

基因突变,甚至诱发肿瘤形成。PAH 引起 DNA 损伤的机制可能为 PAH 进入体内后,大部分在肝、肺细胞微粒体中细胞色素 P-450 酶系(如 CYP1A1)的氧化作用下形成环氧化物,然后经环氧化物水化酶(EH)水解成二羟基化合物,再由 P-450 酶系二次环氧化生成二羟基环氧化物,此为终致癌物,可与靶细胞 DNA 结合,形成 DNA 加合物,引起 DNA 损伤,启动致突变/致癌过程^[8,9]。本次实验研究显示,随着细颗粒物染毒浓度的增加,PAH-DNA 加合物的含量明显增加,呈现一定的剂量-反应关系。实验结果证实 PM_{2.5} 对肺泡 II 型上皮细胞产生了明显的细胞遗传毒性。

参考文献:

- [1] Hornberg C, Maciuleiciute L, Seemayer N H, *et al.* Induction of sister chromatid exchanges (SCE) in human tracheal epithelial cells by the fractions PM10 and PM2.5 of airborne particulates [J]. *Toxicol Lett*, 1998, 96-97: 215-220.
- [2] 王勇,操基玉,郭冬梅,等. 油烟中细颗粒物致胎鼠肺泡 II 型上皮细胞氧化应激指标的影响 [J]. *环境与健康杂志*, 2010, 27 (10): 872-875.
- [3] Wu She-Ching, Yen Gow-Chin. Effects of cooking oil fumes on the genotoxicity and oxidative stress in human lung carcinoma (A-549) cells [J]. *Toxicology in Vitro*, 2004, 18 (5): 571-580.
- [4] 王凯雄,朱杏冬. 烹调油烟气的成分及其分析方法 [J]. *上海环境科学*, 1999, 18 (11): 526-528.
- [5] 宿飞,谭佑铭,周少琴. 烹调油烟致大鼠肺组织癌前病变激励探讨 [J]. *上海预防医学*, 2001, 13 (7): 326-327.
- [5] Massolo L, Muller A, Tueros M, *et al.* Assessment of mutagenicity and toxicity of different-size fractions of air particulates from La Plata, Argentina and Leipzig, Germany [J]. *Environ Toxicol*, 2002, 17 (3): 219-231.
- [7] 贾鸿宁,戴红. 多环芳烃的致癌性及其机制研究进展 [J]. *大连医科大学学报*, 2009, 31 (5): 604-607.
- [8] Tretyakova N, Matter B, Jones R, *et al.* Formation of benzo [a] pyrene diol epoxide-DNA adducts at specific guanines within K-ras and p53 gene sequences: stable isotope-labeling mass spectrometry approach [J]. *Biochemistry*, 2002, 41 (30): 9535-9544.
- [9] Nesnow S, Davis C, Nelson G B, *et al.* Comparison of the genotoxic activities of the K-region dihydrodiol of benzo [a] pyrene with benzo [a] pyrene in mammalian cells: morphological cell transformation; DNA damage and stable covalent DNA adducts [J]. *Mutat Res*, 2002, 521 (1-2): 91-102.

TGF- β -800G/A 基因多态性与尘肺的相关性

Relationship between genetic polymorphism of transforming growth factor- β -800G/A and pneumoconiosis susceptibility

李娟, 范雪云, 刘亚楠, 郝小惠, 朱丽华

LI Juan, FAN Xue-yun, LIU Ya-nan, HAO Xiao-hui, ZHU Li-hua

(河北联合大学, 河北 唐山 063000)

摘要: 采用 1:1 配对的病例对照研究方法, 病例组为确诊的 117 例 I 期尘肺病人, 对照组与尘肺组同性别、同民族、同一工作车间或相同采掘工作面, 年龄差 <5 岁, 开始接尘时间和累积接尘工龄差 <2 年的接尘工人。应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 技术对 TGF- β 启动区的 -800G/A 位点的基因多态性进行检测。尘肺组 TGF- β 启动区的 -800G/A 位点等位基因和基因型频率与对照组比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。说明 TGF- β -800G/A 基因多态性在尘肺的易感性中不起主要作用。

关键词: 尘肺; 转化生长因子- β (TGF- β); 聚合酶链反应-限制性片段长度多态性技术 (PCR-RFLP); 基因多态性

中图分类号: R135.2 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2012)03-0212-02

转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 是个多功能的细胞因子, 在纤维化中起着重要的作用已得到了肯定。它可以调控肺成纤维细胞分裂、增殖及胶原蛋白的合

