

ACE 基因多态性与煤矿井下工人原发性高血压的关系

王东¹, 袁聚祥², 冯福民², 范红敏², 曹燕花², 钱令嘉¹

(1. 军事医学科学院卫生学环境医学研究所, 天津 300050; 2. 河北联合大学公共卫生学院, 河北 唐山 063000)

摘要: 目的 分析血管紧张素转换酶 (ACE) 基因多态性与原发性高血压 (EH) 的关系。方法 选择煤矿井下接尘工人为研究对象 (EH 组和对照组各 206 人), 进行职业流行病学调查, 并收集研究对象空腹静脉血 5 ml, 酚氯仿法提取基因组 DNA, 采用聚合酶链反应 (PCR) 方法检测 ACE 基因多态性。比较两组间的基因型、等位基因频率及倒班分布的差异。结果 EH 组和对照组倒班作业工人所占的比例分别为 42.23% 和 29.61%, 组间分布比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 7.13, P < 0.05$), EH 发生的危险增加了 1.74 倍。ACE 基因 II、ID、DD 基因型和等位基因 I、D 的分布, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示 ACE 基因多态性与 EH 无直接关系; 但倒班与 I 和 D 等位基因联合作用的 OR 值分别为 1.86 (OR95% CI: 1.32 ~ 2.63) 和 1.72 (OR95% CI: 1.09 ~ 2.71), 相乘模型交互作用产生的 OReg 值为 0.79, 提示倒班与 ACE 基因 I/D 等位基因之间存在负交互作用 (似然比检验 $P < 0.05$)。结论 倒班可能是 EH 的危险因素且可能与 ACE 基因插入/缺失序列等位基因存在交互作用。

关键词: 血管紧张素转换酶; 基因多态性; 等位基因; 原发性高血压; 倒班工作

中图分类号: R544.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2012)03-0197-03

The relationship between ACE gene polymorphism and essential hypertension in underground coal-workers

WANG Dong*, YUAN Ju-xiang, FENG Fu-min, FAN Hong-min, CAO Yan-hua, QIAN Ling-jia

(* . Academy of Military Medical Sciences, Institute of Healthy and Environmental Medicine, Tianjin 300050, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between ACE gene polymorphism and essential hypertension in underground coal workers in China. **Methods** A case-control study was conducted in 412 coal workers (206 essential hypertension workers and 206 healthy controls). 5 ml of fasting vein blood samples were taken for ACE I/D polymorphism detection with PCR and compare the differences in genotype allele frequency and shift work between two groups. **Results** The results showed that the proportion of shift-work in EH cases (42.23%) was significantly higher than that in controls (29.61%), and the odds ratio (OR) for EH was also 1.74 times increased comparing with the controls. There was no significant difference in frequency of ACE (I/D) genotypes between EH group and control group, neither the frequency of I and D allele. But there was a close correlation between shift work and allele of ACE (I/D) gene. **Conclusion** Shift work may be the risk factor of EH in coal workers which had a negative interaction with allele of ACE (I/D) gene.

Key words: angiotensin converting enzyme (ACE); polymorphism; allele; essential hypertension; shift work

血管紧张素转换酶 (angiotensin converting enzyme, ACE) 是肾素-血管紧张素-醛固酮系统的关键酶, 主要介导血管紧张素 II 的生成及降解缓激肽的作用, 在血压的调控过程中起非常重要的作用。位于该基因 16 内含子上的插入/缺失 (insertion/deletion, I/D) 多态性成为 ACE 基因水平功能研究的标志, 但众多研究的结论不一致^[1]。煤矿井下作业是一种高危职业, 恶劣的工作环境及不同的倒班制度等职业应激因素对井下作业人员生理、心理上造成不同程度的伤害, 也是原发性高血压 (essential hypertension, EH) 等心血管疾病的重要危险因素^[2,3]。本研究是以煤矿井下接尘作业人群为基础的病例对照研究, 分析 ACE 基因 I/D 多态性与 EH 的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 来源 2010 年某煤矿进行职业健康查体的井下接尘工人。

1.1.2 病例组 依据中国高血压防治指南 (2009 基层版) 作为诊断标准, 并结合研究对象既往病史、抗高血压药物服用情况确诊高血压, 排除继发性高血压患者。

