

煤矿工人 $ADRA2B$ 基因 Arg16Gly 多态性和倒班的交互作用与原发性高血压的关系

姚向晖¹, 范红敏¹, 王东¹, 宋士勋¹, 秦天榜², 郭素娟¹, 袁聚祥¹

摘要: [目的] 探讨 β_2 肾上腺素能受体(β_2 -AR) $ADRA2B$ 基因 Arg16Gly 多态性及与倒班的交互作用对原发性高血压发病的影响。[方法] 以某煤矿进行职业病健康检查的井下作业工人为研究对象, 采用成组病例对照研究方法。选择病例组 511 例, 对照组 456 例, 调查内容包括工人年龄、工龄、倒班、吸烟、饮酒情况等危险因素。采集血液标本, 分离淋巴细胞, 提取 DNA, 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术检测 $ADRA2B$ 基因 Arg16Gly 多态性。采用多因素 logistic 回归模型分析基因与倒班的交互作用对原发性高血压发病的影响。[结果] 病例组和对照组的 $ADRA2B$ 基因 Arg16Gly 位点 AA、AG、GG 基因型频率分别为 27.59% (141/511)、48.73% (249/511)、23.68% (121/511); 30.01% (137/456)、53.95% (246/456)、16.04% (73/456)。病例组中携带 A 和 G 等位基因的频率分别为 51.96%、48.04%; 对照组为 57.02%、42.98%。病例组、对照组基因型和等位基因分布差别皆有统计学意义($P < 0.05$)。两组倒班情况分布差异具有统计学意义($P < 0.05$)。在调整年龄、工龄、高血压家族史、食盐、食用水果、食用蔬菜、体质指数、体育锻炼等影响因素后, 携带 GG 基因型工人患原发性高血压 OR 是 AA 型的 1.702 倍(95%CI: 1.130~2.565); 携带 G 等位基因型患原发性高血压 OR 是 A 等位基因的 1.307 倍(95%CI: 1.104~1.972); 而倒班者患原发性高血压 OR 是不倒班者的 1.388 倍(95%CI: 1.049~1.835)。两者同时存在时对原发性高血压影响的交互作用无统计学意义($P > 0.05$)。[结论] $ADRA2B$ 基因 Arg16Gly 多态性可能是煤矿工人原发性高血压发生的易感因素, 但尚未发现倒班和 $ADRA2B$ 基因 Arg16Gly 多态性的交互作用与原发性高血压发生有关。

关键词: 原发性高血压; β_2 肾上腺素能受体; 基因多态性; 倒班; 交互作用

Interaction between Arg16Gly Polymorphism of *ADRA2B* Gene and Shift Work on Essential Hypertension among Coal Workers YAO Xiang-hui¹, FAN Hong-min¹, WANG Dong¹, SONG Shi-xun¹, QIN Tian-bang², GUO Su-juan¹, YUAN Ju-xiang¹ (1.School of Public Health, Hebei United University, Hebei 063000, China; 2.Kailuan Prevention and Treatment Center for Occupational Diseases, Hebei 063000, China). Address correspondence to YUAN Ju-xiang, E-mail: yuanjx@heuu.edu.cn; FAN Hong-min, E-mail: fhm01@sohu.com · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To explore the role of the interaction between Arg16Gly polymorphism of beta 2 adrenergic receptor (β_2 -AR) gene ($ADRA2B$) and shift work on essential hypertension (EH) occurrence. [Methods] A total of 511 patients with EH and 456 controls were selected from underground coal workers in a coal mine. Questionnaires were used to collect information on age, working years, shift work, smoking, drinking, et al. Blood specimens were collected to separate lymphocytes and extract DNA, and Arg16Gly polymorphism was detected with polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. The database was built with Epidata3.0 and statistically analyzed by SPSS13.0. A multivariate logistic regression analysis was performed to examine the impact of gene-shift work interaction on EH. [Results] Three genotypes (AA, AG, GG) were accounted for 27.59%, 48.73% and 23.68% in the EH group as well as 30.01%, 53.95% and 16.04% in the control group, respectively. The frequencies of A and G alleles were 51.96% and 48.04% in the EH group, and 57.02% and 42.98% in the control group. There were significant differences in distributions of both alleles and genotypes ($P < 0.05$). Significant differences were also found in the distribution of shift work between the EH groups and the controls ($P < 0.05$). After adjusted for age, working years, family history of hypertension, intake of salt, fruits, and vegetables, body mass index, and physical activities, the odds ratio (OR) of EH was 1.702 (95%CI: 1.130~2.565) for the participants with GG genotype versus those with AA genotype; the OR of EH was 1.307 (95%CI: 1.104~1.972) for the subjects with G allele versus those with A allele. Moreover, the shift-rotation workers also presented a higher risk of having EH

