

5-HTTLPR基因多态性与职业人群失眠易感性研究

杨玉娟, 崔方方, 石婷, 杨跃林, 兰亚佳, 王永伟[△]

四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院 环境卫生与职业医学系(成都 610041)

【摘要】目的 通过5-羟色胺转运体基因连锁多态性区域(5-HTTLPR)基因多态性与失眠的相关性分析,探讨失眠的易感性基因,为职业人群的失眠干预提供理论依据。**方法** 根据失眠调查问卷(AIS-5)测定情况,按照病例对照设计,选取失眠组177例(病例组)与非失眠组285例(对照组),共计462例研究对象,采用聚合酶链反应(PCR)测定技术分析研究对象的5-HTTLPR基因型,同时收集研究对象的人口学、生活习惯、职业特征等信息,分析5-HTTLPR基因多态性与失眠易感相关性及其风险。**结果** 失眠组5-HTTLPR的S等位基因分布频率(95.5%)高于非失眠组(87.0%)($P<0.01$);基因型组间AIS-5得分比较:SS组>SL组>LL组($P<0.05$);调整年龄、接触有害因素工龄及婚姻状况等混杂因素后的logistic回归显示,S基因型个体发生失眠风险是L基因型个体的1.750倍(95%置信区间:1.246~2.444)。**结论** 5-HTTLPR基因多态性与职业人群的失眠易感相关,且S等位基因个体是失眠发生的易感人群。

【关键词】 5-HTTLPR 基因多态性 失眠 易感性

随着全球经济的高速发展,劳动类型与作业方式的转变,失眠群体呈逐年增加的趋势,职业人群失眠发生率为23.6%~28.3%^[1-2],糕点生产工人中短暂睡眠者(每晚睡眠不足5h)高达78.8%^[3]。长期的睡眠障碍是导致慢性疲劳综合征、高血压、冠心病、糖尿病的重要原因之一^[4-5]。失眠成为职业人群普遍流行的公共卫生问题,威胁着职业人群的身心健康。职业人群失眠的发生可能是环境暴露(紧张暴露)与遗传因素共同作用的结果。其中,遗传因素中5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)与包括睡眠在内的行为和生理过程调节有关^[6],其转运体(5-HT transporter, 5-HTT)是5-HT活性的重要调节因子,与失眠的发生存在潜在高度相关^[7],5-羟色胺转运体基因连锁多态性区域(5-HTT gene-linked polymorphic region, 5-HTTLPR)通过对5-HTT转录调控,调控5-HTT编码与表达,对失眠和睡眠质量产生影响^[8-9]。面对职业人群失眠的高发现状,5-HTTLPR基因多态性在职业人群失眠发生中的作用方式与机理尚不清楚,限制了职业人群失眠发生机制的阐释与工作场所职业人群失眠的干预计划。本研究旨在探讨5-HTTLPR基因多态性与职业人群失眠易感性的关系,为职业人群失眠发生机制的阐释与工作场所职业人群失眠干预计划的制定提供科学依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本研究对象来自在四川大学华西第四医院进行职业健康检查的工业企业一线职工,分布于14家中小企业,包括5家电子行业、1家生物制品行业、3家电器制造行业和5家建材行业。采用随机抽样的方式,抽取500例工人进

行失眠调查问卷测定。测定工具为国际通用的失眠调查问卷(Athens insomnia scale-5, AIS-5),该问卷量表主要有5个问题,每个问题答案分为:没问题、轻微、显著、严重4个等级,4个等级依次给0~3分。最终得分(每个问题得分相加)0分:无睡眠障碍;1~2分:可疑失眠;≥3分:失眠。

纳入标准:①工业企业一线在职职工;②年龄≥20周岁;③完成AIS-5量表。排除标准:①合并其他精神疾病者;②药物所致失眠或近1个月内使用过抗焦虑、抗抑郁、抗精神病性药物;③合并严重心脑血管、消化系统、造血系统等原发性疾病者;④妊娠或哺乳期女性。根据纳入、排除标准,并结合失眠测定信息的完整性,剔除38例,最终纳入462例研究对象。根据失眠判定标准,分为失眠组177例,非失眠组285例(含可疑失眠者)。

本研究经过四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院医学伦理委员会批准,相关资料的收集遵循知情同意原则。