1.1.3 对照组 按照年龄、工龄进行频数匹配, 选择年龄相差小于 5 岁, 工龄相差小于 5 年, 根据相同诊断标准诊断为非高血压患者的接尘工人作为对照。

1.2 流行病学调查

按照统一的调查表对所有研究对象进行面对面调查。调查内容包括一般情况 (民族、婚姻等)、职业 (工种、工龄、倒班情况等)、高血压家族史等。

1.3 标本收集及基因组 DNA 提取

抽取空腹静脉血 5 ml, 酚氯仿法提取基因组 DNA。

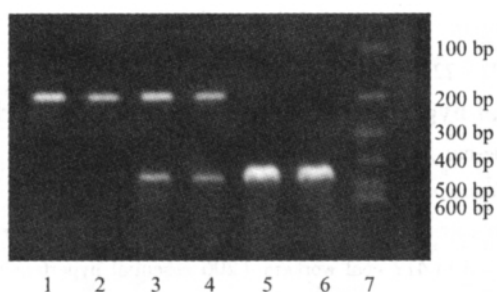
1.4 ACE 基因 I/D 多态性检测

参照文献 [4] 利用 primer5.0 进行引物设计, 上游引物 5'-CTGGAGACCACTCCCATCTTCT-3', 下游引物 5'-GATGTG-

收稿日期: 2011-12-09

作者简介: 王东 (1978-), 男, 博士在读, 研究方向: 职业流行病学。

GCCATCACATTCGTCAGAT-3'。PCR 扩增反应总体积 20 μl，反应条件为 94 °C 预变性 5 min；94 °C 变性 30 s，55 °C 退火 30 s，72 °C 延伸 40 s，共 35 个循环；最后于 72 °C 延伸 5 min。2.0% 琼脂糖凝胶进行电泳分离，溴化乙锭 (EB) 染色，紫外分析仪检测。ACE 基因 I/D 多态性扩增目的片段有 490 bp 和 190 bp，可形成 3 种不同的基因型，即 DD (190 bp)、ID (190 bp, 490 bp) 和 II (490 bp)。为了防止将 II 或 ID 基因型错误鉴定成 DD 基因型，针对插入序列设计特异性引物，上游引物 5'-TGGGACCACAGCGCCGCCACTAC-3'，下游引物 5'-TCGCCAGCCCTCCCATGCCATAA-3'，即含插入序列则可以扩增出来 335 bp 片段。再次扩增反应总体积为 20 μl，反应条件为 94 °C 预变性 5 min；94 °C 变性 30 s，58 °C 退火 30 s，72 °C 延伸 30 s，共 32 个循环；最后于 72 °C 延伸 5 min。2.0% 琼脂糖凝胶进行电泳分离，溴化乙锭 (EB) 染色，紫外分析仪检测。见图 1。



1, 2: DD (190 bp); 3, 4: ID (190 bp + 490 bp); 5, 6: II (490 bp); 7: DNA Marker

图 1 ACE 基因 I/D 多态性

1.5 统计分析

利用 Epidata 3.0 建立数据库，SAS 8.0 进行统计学处理。采用 χ^2 检验分析基因型分布是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验，比较病例组和对照组之间在倒班、各基因型和等位基因分布上的差异。倒班与 ACE 基因 I/D 多态性交互作用采用又生分析^[5]。

2 结果

2.1 研究对象一般情况

本次研究对象共 412 人，EH 组和对照组均为男性，每组 206 人。两组年龄和工龄的分布比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，两组具有可比性。比较 EH 组和对照组倒班作业工人分布差异有统计学意义 ($\chi^2 = 7.13, P = 0.007$)，倒班者发生 EH 的危险比不倒班者高 1.74 倍 (OR 95% CI: 1.16 ~ 2.61)，可能是 EH 的危险因素。见表 1。

表 1 病例组与对照组一般情况比较

一般情况	病例组	对照组
年龄 (岁)	51.1 ± 3.1	50.7 ± 3.5
工龄 (年)	29.2 ± 5.9	29.8 ± 5.1
不倒班 (%)	119 (57.77)	145 (70.39)
倒班 (%)	87 (42.23)	61 (29.61)

2.2 ACE 基因 I/D 多态性各基因型及等位基因在 EH 组和对照组中的分布

基因型分布符合 Hardy-weinberg 遗传平衡定律。比较 ACE 基因 II、ID、DD 基因型和等位基因 I、D 在 EH 组和对照组的分布差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，尚不能认为 ACE 基因多态性与 EH 有关，见表 2。