[基金项目]河北联合大学与加拿大渥太华大学流行病学教研室合作项目(编号: OV-2010-02)

[作者简介]姚向晖(1986—), 男, 硕士生; 研究方向: 职业流行病学; E-mail: yaoxianghui1@163.com

[通信作者]袁聚祥教授, E-mail: yuanjx@heuu.edu.cn; 范红敏教授, E-mail: fhm01@sohu.com

[作者单位]1.河北联合大学公共卫生学院, 河北 063000; 2.开滦职业病防治院, 河北 063000

than the workers without shift-rotation, with an *OR* of 1.388 (95%CI: 1.049-1.835). No association was found between the gene-shift work interactions and the EH prevalence. [Conclusion] Arg16Gly polymorphism of *ADRA2B* might be a crucial risk factor of EH among coal workers. There is no evidence indicating the interaction between β 2-AR gene polymorphism and shift work would contribute to EH.

Key Words: essential hypertension; beta 2 adrenergic receptors; gene polymorphism; shift work; interaction

原发性高血压(essential hypertension)是遗传因素与环境因素相互作用的结果,遗传因素约占40%。Arg16Gly是 $ADRA2B$ 基因最为常见的多态性位点。近几年国内外已经就 $ADRA2B$ 基因Arg16Gly多态性与原发性高血压关系做了一些研究,但所报道的结论并不一致。由于倒班定义尚没有明确标准,倒班与原发性高血压关系的研究结论也不一致。煤矿井下作业是一种高危职业,常年倒班对煤矿工人的生理、心理造成不同程度的影响。倒班可引起交感神经改变,交感神经系统的改变被认为是原发性高血压最重要的发病机制之一^[1]。因此,本研究拟以煤矿工人作为研究对象,探讨 $ADRA2B$ 基因Arg16Gly多态性、倒班及二者的交互作用对原发性高血压发生的影响,为煤矿工人高血压的预防提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

研究对象来源于2011年开滦集团某煤矿进行职业病健康检查的1489名井下作业工人。将其中高血压患者(排除继发性高血压患者)作为病例组,高血压诊断依据中国高血压防治指南(2010)^[2](收缩压 ≥ 140 mmHg,和(或)舒张压 ≥ 90 mmHg),同时结合研究对象的既往病史以及抗高血压药物的服用情况确诊高血压。对照组为采用相同诊断标准的非高血压患者。本研究采用成组病例对照研究,样本量估计为病例组和对照组各需242例。实际研究病例组511例,对照组456例。

1.2 现场调查

由经过统一培训的调查员采用统一的调查表对研究对象进行面对面调查。调查内容包括一般人口学资料、是否倒班及倒班方式(三班倒、四班三运转等)、工种等职业因素以及高血压家族史、个人行为习惯等。

1.3 血压测量

采用校正的台式汞柱血压计进行测量,取正坐位测量右上臂血压。测量前被测者至少安静休息5 min。分别由3个不同测量者进行测量,每次间隔2 min。选取平均值为被测者的血压值,如果两次血压测量值相差 >10 mmHg则重新测量。

