

## 转化生长因子- $\beta 1$ 基因 509 C/T 多态性在宁夏煤工尘肺人群中的分布

杨文海<sup>1</sup>, 杨瑾<sup>1</sup>, 王发选<sup>1</sup>, 王亚娜<sup>2</sup>, 汪岭<sup>1</sup>, 陈莉莉<sup>1</sup>, 宋琦如<sup>1\*</sup>

**摘要:** [目的] 探讨转化生长因子- $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) 基因 509 C/T 多态性在宁夏汉族煤工尘肺 (coal worker's pneumoconiosis, CWP) 人群中的分布情况。 [方法] 从宁夏某煤业集团所属煤矿已确诊的病例中随机抽取 110 名煤工尘肺病例 (煤工尘肺组) 110 名煤尘接触者 (煤尘接触组) 和 110 名当地不接尘的正常居民 (非煤尘接触组) 为研究对象, 采集静脉血, 使用聚合酶链反应-限制片段长度多态性 (PCR-RFLP) 分析 TGF- $\beta 1$  基因 509 CT 位点多态性。 [结果] 煤工尘肺组、煤尘接触组及非煤尘接触组平均年龄分别为 (48.30 ± 13.16) 岁、(43.86 ± 4.20) 岁、(41.73 ± 5.45) 岁。煤工尘肺组和煤尘接触组工龄分别为 (17.40 ± 7.84) 年和 (16.95 ± 6.10) 年。工种构成: 主掘进工在煤工尘肺组和煤尘接触组中分别占 48.2% 和 49.1%。煤工尘肺组和煤尘接触组及非煤尘接触组中吸烟年龄分别为 (10.48 ± 10.12) 年、(11.34 ± 10.48) 年、(12.65 ± 11.53) 年; 接尘工龄、工种构成、吸烟年龄均无差别, 均  $P > 0.05$ 。TGF- $\beta 1$  基因 509 C/T 位点多态性在煤工尘肺组、煤尘接触组及非煤尘接触组中所占比例分别为 51.8%、30.9%、25.5%; 等位基因频率 T 在煤工尘肺组、煤尘接触组及非煤尘接触组中所占比例分别为 40.90%、23.20%、19.10%; 煤工尘肺组与煤尘接触组比较, TGF- $\beta 1$  基因中 CT 基因型差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。煤工尘肺组不同期别人群的等位基因频率差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。 [结论] TGF- $\beta 1$ -509 C/T 位点多态性在宁夏地区煤工尘肺者中的分布可能不同。

**关键词:** 煤工尘肺; 转化生长因子; 聚合酶链反应-限制片段长度多态性; 多态性

**The Distribution of TGF- $\beta 1$  Gene-509 C/T Polymorphism in Coal Worker's Pneumoconiosis Patients in Ningxia Area** YANG Wen-hai<sup>1</sup>, YANG Jin<sup>1</sup>, WANG Fa-xuan<sup>1</sup>, WANG Ya-na<sup>2</sup>, WANG Ling<sup>1</sup>, CHEN Li-li<sup>1</sup>, SONG Qi-ru<sup>1\*</sup> (1. School of Public Health, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 2. Science and Technology Research Center, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China). \*Address correspondence to SONG Qi-ru; E-mail: Sqr20@163.com