1.2 研究方法

1.2.1 人口学资料、生活习惯与职业特征 采用询问和填写职业健康体检表的方式获得研究对象的人口学资料、生活习惯与职业特征,包括:年龄、工龄、性别、接触有害因素(暴露于某种职业有害因素)、接触有害因素工龄、倒班制度、锻炼习惯、吸烟饮酒习惯及与家人同住情况等。

1.2.2 血样收集 由专业技师按照临床采血要求完成血样的采集。用75%的酒精在研究对象左臂采血部位由内向外消毒2~3次,使用一次性注射器采血2 mL,保存于-80℃冰箱中。

1.2.3 5-HTTLPR基因型分析 ①采用TINmP DNA提取试剂盒[购于天根生化科技(北京)有限公司]提取基因组

[△] 通信作者, E-mail: wangyw_1980@sina.com

DNA, 严格按照试剂盒说明书进行操作。②根据5-*HTTLPR*的基因序列和突变热点区域情况合成特异性引物为^[1]: 上游引物(Forward): 5'-ATG CCA GCA CCT AAC CCC TAA TGT-3'; 下游引物(Reverse): 5'-GGA CCG CAA GGT GGG CGG GA-3'; 引物委托Invitrogen Trading (Shanghai)Co.Ltd.合成。③PCR扩增。0.5 mL EP管依次加入12.5 μ L的2 \times Taq Master Mix、3.0 μ L上游引物、3.0 μ L下游引物、2.0 μ L模板和8.9 μ L RNase-free Water, 每次加入各试剂后, 短暂离心混匀; 放入PCR扩增仪[S1000 Thermal Cycle PCR仪(美国BIO-RAD公司)], 于95 $^{\circ}$ C预变性2 min; 94 $^{\circ}$ C变性30 s, 54 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸60 s, 循环35次后, 再于72 $^{\circ}$ C延伸7 min; 反应结束后, 经10 g/L琼脂糖凝胶电泳检测PCR扩增情况, 凝胶成像分析仪进行分析, 保存图像。④5-*HTTLPR*扩增产物分型后产生3种基因型: S/S、L/L和S/L^[2]。

1.3 质量控制

仔细核查每一份调查问卷, 对填写有误和漏填较多的问卷及时补充或者剔除; 资料录入前量化数据, 固定人员进行双录入。对DNA抽提及PCR分析过程中所用器具进行彻底清洗, 高温消毒, 避免外界污染和交叉污染; 在PCR分析过程中严格区分污染区和清洁区, 以防扩增产物与DNA液的交叉污染。

1.4 统计学方法

将收集的调查问卷和实验室检测结果整理后, 采用EpiData软件录入建立数据库。计量资料的组间差异比较采用 t/U 检验, 分类资料组间差异比较采用 χ^2 检验或确切概率法, 采用多因素logistic回归分析失眠与5-*HTTLPR*基因多态性的关系。 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 一般情况

462例工人年龄为(33.7 \pm 8.6)岁, 工龄为(9.1 \pm 8.5)年, 接害工龄(8.0 \pm 7.5)年。失眠组与非失眠组在性别、经常锻炼、接害因素及倒班制度的构成上差异有统计学意义(P 均 <0.05), 年龄[非失眠组:(33.8 \pm 9.1)岁, 失眠组:(33.6 \pm 7.7)岁]、饮酒等因素的构成基本一致(P 均 >0.05), 见表1。

2.2 5-*HTTLPR*基因分型结果

PCR结果显示(图1), S/S型基因扩增片段大小为376 bp、L/L型基因扩增片段大小为419 bp、S/L基因扩增片段大小为376 bp和419 bp; S/S基因型240例(52.0%), S/L基因型177例(38.3%), L/L基因型45例(9.7%), S和L的等位基因频率分别为71.1%和28.9%。根据频数分布拟合优度的 χ^2 检验, 研究对象5-*HTTLPR*基因型实际频数和理论频数