成与降解, 并且在纤维化性疾病中表达水平增高^[1]。近年遗传因素在疾病发病中的作用备受关注。调查发现, 尘肺病存在着很大的个体差异。基因多态性在阐明人体对疾病的易感性、疾病临床表现的多样性以及对治疗的反应性上都起着重要作用。TGF- β -800G/A 基因多态位点位于基因启动区上游, 可能参与了 TGF- β 基因转录的调节^[2], 我们在严格控制粉尘因素的情况下, 采用 1:1 配对病例对照研究方法, 探讨 TGF- β 基因多态性与尘肺的关系, 揭示其在尘肺发生发展中遗传易感性的作用, 为进一步防治尘肺奠定理论基础。

1 对象与方法

1.1 对象

本次研究是在对唐山钢铁集团公司某耐火材料厂 575 名粉尘作业工人和开滦 (集团) 有限责任公司下属某煤矿 800 名接尘工人进行健康检查基础上进行的。详细核实每名工人的职业史, 调查其接尘性质及累积接尘工龄, 全部拍摄前后位胸大片, 由尘肺诊断组按《尘肺病诊断标准》(GBZ70—2009) 做出尘肺诊断。以确诊的尘肺病人为研究对象。从受检工人中选择与病例年龄差 <5 岁、同性别、同民族, 开始接尘时间及累积接尘工龄差 <2 年、在同一车间或同一采掘工作面工作的非尘肺接尘工人作为对照组, 与尘肺组进行 1:1 配

收稿日期: 2011-07-06; 修回日期: 2011-09-26
基金项目: 唐山市科技局资助 (10140201A-11)
作者简介: 李娟 (1978—), 女, 硕士, 讲师。

对。选择男性、汉族壹期尘肺病例 117 例为尘肺组, 其中矽肺 77 例、煤工尘肺 40 例; 平均年龄 (55.9 ± 9.4) 岁 (43 ~ 81 岁), 平均发病年龄 (51.4 ± 8.2) 岁 (25 ~ 75 岁), 平均发病工龄 (26.5 ± 7.3) 年 (3 ~ 46 年)。对照组的性别、民族与尘肺组相同, 平均年龄为 (55.6 ± 9.4) 岁 (39 ~ 80 岁)。

1.2 方法

1.2.1 样品采集 现场采集空腹静脉血 5 ml, 取 1 滴用于血型测定, 其余用 2% EDTA 抗凝。采用低渗溶血法分离白细胞, 酚-氯仿-异戊醇法抽提 DNA, 于 4 °C 冻存备用。

1.2.2 TGF- β 基因多态性检测 (1) 目的基因片段的扩增: PCR 引物设计参考文献 [3], 由北京赛百盛有限公司合成。引物上游: 5'-ACA GTT GGC ACG GGC TT T CC-3', 引物下游: 5'-GTC ACC AGA GAA AGA GGA C-3'。(2) PCR 反应体系: 总体积为 25 μ l, 内含模板 DNA 50 ng, 上下游引物各 40 pmol/ μ l, 50 mmol/L KCl, 1.5 mmol/L MgCl₂, 200 μ mol/L dNTP, 1U Taq DNA 聚合酶。PCR 反应条件为 95 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min 为 1 个循环, 共扩增 30 个循环, 结束后于 72 °C 延伸 5 min。(3) RFLP 法检测基因型: TGF- β -800G/A 位点扩增出 388 bp 的产物, 通过 HpyCh4 IV 内切酶识别, 于 37 °C 水浴酶切 4 h。经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测酶切结果。

1.3 统计学处理

用 Excel 建库, SPSS 11.5 软件进行数据分析。计数资料采用行 $\times$ 列表 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法, 基因型及等位基因相对风险率以比值比 (OR) 及 95% 可信区间表示。

2 结果

2.1 TGF- β 1-800G/A 基因与尘肺的关系

由表 1 可见, TGF- β 1-800G/A 基因型及等位基因频率在尘肺组及对照组中的分布频率, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 病例组和对照组 TGF- β 1-800G/A 位点基因型和等位基因频率的比较

组别	基因型和等位基因					OR 值	P 值
	GG	GA	AA	G	A		
对照组	105(89.7)	8(6.8)	4(3.4)	218(93.2)	16(6.8)	1.027	0.598
尘肺组	109(93.1)	6(5.1)	2(1.7)	224(95.7)	10(4.3)	1.466	0.226