**Abstract:** [Objective] To investigate gene polymorphisms of transforming growth factor-beta1 (TGF- $\beta 1$ )-509 C/T in patients with coal worker's pneumoconiosis (CWP). [Methods] Total of 110 patients with documented CWP and 110 workers exposed to dust and 110 local residents without dust exposure as control group were recruited. The TGF- $\beta 1$ -509 C/T genotypes were determined by PCR-restriction fragment length polymorphism of vein blood samples. [Results] The average ages of CWP group, the dust exposure group and the control group were (48.30 ± 13.16) (Mean ± SD), (43.86 ± 4.20), and (41.73 ± 5.45) years respectively; The average working ages of the CWP group and the coal dust exposure group were (17.40 ± 7.84) years (Mean ± SD) and (16.95 ± 6.10) years respectively. 48.2% of the CWP group and 49.1% of the dust exposure group were drifters. The durations of smoking varied in the CWP group, the dust exposure group and the control group [(10.48 ± 10.12) years (Mean ± SD), (11.34 ± 10.48) years, (12.65 ± 11.53) years, respectively]. The length of dust exposure and job title distribution were found no statistically difference between worker's groups. Smoking ages were not difference in all three groups. The percentage of TGF- $\beta 1$ -509 C/T genotype polymorphism were 51.8%, 30.9% and 25.5% for the CWP group, the dust exposure group and the control group respectively. The allele frequency of T in the CWP group, the dust exposure group and the control group were 40.9%, 23.2%, 19.1% respectively. Both TGF- $\beta 1$ -509 C/T genotypes and alleles frequencies were significantly higher in the CWP patients than in the controls ( $P < 0.05$ ). [Conclusion] TGF- $\beta 1$ -509 C/T polymorphisms distributions were different in workers with CWP and residents without dust exposure.

**Key Words:** coal worker's pneumoconiosis (CWP); transforming growth factor-beta 1 (TGF- $\beta 1$ ); polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP); polymorphism

[基金项目] 宁夏医学院预研项目 (编号: YY200752); 宁夏自然科学基金项目资助 (编号: NZ0996)

[作者简介] 杨文海 (1981-), 男, 硕士生, 理化检验技师; 研究方向: 职业与健康评价; E-mail: ywh201@163.com

[\*通信作者] 宋琦如教授; E-mail: Sqr20@163.com

[作者单位] 1. 宁夏医科大学公共卫生学院, 宁夏 银川 750004; 2. 宁夏医科大学医学科学技术研究中心, 宁夏 银川 750004

煤工尘肺 (coal worker's pneumoconiosis, CWP) 是指煤矿粉尘作业工人长期吸入生产性粉尘所引起的尘肺的总称。工人在煤矿开采过程中由于工种不同、可分别接触煤尘、煤矽尘和矽尘, 从而引起肺的弥漫性纤维化, 统称之为煤工尘肺<sup>[1]</sup>。在不同人群中和不同的个体间基因的核苷酸序列存在的差异性称为基因的多态性 (gene polymorphism)。这种多态性可以分为 DNA 位点多态性 (site polymorphism) 和长度多态性 (length polymorphism)

两类。单核苷酸多态性( single nucleotide polymorphism , SNP )指 DNA 序列中的单一碱基对变异,即 A、T、C、G 的改变。对 SNP 的认识和研究,已经是人类基因组计划的精髓部分,它所揭示的人种、人群和个体之间 DNA 序列的差异以及差异所表现的意义将给疾病的诊断、治疗和预防带来革命性的进展。目前,我国尘肺成为发病率最高、死亡危险性较大、对劳动者危害最严重的一类职业病。本研究拟调查转化生长因子- $\beta 1$ ( *TGF- $\beta 1$*  )基因 509 C/T 位点多态性在宁夏地区煤工尘肺者中的分布情况。

1 对象与方法

1.1 对象

从宁夏某煤业集团所属煤矿已确诊的尘肺病例中随机抽取 110 例为病例组,均为汉族男性病例;选择与病例同性别、同工种、同民族、相似的接尘时间及累积接尘工龄(  $\pm 2$  年 )的接尘人群 110 例( 按 1 : 1 匹配 )作为煤尘接触组;再选择抽取年龄与病例组年龄接近(  $\pm 2.5$  岁 )的当地不接尘居民 110 人( 按 1 : 1 匹配 )作为非煤尘接触组,均为汉族男性;三组人群均排除免疫病史及其他肺部疾病。问卷调查内容包括:年龄、接尘工龄、尘肺病诊断史、既往病史等。同时对研究对象拍摄 X 线( 后前位 )胸片,由专家组根据《尘肺病诊断标准》( GBZ 70—2002 )进行诊断( 煤工尘肺病例均出具诊断证明书,以此确定为煤工尘肺病例 )。