表 1 失眠组与非失眠组人口学、生活习惯及职业特征分布情况

指标	合计/例数	非失眠组($n=285$)/例数(%)	失眠组($n=177$)/例数(%)	P
性别				<0.001
男	278	201(70.5)	77(43.5)	
女	184	84(29.5)	100(56.5)	
饮酒				0.386
否	342	207(72.6)	135(76.3)	
是	120	78(27.4)	42(23.7)	
吸烟				0.224
否	300	179(62.8)	121(68.4)	
是	162	106(37.2)	56(31.6)	
经常锻炼				<0.001
否	312	171(60.0)	141(79.7)	
是	150	114(40.0)	36(20.3)	
与家人同住				0.840
否	133	83(29.1)	50(28.2)	
是	329	202(70.9)	127(71.8)	
婚姻状况				0.623
已婚	400	245(86.0)	155(87.6)	
未婚	62	40(14.0)	22(12.4)	
接害因素				<0.001
噪声	81	55(19.3)	26(14.7)	
噪声+粉尘	104	39(13.7)	65(36.7)	
化学毒物	216	147(51.6)	69(39.0)	
电磁辐射	36	25(8.8)	11(6.2)	
噪声+高温	25	19(6.7)	6(3.4)	
倒班制度				<0.001
常白班	275	187(65.6)	88(49.7)	
一班倒	18	12(4.2)	6(3.4)	
二班倒	97	56(19.6)	41(23.2)	
三班两倒	17	13(4.6)	4(2.3)	
四班三倒	51	15(5.3)	36(20.3)	
其他倒班	4	2(0.7)	2(1.1)	

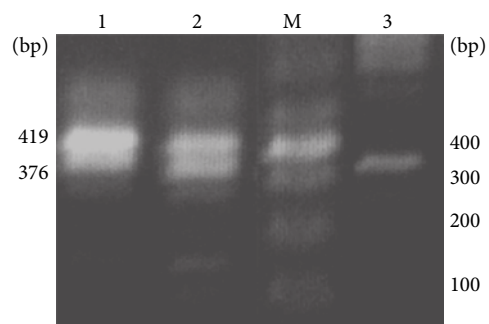


图 1 5-*HTTLPR*基因型及等位基因琼脂糖凝胶电泳图

1: L/L基因型; 2: S/L基因型; M: Marker; 3: S/S基因型

的分布差异无统计学意义($\chi^2 = 1.019, P = 0.601$),符合遗传学的Hardy-Weinberg平衡。

2.3 5-HTTLPR基因多态性与失眠的关系

失眠组的S等位基因(将S/L基因型计算为S等位基因)分布频率(95.5%, 169/177)高于非失眠组(87.0%, 248/285)($\chi^2 = 8.895, P < 0.01$)。基因型组AIS-5得分比较: SS组>SL组>LL组(P 均<0.05);且性别分层后,基因型组间AIS-5得分仍有差异($P < 0.05$),见表2。

表2 5-HTTLPR基因型间AIS-5得分比较($\bar{x} \pm s$)

基因型	n	AIS-5得分		
		合计	男性	女性
SS	240	3.2±1.6	2.3±2.6	4.1±3.2
SL	177	2.3±2.7	2.3±2.9	2.3±2.2
LL	45	1.5±1.6	0.9±1.0	2.4±2.0
P		<0.001	0.028	<0.001

2.4 失眠影响因素的logistic回归分析

变量赋值如表3所示。由表4可见,控制年龄、接触有害因素工龄及婚姻状况等因素后,结果显示:S基因型个体发生失眠的风险是L基因型个体的1.750倍[95%置信区间(CI): 1.246 ~ 2.444];女性发生失眠的风险是男性的3.657倍(95%CI: 2.307 ~ 5.796);倒班工人发生失眠的风险是常白班工人的1.393倍(95%CI: 1.200 ~ 1.617);经常锻炼者失眠发生的风险是不经常锻炼者的0.477倍(95%CI: 0.297 ~ 0.768);只接触噪声者发生失眠的风险是接触两种或以上有害因素者的0.750倍(95%CI: 0.605 ~ 0.930)。

表3 变量赋值说明

变量	赋值说明
失眠分组	1=失眠组, 2=非失眠组
5-HTTLPR基因	1=L基因型(LL基因型), 2=S基因型(SS基因型和SL基因型)
年龄/岁	连续型变量
性别	1=男, 2=女
婚姻状况	1=未婚, 2=已婚
工龄/年	连续型变量
接害工龄/年	连续型变量(暴露于有害物质的工龄)
接触有害因素	1=2种因素(噪声+粉尘, 化学毒物, 噪声+高温, 电磁辐射), 2=噪声
倒班制度	1=常白班, 2=倒班
经常锻炼	1=否, 2=是
吸烟	1=不吸烟, 2=吸烟
饮酒	1=不饮酒, 2=饮酒
与家人同住	1=否, 2=是