1.4 指标定义

吸烟指每天至少吸1支,连续吸烟 ≥ 1 年。饮酒指每周至少饮2次,每次酒精摄入量至少50 g,连续饮用 ≥ 1 年。体质指数(BMI)依据世界卫生组织定义的亚洲人标准: BMI=体重(kg)/身高(m²); BMI<18.5为体重过轻,BMI 18.5~23.9为正常体重,BMI 24~27.9为超重,BMI ≥ 28 为肥胖。体育锻炼指每周的体育活动至少5 d,每次至少连续运动30 min。倒班的定义为目前正在从事倒班且持续倒班时间 >1 年。食盐的定义为每天摄入量 <6 g为喜淡,6~12 g为适中,>12 g为喜盐。食用水果蔬菜的定义为每周食用的频次, ≤ 2 次为较少,3~4次为经常, ≥ 5 次

为较多。

1.5 标本收集

经过受检者知情同意后,采集乙二胺四乙酸抗凝外周静脉血5 mL。沉淀物用低渗法分离白细胞,离心,置于低温冰箱(-80°C)保存,统一提取基因组DNA。

1.6 Arg16Gly基因多态性检测

采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术检测 $ADRA2B$ 基因Arg16Gly多态性。PCR扩增引物参照文献[3]报道,并与Gene Bank核对。上游引物: 5'-GCC TTC TTG CTG GCA CCC CAT-3'; 下游引物: 5'-CAG ACG CTC GAA CTT GGC CATG-3'。以上引物由上海博尚生物技术有限公司合成。PCR扩增采用20 μL体系,反应条件: 94°C预变性5 min; 94°C变性30 s, 59°C复性30 s, 72°C延伸40 s, 进行35个循环; 72°C延伸6 min。PCR扩增产物在限制性内切酶NcoI的作用下进行酶切,37°C水浴过夜,含溴化乙锭的2.0%琼脂糖凝胶电泳,120 V电泳40 min,紫外灯下观察扩增条带,确定基因型。基因型确定后,对每种基因型进行二次抽检,抽取10%进行重复检测,保证基因型的准确性。

1.7 统计分析

利用Epidata3.0建立数据库,以SPSS 13.0进行统计学处理。计算 $ADRA2B$ 基因Arg16Gly基因型和等位基因分布频率,采用 χ^2 检验分析基因型分布是否符合Hardy-Weinberg平衡定律。用非条件logistic多元回归模型,在调整年龄、工龄、食盐、食用水果、食用蔬菜、BMI、体育锻炼等影响因素后,分析 $ADRA2B$ 基因Arg16Gly多态性、倒班及二者的交互作用对原发性高血压发病的影响。交互作用 OR_{int} 采用单纯病例研究方法算出。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 研究对象的一般情况

本次研究对象均为男性,其中病例组511例,对照组456例。两组在年龄、工龄、高血压家族史、BMI、食盐、食用水果蔬菜的分布差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。而在吸烟、饮酒、婚姻状况和文化程度的分布比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

2.2 $ADRA2B$ 基因Arg16Gly多态性

$ADRA2B$ 基因Arg16Gly基因型分布符合Hardy-Weinberg平衡定律。病例组和对照组基因型和等位基因分布差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Logistic回归分析赋值见表2。结果显示,在调整年龄、工龄、家族史、倒班、食盐、食用水果蔬菜、BMI、体育锻炼等影响因素后,携带GG基因型的个体患原发性高血压的危险性是AA型的1.702倍(95%CI: 1.130~2.565)。携带G等位基因的个体患原发性高血压的危险性是携带A等位基因

表 5 煤矿工人倒班与基因间相乘模型交互作用对原发性高血压的影响

| 倒班 | 基因型 | 对照组 | 病例组 | OR(95%CI) | OR(95%CI) ^a | OR _{int} | P |
|-----|-----|-----|-----|--------------------|------------------------|-------------------|-------|
| 不倒班 | AA | 85 | 77 | 1.000 | 1.000 | | |
| 不倒班 | AG | 175 | 141 | 0.640(0.262~1.566) | 0.652(0.246~1.727) | | |
| 不倒班 | GG | 49 | 83 | 2.718(0.879~8.403) | 3.067(0.891~10.553) | | |
| 倒班 | AA | 52 | 64 | 1.359(0.842~2.192) | 1.187(0.705~1.997) | | |
| 倒班 | AG | 71 | 108 | 1.390(0.758~2.548) | 1.532(0.790~2.974) | 1.980 | >0.05 |
| 倒班 | GG | 24 | 38 | 0.688(0.314~1.507) | 0.669(0.283~1.585) | 0.184 | >0.05 |