1.2 血样采集和 DNA 提取

对每个研究对象均采集外周静脉血 3~5 mL,置于含乙二胺四乙酸( EDTA )抗凝剂的真空无菌管中混匀,及时置于 -20 冰箱中保存( 并在一周内完成 DNA 的提取 ),采用氯仿抽提结合乙醇沉淀的方法从外周静脉血中提取 DNA。

1.3 *TGF- $\beta 1$*  基因 509 C/T 位点多态性分析

PCR 扩增相应的目的片段,产物长度 336 bp,用限制性内切酶 Nco81-I 消化。分为 3 种基因型:纯合型 CC( 仅见 336 bp 条带 )、杂合子 CT( 可见 336、247、108 bp 3 个条带 )、纯合突变型 TT( 仅见 247、108 bp 2 个条带 )。依据参考文献[ 2-3 ]设计引物,上游引物为 5'-GCCTCCTGACCTTCCATCCC-3',下游引物为 5'-CACCAAAGCGGTGATCCAGAT-3'。引物由北京奥科生物技术有限责任公司合成,其扩增的 DNA 片段长度为 336 bp;PCR 反应条件为 95 5 min,95 30 s、61 1 min、72 1 min、35 个循环,72 7 min,10  $\mu$ L PCR 反应产物与 10U 限制性内切酶 Nco81-I 在 37 条件下隔夜消化,经质量分数为 2% 的琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭( EB )染色,用凝胶成像系统观察并记

录实验结果。

1.4 质量控制

采用统一的调查表,统一培训调查员,在调查时对病例和对照一视同仁,以减少调查员偏倚。通过“ 接尘工人管理登记卡 ”记录病例和对照的职业史、尘肺诊断情况,以减少被调查者的回忆偏倚和报告偏倚。所选择研究对象来自于两个不同现场,以在一定程度上减少选择偏倚。

1.5 统计学处理

所有数据均以(  $\bar{x} \pm s$  )表示,两组间各指标比较采用 *t* 检验,多组间各指标比较采用方差分析,两组间等位基因分布比较采用  $\chi^2$  检验。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

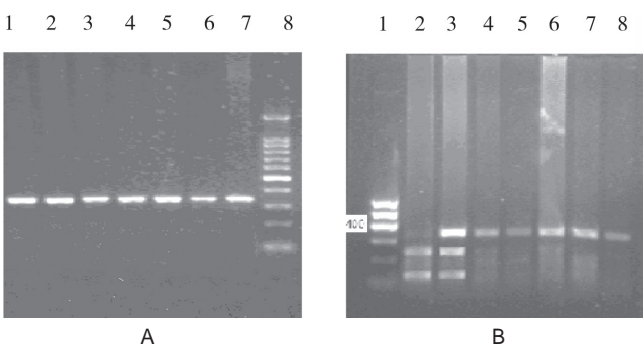
2 结果

2.1 一般情况

煤工尘肺组、煤尘接触组及非煤尘接触组的平均年龄分别为(  $48.30 \pm 13.16$  )岁、(  $43.86 \pm 4.20$  )岁及(  $41.73 \pm 5.45$  )岁,经 *t* 检验,煤工尘肺组年龄均高于煤尘接触组及非煤尘接触组(  $P<0.01$  )。而经 *t* 或  $\chi^2$  检验,煤工尘肺组和煤尘接触组的接尘工龄、工种构成及吸烟烟龄差异均无统计学意义(  $P>0.05$  ),相关数据见本课题组的前期报道[ 4 ]。