表4 失眠影响因素的多元logistic回归分析

条目	β	P	OR	95%CI
常量	-2.671	0.033	0.069	-
5-HTTLPR基因(S基因型)	0.557	0.001	1.750	1.246 ~ 2.444
年龄	-0.006	0.743	0.994	0.956 ~ 1.033
性别(女)	1.297	<0.001	3.657	2.307 ~ 5.796
婚姻状况	-0.235	0.518	0.791	0.388 ~ 1.611
工龄	0.027	0.303	1.028	0.976 ~ 1.083
接害工龄	-0.016	0.552	0.984	0.932 ~ 1.038
接触有害因素(噪声)	-0.288	0.009	0.750	0.605 ~ 0.930
倒班制度(倒班)	0.331	0.000	1.393	1.200 ~ 1.617
经常锻炼(是)	-0.739	0.002	0.477	0.297 ~ 0.768
吸烟	0.017	0.948	1.017	0.607 ~ 1.706
饮酒	0.096	0.735	1.101	0.631 ~ 1.920
与家人同住	0.110	0.647	1.117	0.696 ~ 1.791

β : 偏回归系数; OR: 比值比; CI: 置信区间

3 讨论

本研究按照病例对照的原理进行设计,病例组(失眠)与对照组(非失眠)是在随机抽取的500例一线在职职工前期失眠测定结果(AIS-5得分)后确定,然后再回访调查两组基本信息与易感基因测定分析。参考以往类似失眠易感性研究样本^[10-11](横断面调查与病例对照研究样本低于400人),预调查样本按照14家企业总人群的30%进行随机抽取,代表了被抽样人群,且最终确定所需的分析样本为462人,本研究满足统计分析的要求。

本研究中,SS基因型分布频率为52.0%,SL基因型为38.3%,LL基因型为9.7%,S和L的等位基因频率分别为71.1%和28.9%,这与已报道的中国汉族人群5-HTTLPR基因频率分布相似^[12-13],但S基因纯合子分布频率高于欧洲和美洲人群^[2,9],这可能是研究对象的种族差异所致。

本研究提示,失眠组5-HTTLPR的S等位基因分布频率明显高于非失眠组,与DEUSCHLE等^[8]对5-HTTLPR的S等位基因与原发性失眠的关系研究结果类似,其结果显示S等位基因在原发性失眠患者中更为普遍。BRUMMETT等^[7]的研究也显示,与L等位基因相比,S等位基因与环境的交互作用对睡眠影响更大。国内对重症抑郁症患者的研究表明,具有S等位基因的抑郁症患者更易伴发睡眠障碍^[14]。上述研究结果均提示5-HTTLPR的S等位基因与失眠的关系密切。随后的分析也发现,AIS-5得分:SS组>SL组>LL组(P 均<0.05);S基因型个体发生失眠的风险是L基因型个体的1.750倍(95%CI: 1.246 ~ 2.444),表明5-HTTLPR基因多态性与失眠有直接的联系,S等位基因

是失眠发生的易感基因^[8]。此外, 5-HTTLPR与下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)系统的反应有关, 且S等位基因相对于L等位基因携带者具有更强的HPA反应活性^[15]。但也有研究提示5-HTTLPR等位基因变异与主观睡眠质量的关系存在不确定性^[16], 在环境因素如职业紧张的暴露下, S等位基因的效应更为明显^[7, 17], 睡眠质量的变化可能是压力敏感性和相关情感障碍基因差异的混杂因素^[15], 工作相关的身体疲劳和肌肉骨骼疼痛也是失眠发生的重要风险因素^[18], 因此需要进一步的大样本前瞻性研究去验证本研究的结论。