[注]^a: 调整年龄、工龄、高血压家族史、食盐、食用水果、食用蔬菜、BMI、体育锻炼。

3 讨论

β_2 -AR 属于与 G 蛋白耦连的 7 次跨膜受体蛋白家族成员之一，具有 7 个跨膜区段（由 20~28 个疏水氨基酸构成 1 个 α 螺旋），3 个细胞外环和 3 个细胞内环构成 6 个环。 β_2 -AR 广泛分布于心肌细胞、支气管和血管平滑肌、脂肪细胞、神经系统以及肾脏组织中，交感神经兴奋作用于 β_2 -AR 使血管平滑肌扩张，支气管平滑肌松弛，从而调节机体的血液动力学平衡。 β_2 -AR 是交感神经系统的重要组成部分，主要通过调节血管反应性，肾上腺素的释放，水盐代谢等途径影响血压，而 β_2 -AR 的功能状态与其基因多态性又密切相关。

在 ADRB2 编码区及启动子区已经发现 67 个 SNPs，其中编码区有 9 个 SNP 位点，分别位于编码区第 46(N-端 Arg16Gly)、79(N-端 Gln27Glu)、100(N-端 Val34Met)、252、491(N-端 Thr164Tle)、523、1053、1098 和 1239 位，但并非所有位点改变均有研究意义，有些位点氨基酸改变与受体功能改变无关^[4]。目前研究报道中，以 16 位点精氨酸(Arg)被甘氨酸(Gly)及 27 位点谷氨酰胺(Gln)被谷氨酸(Glu)所替代最常见，它们与受体敏感性和血管紧张性有关^[5]。因此，本研究选择 Arg16Gly 位点进行研究。

ADRA2B 基因 Arg16Gly 基因型与原发性高血压的关系一直是高血压基因领域的研究热点。本次研究结果显示，GG 基因型、G 等位基因均与原发性高血压发病相关，与近年来国内外研究结果报道一致。例如国内研究发现 Arg16Gly 多态性是职业紧张高暴露男性行车人群原发性高血压发生的重要易感因素^[6]，国外许多研究均证实 G 等位基因与高血压或血压升高相关^[7~8]。但德国、瑞典等欧洲人群的研究结果表明：*ADRA2B* 基因 A 型等位基因与原发性高血压较高的血压水平存在相关性^[9~10]。而未发现该基因与原发性高血压之间存在相关性的报道同样涉及诸如南非黑人、美国非裔黑人等^[11~13]。以上研究说明了不同种族引起原发性高血压的基因基础存在一定差异。

倒班工作者夜班时处于心理活动、生理节奏的低潮期，白天睡眠又受白日生理活动高潮的破坏，缩短睡眠时间，影响食欲及消化功能，长期倒班可使生理节奏紊乱。但是倒班作为一种职业性心理社会因素，能否直接增加心血管病、代谢性疾病的发生危险，由于工时制度和工作负荷的不同，尚不能得到一致的结论。SFREDDO 等^[14]研究表明倒夜班并没有使血压水平增高。WANG 等^[15]认为倒班和高血压等慢性病之间也没有明确的关联性。而国内刘宝英等^[16]研究认为职业紧张因素能够引起血压的变化。同样是以煤矿工人为研究对象时，王东等^[17]认为

