基因测序:发现小鼠眼球玻璃体中出现混浊后处死小鼠,取出肝,脑,肾等组织。选择 1 只杂合子小鼠的肝脏进行基因测序,结果应显示第 3 外显子的 107 位置的碱基处出现杂合突变,第 83 位置的氨基酸的密码子由 GGC 突变成 CGC,测序服务由华大基因提供。

**2.2 高效液相色谱联合质谱检测视黄醇含量** 实验条件:色谱条件:色谱柱 Agilent ZOBAX SB - C18 (4.6 × 150 mm 5 μm)。流动相由 A、B 两相组成,A 为甲醇,B 为 0.2%甲酸水溶液,比例:93(A):7(B)流速 1 ml/min。柱温:40℃。进样量为 10 μl 质谱条件:离子源:电喷雾离子源,扫描方式:多反应监测(MRM)正离子扫描模式,m/z (269.1/93.3),CUR 40psi;IS 5 500 V;TEM 550 °C;EP 10 V;GS1:55psi;GS2 55psi;CAD 中等;DP 50 V;CE 26V;CXP 10 V。配置标准品并绘制标准曲线后对样品进行测定。实验方法:(1)在暗室里处死小鼠后将两只眼球放入含 0.5 ml PBS 的 1.5 ml 离心管中。(2)将离心管置于低温条件后通过细胞破碎仪下将其内容物均质化(功率 220,时间 2 分钟,温度 60.0℃)。(3)将 200 μl 匀浆液转移到 5 ml 离心管中。(4)加入 20 μl 内标乙酸视黄酯(10 μg/ml)和 100 μl 乙醇。(5)短暂涡旋离心管。(6)加入 1 ml 己烷并涡旋 30 s 两次。(7)在台式低速离心机中以 4 000 rpm 的速度离心 5 分钟。(8)离心后将上层相转移到新的 5 ml 离心管中,剩余部分重复(6)(7)步骤两次,取出的上层相均加入至同一个 5 ml 离心管中,并用锡箔纸包裹离心管。(9)在 N2 温和气流下干燥上清液(时间不超过 30 分钟)。(10)将样品溶解在 100 μl 流动相(甲醇)中,涡旋振荡后在台式低速离心机中以 4 000 rpm 的速度离心 3 分钟,转移到进样小瓶。注:整个过程避光进行。

**2.3 RT-qPCR 法检测眼球组织 TTR 基因的表达** Real-time PCR 所使用的的引物由上海生工公司 Primer Premier 5.0 软件设计、合成,以管家基因 GAPDH 为内参。TTR:上游:5' - CACAATCGCCCTCAAACC - 3';下游:5' - ATGCCAAGTGTCTTCCAGTA - 3';GAPDH:上游:5' - AGCGTCAAAGGTGGAGGGACTGG - 3';下游:5' - TCAAGGGCATCTGGGCTACAC - 3'。实验方法:组织总 RNA 抽提利用 Trizol 试剂盒;并利用该试剂盒逆转录为 cDNA,逆转录体系:采用 20 μl 逆转录反应体系,将 PCR 反应条件设置为:37℃持续 15 min,85 °C 持续 5 秒。Real time-PCR 反应体系:采用 20 μl 体系,10.0 μl GoTaq © Green Master Mix ,1.0 μl 上游

引物溶液(F),1.0 μl 下游引物溶液(R)2.0 μl cDNA,6.0 μl dH<sub>2</sub>O。PCR 扩增条件:95℃ 10 min,(95℃ 10 s,60℃ 15 s,72℃ 20 s)并进行 45 个循环。将 GAPDH 设置为内参,并采用 2<sup>-ΔΔCT</sup>法对目的基因的相对表达量进行计算。