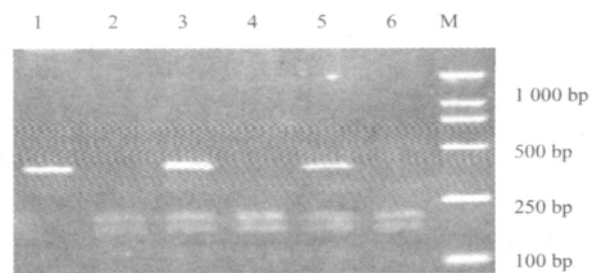
注: () 内为 %。

2.2 PCR 产物及酶切产物结果判定

图 1 为 PCR 扩增产物经酶切电泳图, CG 型纯合子为 182 bp 和 206 bp 两条带, GA 型杂合子为 182 bp、206 bp 和 388 bp 三条带, AA 型纯合子为 388 bp 一条带。

3 讨论

尘肺的发生与某些遗传机制及个体易感性有关^[4]。TGF- β 通过自分泌或旁分泌作用, 协调与其他细胞因子的作用, 促进细胞增殖和 ECM 沉积, 在肺纤维化发生过程中起着关键作用。但尘肺发病是受环境和个体多种因素共同作用的结果, 必须在严格控制其他因素的情况下, 才能研究基因多态性对尘肺发病的作用。



注: 2, 4, 6—GG 基因型; 3, 5—GA 基因型; 1—AA 基因型; M—DNA 标准物

图 1 TGF- β 1 基因的-800G/A 位点基因型分析

TGF- β 基因定位于人类染色体 19q13, 包含 6 个内含子和 7 个外显子, TGF- β 至少有 8 个 SNP 位点, 它的启动区有 2 个重要位点来启动转录并具有多种调节机制, 编码区主要有 2 个基因多态性位点引起编码蛋白的差异, 从而影响疾病的产生或严重程度。有研究表明, 血浆中 TGF- β -509C/T 基因多态性与其血浆浓度密切相关, 这与我们先前研究的结果一致。而对于 -800G/A 位点是否也参与尘肺 TGF- β 血浆浓度的调控, 目前尚未见报道。本研究结果发现 TGF- β 1-800G/A GG、GA、AA 基因型及 G、A 等位基因频率在尘肺和对照组之间分布差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。将 GA 和 AA 两种基因型携带者归为 GA + AA 组, 两组之间比较, 亦未发现基因型频率的分布差异有统计学意义 ($P > 0.05$)。由此推测, TGF- β 1-800G/A 位点基因多态性对尘肺的发生发展不起直接作用。Sonja^[5]研究 TGF- β 1-800G/A 位点基因多态性与结肠癌的关系时发现, TGF- β 1-800G/A 位点基因多态性与结肠癌无关。国内又研究报道 TGF- β 1-800G/A 位点基因多态性与湖南地区汉族人群自发性脑出血无明显相关性^[6]。

综上所述, TGF- β 1-800G/A 位点基因多态性不足以导致尘肺患者血清 TGF- β 表达水平的变化, 在尘肺的易感性中不起主要作用。

参考文献:

- [1] Franck V, Alain M. Transforming growth factor- β and fibrosis [J]. World J Gastroenterol, 2007, 13 (22): 3056-3062.
- [2] Kim S J, Wagner S, Liu F, et al. Retinoblastoma gene-product activates expression of the human TGF- β gene through transcription factor ATF-2 [J]. Nature, 1995, 358: 331-334.
- [3] Holla L I, Fassmann A, Benes P, et al. Polymorphisms in the transforming growth factor-beta 1 gene (TGF-beta) in adult periodontitis [J]. J Clin Periodontol, 2002, 29 (4): 336-341.
- [4] Corbett E L, Mozzato N, Butterworth A E, et al. Polymorphisms in the tumor necrosis factor-alpha gene promoter may predispose to severe silicosis in black South African miners [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2002, 165 (5): 690-693.
- [5] Sonja I B, Wen Y H, Nilanjan C, et al. Transforming growth beta 1 (TGF- β 1) gene polymorphisms and risk of advanced colorectal adenoma [J]. Carcinogenesis, 2007, 28 (9): 1965-1970.
- [6] 李迪, 曾凯敏, 许宏伟, 等. TGF- β 1-800G/A 位点基因多态性与自发性脑出血的相关性研究 [J]. 医学临床研究, 2009, 6 (26): 1029-1031.