本研究还提示女性、倒班是职业人群失眠发生的风险因素, 而经常锻炼则是失眠发生的保护性因素, 这与既往研究显示的失眠发生风险因素——女性^[19]、倒班^[20-21]、生活习惯^[22]等一致。此外, 长期噪声暴露下个体易出现焦虑、抑郁等不良心理现象, 甚至影响睡眠质量^[23-24], 此次研究结果虽提示, 相对于接触多种有害因素者, 只接触噪声者失眠的风险较小, 但接触多种有害因素的联合作用机制有待进一步研究。因此, 可以预测, 对女性职业人群的失眠干预应根据女性心理和生理的差异来针对性制定; 在性别固定的情况下, 可通过调整倒班制度来降低职业人群失眠的发生; 同时鼓励职工积极参与经常性锻炼, 缓解因工作带来的失眠发生风险。

本研究尚存不足: 首先, 本研究是在中小企业职业人群中抽样, 只代表中小企业职业人群, 对整个职业人群的代表性不确定, 如大型企业职业人群基数大, 今后的研究应该增大样本量, 提高样本的代表性。其次, 分析过程中由于没有充分理由将可疑失眠者排除, 且研究对象可能因为回答信息偏倚, 不失眠的潜在可能性较大, 而且人数较少, 为更准确将失眠组框定, 所以将可疑失眠者纳入非失眠组, 这种分析策略可能对研究结果产生一定的影响, 但若归为失眠组, 存在对研究结果高估的风险, 未来随着研究样本的增大, 应考虑单列一组进行比较分析为佳。最后, 此次研究未曾分析焦虑、抑郁对失眠的影响, 情绪状况对失眠有着重要影响, 这将是今后研究的一个方向。

综上, 本研究结果显示5-HTTLPR基因多态性与职业人群的失眠易感相关, 且S等位基因个体是失眠发生的易感人群, 这为职业人群失眠发生机制的阐释与工作场所职业人群失眠干预计划的制定提供了科学依据。本研究在样本的选取等存在一定的局限性, 将来在该领域应进一步开展大样本队列研究。

参 考 文 献

- [1] BUYASSE D J. Insomnia. *JAMA*, 2013, 309(7): 706-716.
- [2] MINELLI A, BONVICINI C, SCASSELLATI C, *et al*. The influence of psychiatric screening in healthy populations selection: a new study and meta-analysis of functional 5-HTTLPR and rs25531 polymorphisms and anxiety-related personality traits. *BMC Psychiatry*, 2011, 11: 50[2019-11-04]. <https://bmcp psychiatry.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-244X-11-50>. doi: 10.1186/1471-244X-11-50.
- [3] EMILIE P, PASCAL G, FABIEN S, *et al*. Shift work, night work and sleep disorders among pastry cooks and shopkeepers in France: a cross-sectional survey. *BMJ Open*, 2018, 8(5): e019098[2019-11-04]. <https://bmjopen.bmj.com/content/8/5/e019098.long>. doi: 10.1136/bmjopen-2017-019098.
- [4] DENG N, KOHN T P, LIPSHULTZ L I, *et al*. The relationship between shift work and men's health. *Sex Med Rev*, 2018, 6(3): 446-456.
- [5] JARRIN D C, ALVARO P K, BOUCHARD M A, *et al*. Insomnia and hypertension: a systematic review. *Sleep Med Rev*, 2018, 41: 3-38.
- [6] MONTI J M. Serotonin control of sleep-wake behavior. *Sleep Med Rev*, 2011, 15(4): 269-281.
- [7] BRUMMETT B H, KRYSTAL A D, ASHLEYKOCH A, *et al*. Sleep quality varies as a function of 5-HTTLPR genotype and stress. *Psychosom Med*, 2007, 69(7): 621-624.
- [8] DEUSCHLE M, SCHREDL M, SCHILLING C, *et al*. Association between a serotonin transporter length polymorphism and primary insomnia. *Sleep*, 2010, 33(3): 343-347.
- [9] BARCLAY N L, ELEY T C, MILL J, *et al*. Sleep quality and diurnal preference in a sample of young adults: associations with 5HTTLPR, PER3, and CLOCK 3111. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2011, 156B(6): 681-690.
- [10] 廖静萍, 朱仕超, 张麒, 等. 反常失眠症人格特征的病例对照研究. *中南大学学报(医学版)*, 2017, 42(8): 958-965.
- [11] 胡义秋, 刘双金, 朱翠英, 等. clock基因rs3817444多态性与大学生抑郁症、原发性失眠的关联分析. *中国临床心理学杂志*, 2015, 23(3): 435-438.
- [12] 黎雪梅, 况利, 艾明. 5-羟色胺转运体基因第二内含子及启动子区多态性与自杀未遂的关联分析. *重庆医科大学学报*, 2010, 35(4): 568-571.
- [13] 李樱, 肖泽萍, 禹顺英, 等. 5-羟色胺转运体基因功能性多态与强迫症的关联研究. *中华精神科杂志*, 2009, 42(4): 215-219.
- [14] 张莉, 徐勇, 孙燕, 等. 5-羟色胺转运体基因多态性与抑郁症睡眠障碍数量性状的相关研究. *中国神经精神疾病杂志*, 2009, 35(4): 234-237.
- [15] VAN DALFSEN J H, MARKUS C R. The serotonin transporter polymorphism (5-HTTLPR) and cortisol stress responsiveness: preliminary evidence for a modulating role for sleep quality. *Stress*, 2018, 21(6): 503-510.
- [16] HARTMANN J A, WICHERS M, VAN BEMMEL A L, *et al*. The serotonin transporter 5-HTTLPR polymorphism in the association between sleep quality and affect. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2014, 24(7): 1086-1090.
- [17] DAVIS M, THOMASSIN K, BILMS J, *et al*. Preschoolers' genetic, physiological, and behavioral sensitivity factors moderate links between