2.2 电泳图

目的片段扩增( PCR )电泳图及其酶切片段电泳图( 图 1 )。



[ 注( Notes ) ]A: 目的片段扩增电泳图( Electrophoresis of PCR fragment ); Lane 1、2、3、4、5、6、7: 目的片段( fragments ); Lane 8: Marker; B: 酶切电泳图( Enzyme electrophoresis ); Lane 2: TT 型; Lane 3: CT 型; Lane 4、5、6、7、8: CC 型; Lane 1: Marker。

图 1 *TGF- $\beta 1$* -509 电泳图

Figure 1 Electrophoretogram of *TGF- $\beta 1$* -509

2.3 各组 *TGF- $\beta 1$*  基因 509 位点基因型及等位基因频率比较( 表 2 )  
*TGF- $\beta 1$*  基因多态性的基因型频率经遗传平衡定律检验,

表 2 各组 *TGF- $\beta 1$*  基因 509 位点的基因型及等位基因频率的分布

Table 2 The distribution of *TGF- $\beta 1$* -509 genotypes in the coal workers' pneumoconiosis patients and the controls

组别( Groups )	<i>n</i>	CC 基因型( Genotype CC )		CT 基因型( Genotype CT )		TT 基因型( Genotype TT )		等位基因频率( Allele frequency % )	
		<i>n</i> <sub>1</sub>	构成比( % )	<i>n</i> <sub>2</sub>	构成比( % )	<i>n</i> <sub>3</sub>	构成比( % )	C	T
煤工尘肺组( CWP group )	110	20	18.2	57	51.8	33	30.0	35.00	40.90
I 期( Phase I )	65	9	13.8	38	58.5	18	27.7	36.15	43.10
II 期( Phase II )	22	5	22.7	10	45.5	7	31.8	34.10	38.65
III 期( Phase III )	23	6	26.1	9	39.1	8	34.8	32.60	35.85
煤尘接触组( Coal dust exposure group )	110	59	53.6*	34	30.9*	17	15.5*	42.25	23.20
非煤尘接触组( Non-coal dust exposure group )	110	68	61.8	28	25.5	14	12.7	43.65	19.10

[ 注 ]\*: 与煤工尘肺组比较,卡方检验( Compared with the CWP group,  $\chi^2$  test ),  $P<0.01$ ; : 不同期别构成比较,卡方检验( , , and of allele frequencies,  $\chi^2$  test ),  $P<0.01$ 。

符合 Hardy-Weinberg 平衡法则,表明基因型频率已达遗传平衡,所选择样本具有群体代表性。利用基因直接计数法,据基因型分别计算多态位点的基因频率,*TGF-β1* 基因 509 位点在不同组间分布结果见表 2。经卡方检验,煤工尘肺组与煤尘接触组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ );煤尘接触组与非煤尘接触组比较,差异无统计学意义( $P = 0.31$ )。

### 3 讨论

人类 *TGF-β1* 基因位于 19 号染色体 19q31.1,基因全长 25 kb,由 7 个外显子和 6 个内含子组成。大量研究表明 *TGF-β1* 的基因多态性影响着 *TGF-β1* 基因的转录活性和血浆 *TGF-β1* 分子水平<sup>[5-6]</sup>。对免疫系统有一定的影响,与重度哮喘发病有关<sup>[7]</sup>,本课题就 *TGF-β1* 基因 509 C/T 多态性进行研究,探索其单核苷酸多态性和煤工尘肺之间的关系。

*TGF-β1* 基因 509 C/T 是一个功能性的变异,因这个变异位于 *TGF-β1* 基因启动子区域,所以它可能产生或破坏一个转录因子结合位点,从而导致 *TGF-β1* 异常表达;*TGF-β1* 基因 509 C/T 变异与真正起作用的多态现象存在连锁不平衡;*TGF-β1*-509 位点与血浆中 *TGF-β1* 的浓度有着密切的关系<sup>[6]</sup>。本研究结果亦表明,*TGF-β1* 基因 509 C/T 位点在宁夏地区煤工尘肺者中的分布不同,其中煤工尘肺组基因型:CC(18.2%)、CT(51.8%)和 TT(30.0%);与煤尘接触基因型:CC(53.6%)、CT(30.9%)和 TT(15.5%)比较,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。提示 *TGF-β1* 基因 509 C/T 多态性在煤工尘肺患者与接触者间分布不同。