**2.4 SDS-PAGE 蛋白凝胶显色以及 Western blot 检测眼球组织 TTR 蛋白表达** 眼球样本中提取总蛋白,并采用 BCA 法测量蛋白质浓度。SDS-PAGE 蛋白凝胶显色:制备蛋白样品后变性并完成配胶,电泳,染色以及脱色。Western blot 检测:制备蛋白样品后并使其变性,进行上样,配胶,电泳,切胶,转膜,封闭,孵育一抗:根据试剂盒说明书确定一抗稀释浓度比例,用封闭液稀释抗体至合适浓度,4℃过夜孵育。二抗孵育:待一抗孵育结束后,TBST 冲洗 3 次后,将 PVDF 膜放入以 1:5 000 稀释的 HRP 标记的兔二抗或者鼠二抗溶液中,37℃孵育 1 h。最后进行曝光及显色。SDS-PAGE 蛋白凝胶显色以及 Western blot 检测均采用 ImageJ 软件分析蛋白质条带的灰度值并进行量化。

**2.5 统计学方法** 运用 graphpad prism 8.4.3 数据进行统计学处理。样本资料为正态分布,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,不同小鼠眼部,肝脏组织以及血液中视黄醇表达,TTR 基因 mRNA、蛋白表达均使用独立样本 *t* 检验,检验水准:α=0.05。

### 3 结果

**3.1 模型小鼠前期验证工作** 观察到小鼠眼球中玻璃体腔出现不规则混浊后,提取肝组织后进行测序,突变组小鼠肝组织基因测序显示第 3 外显子的 107 位置的碱基处出现杂合突变,第 83 位置的氨基酸的密码子由 GGC 突变成 CGC,即 Gly83Arg,与课题组前期构建的模型小鼠突变位点一致。

**3.2 两组小鼠不同组织中视黄醇含量** 检测结果 TTR Gly83Arg 突变组小鼠眼球组织中的视黄醇含量较对照组小鼠眼球组织含量低(*t* = 6.600, *P* = 0.022);肝脏组织视黄醇含量要大于对照组(*t* = 9.045, *P* < 0.001);血液中视黄醇含量要低于对照组(*t* = 4.343, *P* = 0.012)(表 1,图 1)。

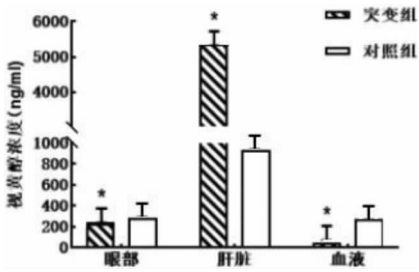
表 1 突变组与对照组各组织中视黄醇浓度分析( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 1 Analysis of retinol concentration in various tissues of mutant and control groups( $\bar{x} \pm s$ )

组别	组织	样本数	视黄醇浓度(ng/ml)
突变组	眼部	3	232.498 3 ± 3.910 7 <sup>a</sup>
	肝脏	3	5 414.280 0 ± 853.370 0 <sup>a</sup>
	血清	3	48.840 0 ± 41.200 0 <sup>a</sup>
对照组	眼部	3	281.799 8 ± 5.510 0

(续表)

组别	组织	样本数	视黄醇浓度 (ng/ml)
	肝脏	3	931.950 0 ± 92.290 0
	血清	3	270.380 0 ± 78.160 0

注: a 表示与对照组比较  $P < 0.05$ 。



注: ★:  $P < 0.05$ , 差异具有统计学意义; 眼部:  $t = 6.600, P = 0.022$ ; 肝脏:  $t = 9.045, P < 0.001$ ; 血液:  $t = 4.343, P = 0.012$ 。

图 1 TTR Gly83Arg 突变小鼠与对照组小鼠各个组织视黄醇含量比较

Fig. 1 Comparison of retinol content in eye tissues of TTR Gly83Arg mutant mice and control mice

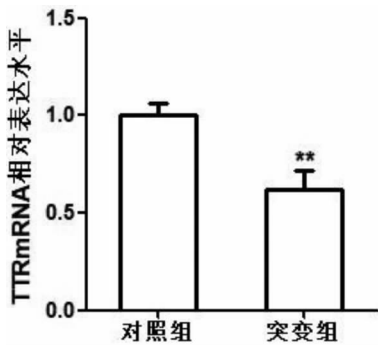
3.3 RT-PCR 检测说明 突变组小鼠眼球组织中的 TTR 蛋白 mRNA 表达水平较对照组小鼠眼球组织含量低, 两组差异有统计学意义 ( $t = 5.764, P = 0.004$ ) (表 2, 图 2)。