倒班可能是引起原发性高血压的危险因素。本研究以 967 名煤矿井下工人为研究对象，结果显示倒班工作发生原发性高血压的危险是固定班的 1.465 倍。调整年龄、工龄、家族史、食盐、食用水果蔬菜、BMI、体育锻炼等影响因素后，倒班者患原发性高血压的危险性仍然是不倒班者的 1.388 倍。本研究首次将 *ADRA2B* 基因 Arg16Gly 多态性与倒班进行交互作用分析，以 AA 基因型和不倒班为参照，结果未发现倒班与 *ADRA2B* 基因 Arg16Gly 基因型存在交互作用($P>0.05$)。在调整了年龄、工龄、BMI 等影响因素外，依然没有发现该基因与倒班之间存在交互作用。原因可能与原发性高血压是多基因和多环境因素共同作用的结果有关，尚需进一步研究探讨。

本研究对煤矿工人 *ADRA2B* 基因 Arg16Gly 多态性和倒班的交互作用与原发性高血压的关系进行了初步分析，由于原发性高血压受到多基因和多环境因素的共同作用，在今后工作中应选取多个候选基因和多种环境因素研究，严格控制偏倚和混杂因素的作用。

· 作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献：

- CARRASCO G A, Van de KAR L D, et al. Neuroendocrine pharmacology of stress [J]. Eur J Pharmacol, 2003, 463(1-3): 235-272.
- 刘力生.中国高血压防治指南 2010[J].中华高血压杂志, 2011, 19(8): 708-709.
- HERRMANN V, BUSCHER R, GO M M, et al. Beta2-adrenergic receptor polymorphism at codon16, cardiovascular phenotypes and essential hypertension in whites and African Americans [J]. Am J Hypertens, 2000, 13(9): 1021-1026.
- 楼煜清, 刘洁琳, 温绍君. β_2 肾上腺素能受体基因多态性与原发性高血压相关性研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2011, 13(2): 187-189.
- 王娜. β_2 -肾上腺素能受体多态性与高血压[J]. 国际心血管病杂志, 2006, 33(3): 79-81.
- 刘宝英, 周全, 钟萍, 等. 行车人员 β_2 肾上腺素能受体基因多态性及与职业精神紧张的交互作用对原发性高血压发生的影响[J]. 卫生研究, 2009, 38(4): 445-448.
- YU SF, ZHOU W H, JIANG K Y, et al. Job stress, gene polymorphism of beta2-AR, and prevalence of hypertension [J]. Biomed Environ Sci, 2008, 21(3): 239-246.

(下转第 456 页)

改善方面,尚未显现出效果。行为的改变是一个长期而复杂的过程,从人们接受信息到行为改变要经历一系列复杂的过程,其中信念的确立和态度的转变最为关键,只有全面掌握行为转变的复杂过程,及时做好教育与促进工作,才能达到行为改变的目的。许多资料也表明,只有持久的行为干预才能产生广泛的影响,进而使行为产生明显、稳定的改变^[3]。中小学生的许多不良行为受学校、家庭、社会等多种因素的影响,本次干预研究的时间较短,要培养中小学生稳定的良好行为习惯还需要较长时间的健康干预。

国内部分针对学生伤害干预的研究表明,通过开展以健康教育和安全促进为主的综合干预措施,有利于提高学生的伤害知识知晓情况和自我防范意识,可有效降低中小学生伤害发生率,效果明显^[4-5]。国外也有报道,类似的干预可使青少年伤害发生率明显下降^[6]。健康教育无疑被认为是一种低成本、高效率的干预手段。然而,也有学者认为,仅仅通过教育手段进行干预,形式较为单一,加之干预的时间较短,虽然干预效果立竿见影,但也容易故态复萌,尚不能充分说明干预措施的纯效果;因此认为至少需要持续3~5年的干预研究,然后通过时间序列法来确定干预措施的短期、中期和远期效果,进而为伤害干预提供充足证据^[6-7]。

目前广大中小学校虽已建立起学生伤害登记报告和报告制度,但伤害防制工作并未引起足够重视,校内意外伤害对学生的身心发育会造成巨大影响,直接影响学生的健康成长,甚至是目前我国14岁以下儿童的首位死因^[1],学生伤害问题应受到学校、教育及卫生部门等社会各界的高度关注和重视。学