表 2 病例组和对照组 ACE 基因型、等位基因分布情况比较

组别	基因型			等位基因	
	II	ID	DD	I	D
病例组	104(50.5)	78(37.9)	24(11.6)	286(69.4)	126(30.6)
对照组	106(51.5)	81(39.3)	19(9.2)	293(71.1)	119(28.9)
χ^2 值	0.658			0.209	
P 值	0.720			0.648	

2.3 倒班与 ACE 基因 I/D 多态性交互作用与 EH 的关系

ACE 基因 ID 和 DD 基因型与倒班未观察到有交互作用。以 I 等位基因和不倒班为参照，倒班与 I 和 D 等位基因联合作用的 OR 值分别为 1.86 (OR 95% CI: 1.32 ~ 2.63) 和 1.72 (OR 95% CI: 1.09 ~ 2.71)，交互作用产生的 OReg 值为 0.79。提示倒班与 ACE 基因 I/D 等位基因之间存在负交互作用 (似然比检验 $P < 0.05$)，见表 3。

表 3 倒班与 ACE 基因 I/D 多态交互作用和原发性高血压的关系

基因	倒班	病例组	对照组	似然比检验 (P 值)
基因型	II	否	60	76
	ID	否	46	59
	DD	否	13	10
	II	是	44	30
等位基因	ID	是	32	22
	DD	是	11	9
	I	否	166	211
	D	否	72	79
	I	是	120	82
	D	是	54	40

3 讨论

原发性高血压 (EH) 是由个体生活方式、环境因素和遗传因素共同作用引起的常见病、多发病，具体的发病机制尚未完全阐明。肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS) 在维持水盐平衡、调节心血管活动中起重要作用，血管紧张素转换酶 (ACE) 是该系统的重要成分，其主要作用是催化血管紧张素 I 转化为血管紧张素 II，后者通过血管紧张素 II 1 型受体在血管紧张性调节及平滑肌细胞的增殖上发挥重要作用；另外 ACE 还具有降解有舒血管功能的缓激肽的作用^[1]。ACE 基因位于染色体 17q23，有 26 个外显子和 25 个内含子，在第 16 个内含子存在一个插入/缺失 (I/D) 的多态性，国内外众多学者针对该多态性与高血压关系的报道较多，但结论不一。Rigat^[4] 等于 1992 年对高加索人的研究中发现 ACE 基因 I/D 多态性与高血压的发生相关。国内在对哈萨克族高血压与

ACE 基因多态性时发现当哈萨克族个体携带 DD 基因型时, 患高血压的危险度上升^[6]。当然也有学者认为 ACE 基因 I/D 多态性与原发性高血压无关^[7,8]。

倒班作为一种职业性心理社会因素, 可以增加一些慢性疾病如心血管病、代谢性疾病等的发病危险, 但是由于工时制度和 workload 的不同, 尚不能得到统一的结论^[3,9,10]。

本研究以 412 名煤矿井下接尘作业工人为研究对象, 倒班作为环境因素, 分析 ACE 基因 I/D 多态性、倒班及其交互作用与 EH 的关系。结果显示倒班人员在病例组中所占的比例为 42.23%, 显著高于对照组的 29.61% ($\chi^2 = 7.128, P < 0.05$), 倒班工作发生 EH 的危险是固定班的 1.74 倍。ACE 基因 II、ID、DD 基因型和等位基因 I、D 在 EH 组和对照组的分布差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 不能认为 ACE 基因多态性与 EH 有关, 但是以 I 等位基因和不倒班为参照, 倒班与 I 和 D 等位基因联合作用的 OR 值分别为 1.86 和 1.72, 且基于交互作用相乘模型产生的 OReg 值为 0.79, 提示倒班与 ACE 基因 I/D 等位基因之间存在负交互作用 (似然比检验 $P < 0.05$)。

本研究对煤矿井下接尘工人 ACE 基因 I/D 多态性和倒班与 EH 的关系进行了初步分析, 由于 EH 受多个基因和多种环境因素的影响, 我们会在以后的工作中继续扩大样本量, 并选取多个候选基因和多种环境因素研究, 采取设计精良的流行病学方法, 严格控制偏倚和混杂因素的作用。

参考文献:

- [1] F A Sayed-Tabatabaei, B A Oostra, A Isaacs, *et al.* ACE polymorphisms [J]. *Circ Res*, 2006, 98 (9): 1123-1133.
[2] Yasushi Suwazono, Mirei Dochi, Kouichi Sakata, *et al.* Shift work is

a risk factor for increased blood pressure in Japanese men: A 14-year historical cohort Study [J]. *Hypertension*, 2008, 52 (3): 581-586.