表 2 突变组与对照组眼球组织 TTR mRNA 相对表达量 (TTR/GAPDH) 分析 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Analysis of relative expression of TTR mRNA (TTR/GAPDH) in eyeball tissues of mutation group and control group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本数	眼球 TTR mRNA 相对表达量 (TTR/GAPDH)
对照组	3	1.001 2 ± 0.059 7
突变组	3	0.619 8 ± 0.097 9 <sup>a</sup>
<i>P</i>		0.004 0

注: a 表示与对照组比较  $P < 0.05$ 。



注: ★★:  $P < 0.05$ , 差异具有统计学意义 ( $t = 5.764, P = 0.004$ )。

图 2 TTR Gly83Arg 突变小鼠眼球组织与对照组小鼠眼球组织中的 TTR mRNA 相对表达水平比较

Fig. 2 Comparison of TTR mRNA expression in eye tissues of TTR Gly83Arg mutant mice and control mice

3.4 SDS-PAGE 分析 提示突变组小鼠眼球组织中 TTR 蛋白变性后的残基蛋白表达水平提高, 突变组在 11kd 处出现蛋白条带 (图 3), Western Blot 检测提示, 突变组小鼠眼球组织中 TTR 蛋白表达低于对照组 (表 3, 图 4), 两组差异有统计学意义 ( $t = 37.48, P < 0.001$ )。

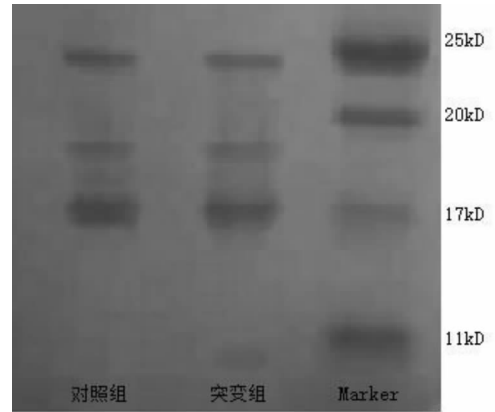


图 3 TTR Gly83Arg 突变组小鼠与对照组小鼠眼球组织的蛋白质 SDS-PAGE 分析在接近 11 kD 处, 突变组可见一染色条带, 染色较对照组深

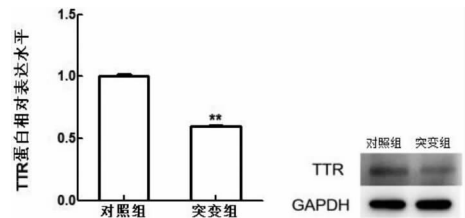
Fig. 3 Protein SDS-PAGE analysis of eyeball tissues of TTR Gly83Arg mutant mice and control mice

表 3 突变组与对照组 TTR 蛋白相对表达量 (TTR/GAPDH) 分析 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Analysis of TTR protein relative expression (TTR/GAPDH) between mutation group and control group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本数	眼球 TTR 蛋白相对表达量 (TTR/GAPDH)
对照组	3	0.999 9 ± 0.013 9
突变组	3	0.594 9 ± 0.012 5 <sup>a</sup>
<i>P</i>		0.000 003 024 17

注: a 表示与对照组比较  $P < 0.001$ 。



注: ★★:  $P < 0.05$ , 差异具有统计学意义 ( $t = 37.48, P < 0.001$ )。

图 4 TTR Gly83Arg 突变组小鼠与对照组小鼠眼球组织的 TTR 蛋白相对表达水平比较

Fig. 4 Protein Western blot analysis of eyeball tissues of TTR Gly83Arg mutant mice and control mice