校是一个很好的实施健康教育干预的环境,学生处在吸收知识和能力培养的良好时期,学校开展伤害预防的健康教育和健康促进对于预防学生伤害的作用是最容易实现也是效果最显著的途径。因此,我们建议在学校开设预防伤害的卫生课程,提高学生自我保护意识,增强自我防范能力,从而真正掌握一些基本的防范技能,切实预防伤害的发生。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献:

- [1]王声涌.伤害流行病学[M].北京:人民卫生出版社,2003: 349.
- [2]王向东,熊建菁,顾峥奕,等.上海市闸北区中小学生伤害流行病学分析[J].上海预防医学,2012, 24(4): 205-208.
- [3]季奎,余玉群,刘翼.医学生吸烟行为健康教育干预效果的研究[J].预防医学情报杂志,2001, 17(3): 186-187.
- [4]韩成星,王谦信,徐青华,等.常山县中小学生伤害干预效果评价[J].中国学校卫生,2004, 25(6): 747-748.
- [5]王洪波,黄晓霞.海淀区中小学生伤害干预效果的评价[J].现代预防医学,2006, 233(12): 2408, 2413.
- [6]PRESSLEY JC, BARLOW B, DURKIN M, et al. A national program for injury prevention in children and adolescents: the injury free coalition for kids[J]. J Urban Health, 2005, 82(3): 389-402.
- [7]方乐,姜宝法.中小学生伤害干预效果的Meta分析[J].中国学校卫生,2007, 28(6): 538-539.

(收稿日期: 2013-02-06)

(英文编审: 金克峙; 编辑: 汪源; 校对: 王晓宇)

(上接第453页)

- [8]MISONO M, MAEDA S, IEMITSU M, et al. Combination of polymorphisms in the beta2-adrenergic receptor and nitric oxide synthase 3 genes increases the risk for hypertension[J]. J Hypertens, 2009, 27(7): 1377-1383.
- [9]BENGTSSON K, ORHO-MELANDER M, MELANDER O, et al. Beta(2)-adrenergic receptor gene variation and hypertension in subjects with type 2 diabetes[J]. Hypertension, 2001, 37(5): 1303-1308.
- [10]BUSJAHN A, LI GH, FAULHABER HD, et al. Beta-2 adrenergic receptor gene variations, blood pressure, and heart size in normal twins[J]. Hypertension, 2000, 35(2): 555-560.
- [11]CANDY G, SAMANI N, NORTON G, et al. Association analysis of beta2 adrenoceptor polymorphisms with hypertension in a Black African population[J]. J Hypertens, 2000, 18(2): 167-172.
- [12]HERRMANN SM, NICHAUD V, TIRET L, et al. Polymorphisms of the beta2-adrenoceptor gene and essential hypertension: the ECTIM and PEGASE studies[J]. J Hypertens, 2002, 20(2): 229-235.
- [13]GJESING AP, ANDERSEN G, BURGDORF KS, et al. Studies of the associations between functional beta2-adrenergic receptor variants and obesity, hypertension and type 2 diabetes in 7,808 white subjects[J]. Diabetologia, 2007, 50(3): 563-568.
- [14]SFREDDO C, FUCHS SC, MERLO AR, et al. Shift work is not associated with high blood pressure or prevalence of hypertension[J]. PLoS One, 2010, 5(12): 45-50.
- [15]WANG XS, ARMSTRONG ME, CAIRNS BJ, et al. Shift work and chronic disease: the epidemiological evidence[J]. Occup Med, 2011, 61(2): 78-89.
- [16]刘宝英,张文昌,任南,等.职业紧张与高血压发病以及血压值关系的研究[J].中华劳动卫生职业病杂志,2002, 20(5): 379-380.
- [17]王东,袁聚祥,冯福民,等. ACE基因多态性与煤矿井下工人原发性高血压的关系[J].中国工业医学杂志,2012, 25(3): 197-199.

(收稿日期: 2012-12-18)

(英文编审: 金克峙; 编辑: 王晓宇; 校对: 张晶)