- parenting stress and child internalizing, externalizing, and sleep problems. *Dev Psychobiol*, 2017, 59(4): 473-485.
- [18] SKARPSNO E S, NILSEN T I L, SAND T, *et al.* Physical work exposure, chronic musculoskeletal pain and risk of insomnia: longitudinal data from the HUNT study, Norway. *Occup Environ Med*, 2018, 75(6): 421-426.
- [19] SUTTON D A, MOLDOFSKY H, BADLEY E M. Insomnia and health problems in Canadians. *Sleep*, 2001, 24(6): 665-670.
- [20] KIM K, UCHIYAMA M, OKAWA M, *et al.* An epidemiological study of insomnia among the Japanese general population. *Sleep*, 2000, 23(1): 41-47.
- [21] 黄凤兰, 杨跃林, 王永伟, 等. 职业紧张对中小企业职业人群失眠影响的研究. *预防医学情报杂志*, 2015, 31(9): 679-684.
- [22] ELMASRY A, JANSON C, BOMAN G, *et al.* Insomnia in men-a 10-year prospective population based study. *Sleep*, 2001, 24(4): 425-430.
- [23] 张素华, 刘淑芬. 噪声对非听觉系统的影响. *职业卫生与应急救援*, 2006, 24(3): 139-140.
- [24] 贾丽. 机场噪声对受体行为、神经递质及神经组织形态影响研究. 杭州: 浙江大学, 2010.
- (2019-05-27 收稿, 2019-11-18 修回)
编辑 余琳

本 刊 征 稿 启 事

《四川大学学报(医学版)》(原《华西医科大学学报》)是中文核心期刊, 曾荣获全国优秀科技期刊一等奖, 首届国家期刊奖提名奖, 第二、三届全国期刊奖百种重点期刊, 四川省十佳科技期刊称号和第一、二、三、四、五届中国高校精品科技期刊奖, 2016年度中国高校百佳科技期刊, 2016中国国际影响力优秀学术期刊。本刊被中国科学引文数据库(CSCD)、北京大学图书馆中文核心期刊要目总览(北大核心/中文核心)、中国科技论文与引文数据库(CSTPCD)(科技核心)、美国PubMed《医学索引》(IM/MEDLINE)、Scopus等收录。

为了更好地开展国内外学术交流, 促进医药卫生事业的发展, 凡符合编辑部稿件要求(见每卷末期稿约), 均可向本刊投稿。凡属于国家自然科学基金及其他部省级以上科研基金资助的来稿, 编辑部将适当地给予优先。

本刊在线投稿网址: <http://ykxb.scu.edu.cn/>

地址: 四川省成都市人民南路三段17号《四川大学学报(医学版)》编辑部

邮政编码: 610041

电话/传真: (028)85501320

E-mail: scuxbyxb@scu.edu.cn

四川大学学报(医学版)编辑部