## 4 讨论

转甲状腺素淀粉样变主要与 TTR 蛋白出现突变有关, TTR 蛋白四聚体稳定性降低解聚为单体, 这些具有细胞毒性的变性蛋白沉积在各种不同组织中造成不同程度的病变<sup>[1]</sup>, 是一种多系统疾病, 眼部是其中可能累及的一个器官位置, 目前有 32 个 TTR 基因突变涉及到眼部, 并且仅累及眼部的造成玻璃体出现淀粉样沉积的有 Arg54Gly<sup>[9]</sup>、Lys35Thr + Leu55Arg<sup>[10]</sup>、Gly83Arg<sup>[11]</sup>、Trp41Leu<sup>[12]</sup>, 这与个基因遗传学分子特征有关。在本次研究中, 课题组之前已成功构建了 Gly83Arg 模型小鼠<sup>[3]</sup>。本次研究首先验证了所采用模型鼠构建成功, 基因测序的突变位点与前期所构建的模型鼠的突变位点相同, 第 3 外显子的 107 位碱基处出现杂合突变 G→C (c. 107G→C)。

在对 Gly83Arg 突变小鼠眼部组织研究中发现, SDS - PAGE 结果显示突变组的小鼠在接近 11kD 处出现条带, 这与 JURIS J 等人对在 TTR Ile84Ser 淀粉样变性中结果相似<sup>[13]</sup>, 我们推断该条带的形成可能是由于变异的 TTR 蛋白增多并所形成的残基聚集形成的, 在 TTR 蛋白相关的淀粉样变性所导致的玻璃体混浊中, 玻璃体中的淀粉样蛋白主要是由于眼部组织自身合成变异 TTR 蛋白增多所导致的<sup>[14]</sup>。同样我们采用了 Western Blot 检测与 RT - PCR 检测了眼部组织中 TTR 蛋白的表达量, 在 Gly83Arg 小鼠中, 其 TTR 蛋白及 mRNA 表达水平降低。

同样本次实验对 Gly83Arg 突变小鼠的眼部, 肝脏组织以及血液中视黄醇的含量进行了检测, 发现突变型小鼠的眼球组织以及血液中的视黄醇含量减少, 但在肝脏组织中增多。视黄醇 - RBP4 - TTR 三元复合物将视黄醇从肝脏转运至血液中<sup>[15-16]</sup>, 而由于突变组小鼠肝脏中的 TTR 蛋白减少<sup>[2]</sup>, 导致视黄醇积聚于肝脏组织中, 从而肝脏进入血液循环中的视黄醇含量也减少。而在眼部中主要介导视黄醇转运功能的是 STRA6 受体, 并且该受体受 TTR 蛋白的影响<sup>[17]</sup>, 首先需要视黄醇对其进行激活。在 Gly83Arg 小鼠中, 血液循环中的低视黄醇水平影响了 STRA6 转运视黄醇的功能, 并且增多的变异 TTR 蛋白抑制了 RBP4 与 STRA6 的结合, 从而导致了眼部组织中的视黄醇含量减低。

在 Gly83Arg 突变小鼠的眼球组织中, 由于眼球组织中突变 TTR 蛋白的增多以及血液中转运的视黄醇含量减少, 导致了眼球组织中视黄醇含量的减少, 这些或许能为认识 Gly83Arg 所致的淀粉样病变中淀粉样蛋白仅存在于眼部组织的形成机制提供新的思路, 也提示该病的治疗不仅可以采取玻璃体切割, 或