- [3] X-S Wang, M E G Armstrong, B J Cairns, *et al.* Shift work and chronic disease: the epidemiological evidence [J]. *Occupational Medicine*, 2011, 61 (2): 78-89.
[4] Rigat B, Hubert C, Corvol P, *et al.* PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCPI) [J]. *Nucleic Acids Res*, 1992, 20 (6): 1433-1441.
[5] 王培桦, 沈洪兵, 陈峰, 等. 又生分析在基因-环境交互作用研究中的应用与意义 [J]. *中华流行病学杂志*, 2005, 26 (1): 54-57.
[6] 李娜, 郭淑霞, 张翼华, 等. 哈萨克族高血压与血管紧张素转换酶基因多态性 [J]. *中国公共卫生*, 2008, 24 (3): 274-275.
[7] Ned R M, Yesupriya A, Imperatore G, *et al.* The ACE I/D polymorphism in US adults: limited evidence of association with hypertension-related traits and sex-specific effects by race/ethnicity [J]. *Am J Hypertens*, 2012, 25 (2): 209-215.
[8] Yanyan L. The angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion (I/D) polymorphism and essential hypertension in the Chinese population: a meta-analysis including 21058 participants [J]. *Intern Med J*, 2012, 42 (4): 439-444.
[9] 刘宝英, 张文昌, 任南, 等. 职业紧张与高血压发病以及血压值影响的研究 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2002, 20 (5): 379-380.
[10] Sfreddo C, Fuchs S C, Merlo A R, *et al.* Shift work is not associated with high blood pressure or prevalence of hypertension [J]. *PLoS One*, 2010, 5 (12): e15250.

(上接第 193 页)

逐渐出现小阴影聚集; 最后在两上肺区出现大阴影, 发展为叁期。2002 年 23 例中 5 例合并肺结核 (21.7%), 3 例出现肺气肿, 1 例气胸, 1 例右肺上叶不张; 5 年后 22 例中 6 例合并肺结核 (27.3%), 3 例出现肺气肿, 4 例气胸, 1 例右肺上叶不张。

3 讨论

3.1 矽肺是尘肺病中最常见的一种, 也是危害尤为严重的一种职业病。改革开放以来, 农民工已逐渐成为城镇中一支强大的劳动大军, 为地方经济作出了巨大贡献, 但他们文化素质较低, 缺乏劳动技能, 多从事职业病危害因素较严重的体力劳动, 加之缺乏职业卫生知识和自我保护意识淡薄, 很容易发生各种职业危害事件^[1]。随访的 23 例农民工矽肺病作业时, 劳动强度大, 粉尘中游离二氧化硅含量高, 防尘措施不足, 粉尘浓度大, 是矽肺发病快、发病率高的主要原因。

应通过完善职业卫生监督管理体系, 规范劳动用工制度, 建立农民工健康监护档案等措施, 保护农民工健康。

3.2 急性矽肺亦称矽性蛋白沉着症, 是一种罕见的矽肺, 发生在接触二氧化硅含量及浓度均较高的粉尘作业工人中, 一般在接触 1~4 年发病, 进展迅速并由于呼吸衰竭而死亡^[2]。随访的 23 例矽肺病例, 平均接尘工龄 <4 年, 病情发展迅速, 随访 5 年后 11 例为贰期矽肺, 6 例发展为叁期矽肺。随访病例随时间推移, 病情均加重, 但病情发展存在差异。因此, 通过对发病机制的研究, 寻找尘肺发生和发展差异的原因, 对于尘肺病防治具有十分重要的意义。

参考文献:

- [1] 常筑平, 王宏春, 姚丹成, 等. 72 例急性矽肺并 13 例死亡病例临床和 X 线分析 [J]. *中国工业医学杂志*, 2005, 18 (4): 214-215.
[2] 李德鸿. 尘肺病 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 136.