本研究显示,煤工尘肺组 *TGF-β1* 基因 509 C/T 位点等位基因的分布有所不同,提示可能与该病发生有一定关系,这与李娟等<sup>[8]</sup>的研究结果一致。然而,由于此次研究在获取个人准确的累积接尘量中存在很大困难,仅用暴露工龄长短作为接触史,而且各组在年龄、工龄及吸烟等因素中可能存在混杂因素,

且尘肺的发生还与机体免疫有关,其内在的联系还需进一步探讨和论证。

### 参考文献:

- [1] 金泰虞,孙贵范. 职业卫生与职业医学[M]. 6 版. 北京:人民卫生出版社,2008:191.
- [2] CHOU HT, SHI YR, HSU Y, et al. Lack of association between transforming growth factor-beta1 gene polymorphisms and mitral valve prolapse in Taiwan Chinese[J]. J Heart Valve Dis, 2002, 11(4): 478-484.
- [3] ATABAY B, OREN H, IRKEN G, et al. Role of transforming growth factor-β-1 gene polymorphisms in childhood idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2003, 25(11): 885-889.
- [4] 杨文海,王发选,杨瑾,等. TNF- $\alpha$  基因多态性与宁夏汉族煤工尘肺的关系[J]. 宁夏医科大学学报, 2009, 31(6): 758-760.
- [5] CRAINGER DJ, HEATHCOTE K, Chiano M. Genetic control of the circulating concentration of transforming growth factor type beta I[J]. Hum Mol Genet, 1999, 8(1): 93-97.
- [6] YOKOTA M, ICHIHARA S, LIN TL, et al. Association of a T29-C polymorphism of the transforming growth factor-beta I gene with genetic Susceptibility to myocardial infarction in Japanese[J]. Circulation, 2000, 101(24): 2783-2787.
- [7] YANG YH, LAI HJ, KAO C, et al. The association between transforming growth factor-β gene promoter C-509T polymorphism and Chinese children with Henoch-Schönlein purpura[J]. Pediatr Nephrol, 2004, 19(9): 972-975.
- [8] 李娟,范雪云,姚三巧,等. 转化生长因子-β 基因多态性与尘肺相关性研究[J]. 工业卫生与职业病, 2007, 33(5): 286-289.

(收稿日期:2009-10-29)

(英文编审:金克峙;编辑:洪琪;校对:郭薇薇)

### 【告知栏】

## 《环境与职业医学》杂志启用编辑远程管理系统的公告

《环境与职业医学》杂志自 2011 年 1 月 1 日起正式启用编辑远程管理系统,《环境与职业医学》杂志网站地址为 <http://jeom.scdc.sh.cn:8081>。该系统能实现在线投稿、在线审稿、期刊浏览检索等功能,欢迎广大作者、读者和审稿专家使用。自 2011 年 1 月 1 日起,我刊所有来稿都将通过网站编辑远程管理系统进行,将不再接受邮寄及电子邮箱投稿。作者使用编辑远程管理系统投稿时请先进行注册,在本刊网站点击“作者在线投稿”进入作者登陆界面,点击“注册”后,在注册界面逐项填写信息后提交;注册完毕后即可以作者身份登录,按照页面上给出的提示投稿。

如在使用过程中出现任何问题,请及时与我刊编辑部联系。

联系电话:021-61957512,61957515,61957518;电话(传真):021-62084529;E-mail:jeom@scdc.sh.cn

请关注我刊网站,网址:<http://jeom.scdc.sh.cn:8081>。

《环境与职业医学》编辑部

2010-11-25