许也可以通过视黄醇对 Gly83Arg 突变所引起的玻璃体淀粉样变进行干预, 为该疾病以后的治疗甚至预防提供了新的路线。

**利益冲突声明** 本研究不存在任何利益冲突

## 参考文献

- [1] Marcoux J, Mangione PP, Porcari R, et al. A novel mechano - enzymatic cleavage mechanism underlies transthyretin amyloidogenesis[J]. *EMBO Molecular Medicine*, 2015, 7(10): 1337 - 1349.
- [2] Liz MA, Celho T, Bellotti V, et al. A narrative review of the role of transthyretin in health and disease[J]. *Neurology and Therapy*, 2020, 9(2): 395 - 402
- [3] Beirão M, Matos E, Beirão I, et al. No ocular involvement in familial amyloidotic polyneuropathy ATTR V30M domino liver recipients[J]. *Transplant International*, 2012, 25(6): 646 - 651.
- [4] Fex G, Johannesson G. Transfer of retinol from retinol - binding protein complex to liposomes and across liposomal membranes[J]. *Methods in Enzymology*, 1990, 189: 394 - 402.
- [5] Noy N, Xu ZJ. Interactions of retinol with binding proteins: implications for the mechanism of uptake by cells [J]. *Biochemistry*, 1990, 29(16): 3878 - 3883.
- [6] Noy N, Blaner WS. Interactions of retinol with binding proteins: studies with rat cellular retinol - binding protein and with rat retinol - binding protein [J]. *Biochemistry*, 1991, 30(26): 6380 - 6386.
- [7] Noy N, Xu ZJ. Kinetic parameters of the interactions of retinol with lipid bilayers[J]. *Biochemistry*, 1990, 29(16): 3883 - 3888.
- [8] Ran LX, Zheng ZY, Xie B, et al. A mouse model of a novel missense mutation (Gly83Arg) in a Chinese kindred manifesting vitreous amyloidosis only[J]. *Experimental Eye Research*, 2018, 169: 13 - 19.
- [9] Andersson R. Familial amyloidosis with polyneuropathy. A clinical study based on patients living in northern Sweden[J]. *Acta Medica Scandinavica. Supplementum*, 1976, 590: 1 - 64.
- [10] Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy; familial atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves[J]. *Brain: a Journal of Neurology*, 1952, 75(3): 408 - 427.
- [11] Shi Y, Li J, Hu J, et al. A new Arg54Gly transthyretin gene mutation associated with vitreous amyloidosis in Chinese[J]. *eye Science*, 2011, 26(4): 230 - 238.
- [12] Yin J, Xia XY, Shi Y, et al. Chinese familial transthyretin amyloidosis with vitreous involvement is associated with the transthyretin mutation Gly83Arg: a case report and literature review [J]. *Amyloid: the International Journal of Experimental and Clinical Investigation: the Official Journal of the International Society of Amyloidosis*, 2014, 21(2): 140 - 142.
- [13] Liepnieks JJ, Wilson DL, Benson MD. Biochemical characterization of vitreous and cardiac amyloid in Ile84Ser transthyretin amyloidosis[J]. *Amyloid: the International Journal of Experimental and Clinical Investigation: the Official Journal of the International Society of Amyloidosis*, 2006, 13(3): 170 - 177.

- solving strategies of public health talents cultivation ——based on the investigation, research and analysis of the demand for preventive medicine talents in Yueyang[J]. Journal of Yueyang Vocational and Technical College, 2021, 36(3): 5-9, 18.
- [7] 廖娜. 关于基层疾控机构公共卫生人员核心能力的思考[J]. 卫生职业教育, 2021, 39(4): 129-131.
- Liao N. Reflections on the core competencies of public health personnel in primary CDC organizations [J]. Health Vocational Education, 2021, 39(4): 129-131.
- [8] 林永兴, 朱颖, 李温馨, 等. 新型冠状病毒肺炎疫情下社区卫生应急人员核心应急能力及提升需求的调查研究[J]. 中国全科医学, 2022, 25(4): 424-431.
- Lin YX, Zhu Y, Li WX, et al. The core competencies in emergency management and areas in demand for improvement in community public health emergency responders amid COVID-19 pandemic[J]. Chinese General Practice, 2022, 25(4): 424-431.
- [9] 彭书芝, 柳星月, 裴梦云, 等. 全科医生公共卫生核心能力体系构建[J]. 卫生软科学, 2023, 37(3): 18-21.
- Peng SZ, Liu XY, Pei MY, et al. Establishment of the public health core competence system for general practitioners [J]. Soft Science of Health, 2023, 37(3): 18-21.
- [10] 查庆华, 朱唯一, 田秋菊, 等. 新入职护士护理信息能力评价指标体系的构建[J]. 中国护理管理, 2022, 22(10): 1452-1457.
- Zha QH, Zhu WY, Tian QJ, et al. Construction of the informatics competency measurement system for newly recruited nurses [J]. Chinese Nursing Management, 2022, 22(10): 1452-1457.
- [11] 邹茂, 吴成斌, 陈小丹, 等. 基于德尔菲法的重庆市健康促进医院评价指标体系构建研究[J]. 医学与社会, 2022, 35(2): 75-79, 84.
- Zou M, Wu CB, Chen XD, et al. Research on construction of evaluation index system of health promoting hospitals in Chongqing based on delphi method [J]. Medicine and Society, 2022, 35(2): 75-79, 84.
- [12] Zhang M, Liu MX, Wang DW, et al. Development of a risk assessment scale for perinatal venous thromboembolism in Chinese women using a Delphi-AHP approach [J]. BMC Pregnancy and Childbirth, 2022, 22(1): 426.
- [13] Shang ZD. Use of Delphi in health sciences research: a narrative review [J]. Medicine, 2023, 102(7): e32829.
- [14] 张慧湘. 论现代医务人员的信息素养及作用[J]. 医疗保健器具, 2007, (7): 31-33.
- Zhang HX. On the information literacy and role of modern medical personnel [J]. Clinical Medicine & Engineering, 2007, (7): 31-33.
- [15] 刘月, 王莉莉, 涂锦怡, 等. 养老机构老年人社会资本评价指标体系的构建[J]. 现代预防医学, 2021, 48(24): 4471-4475.
- Liu Y, Wang LL, Tu JY, et al. Construction of social capital evaluation index system for elderly in long-term care facilities [J]. Modern Preventive Medicine, 2021, 48(24): 4471-4475.
- [16] 罗红, 李小寒, 李玉玲, 等. 护理信息力量表的编制及信度效度检验[J]. 中国护理管理, 2020, 20(3): 423-427.
- Luo H, Li XH, Li YL, et al. Development and test of reliability and validation of Nursing Informatics Competency Scale [J]. Chinese Nursing Management, 2020, 20(3): 423-427.
- [17] 何晓阳. 医学本科生信息素养评价指标体系的构建 [D]. 重庆: 西南大学, 2011.
- He XY. The construction of information literacy evaluation index system for medical undergraduates [D]. Chongqing: Southwest University, 2011.
- [18] 沈忆, 段亚哲, 钟佳琦, 等. 军队胸心外科专科护士核心能力评价指标体系构建[J]. 解放军医院管理杂志, 2021, 28(12): 1135-1137, 1149.
- Shen Y, Duan YZ, Zhong JQ, et al. Construction of the core competence evaluation index system of specialized nurses in military cardiothoracic surgery [J]. Hospital Administration Journal of Chinese People's Liberation Army, 2021, 28(12): 1135-1137, 1149.
- [19] 周丽娟, 高宏斌, 王京春, 等. 国内外信息素养标准的特征及启示[J]. 情报探索, 2023, (7): 116-124.
- Zhou LJ, Gao HB, Wang JC, et al. Characteristics and Enlightenment of information literacy standards at home and abroad [J]. Information Research, 2023, (7): 116-124.
- [20] 钱冬明, 周雨萌, 廖白舸, 等. 大学生信息素养评价标准研究——以上海市为例 [J]. 中国高教研究, 2022(9): 53-59.
- Qian DM, Zhou YM, Liao BG, et al. Concept, connotation and evaluation standards of information literacy: a case study on university students in Shanghai [J]. China Higher Education Research, 2022(9): 53-59.
- [21] 莫楠. 公共卫生信息活动中医务人员的伦理素养及其培育[J]. 医学与哲学, 2022, 43(16): 58-62.
- Mo N. Ethical literacy of medical staff in public health information activities and its cultivation [J]. Medicine & Philosophy, 2022, 43(16): 58-62.

收稿日期: 2023-09-18

(上接第 1087 页)

- [14] Hara R, Kawaji T, Ando E, et al. Impact of liver transplantation on transthyretin-related ocular amyloidosis in Japanese patients [J]. Archives of Ophthalmology, 2010, 128(2): 206-210.
- [15] Marill J, Idres N, Capron CC, et al. Retinoic acid metabolism and mechanism of action: a review [J]. Current Drug Metabolism, 2003, 4(1): 1-10.
- [16] D'Ambrosio DN, Clugston RD, Blaner WS. Vitamin A metabolism: an update [J]. Nutrients, 2011, 3(1): 63-103.
- [17] Noy N. Vitamin a in regulation of insulin responsiveness: mini review [J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2016, 75(2): 212-215.

收稿日期: 2023-07-04