

粘蛋白 - 5B 基因多态性与煤工尘肺发病风险的相关性研究

杨力¹, 邓豪², 陈洪云¹, 吴玛莉³, 李军¹, 张涛^{1,2}

1. 贵州医科大学公共卫生与健康学院, 环境污染与疾病监控教育部重点实验室, 贵州 贵阳 561113;

2. 贵阳市公共卫生救治中心职业病科; 3. 贵州中医药大学基础医学院形态学实验室

摘要:目的 探讨粘蛋白 - 5B (MUC5B) 基因表达及其位点多态性 rs2075853、rs4963059 和 rs2014486 与煤工尘肺相关性。方法 通过对 2020 年 2 月—2023 年 10 月贵阳市公共卫生救治中心 506 名受检者(包括 143 名健康对象、132 名接尘工人、121 名煤工尘肺壹期患者和 110 名煤工尘肺贰期患者)的研究,分析各组间年龄、工龄,采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)评估基因表达水平,绘制受试者工作特征曲线(ROC),计算 ROC 曲线下面积(AUC)以评估 MUC5B 对煤工尘肺的预测价值,通过 MassARRAY Analyzer 质谱仪对 MUC5B rs2075853、rs4963059、rs2014486 进行基因分型,分析三个单核苷酸多态性(SNPs)基因型分布频率与煤工尘肺发病风险的关联。结果 研究对象对年龄($H = 242.198, P < 0.001$)、工龄($H = 315.822, P < 0.001$) 在四组间差异均有统计学意义。煤工尘肺壹期组与煤工尘肺贰期组 MUC5B 表达量减少,与健康组及接尘组有显著性差异($H = 34.491, P < 0.001$),ROC 曲线分析表明 MUC5B 可作为煤工尘肺辅助诊断指标(AUC = 0.755, 95% CI: 0.682 ~ 0.828, $P < 0.001$)。此外,单体型分析发现 rs4963059 和 rs2014486 位点构建的 CG 单体型在煤工尘肺患者中出现频率较高,显示出了明显的差异(风险比 OR = 1.719, 95% CI: 1.074 ~ 2.751, $\chi^2 = 5.201, P < 0.05$),暗示了由 rs4963059 和 rs2014486 位点构建的 CG 单体型与煤工尘肺风险增加有关。结论 MUC5B 基因 rs4963059、rs2014486 构建的 CG 单体型与煤工尘肺发病风险密切相关。

关键词:煤工尘肺;粘蛋白 - 5B (MUC5B);基因多态性;单核苷酸多态性(SNP);早期筛查

中图分类号:R135.2 文献标志码:A 文章编号:1003-8507(2024)24-4459-06

DOI:10.20043/j.cnki.MPM.202406436

Study on the association between Mucin - 5B gene polymorphism and the risk of coal workers' pneumoconiosis

YANG Li*, DENG Hao, CHEN Hong-yun, WU Ma-li, LI Jun, ZHANG Tao

* School of Public Health, the Key Laboratory of Environmental Pollution Monitoring and Disease Control, Ministry of Education, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 561113, China

Abstract: Objective To investigate the association between the expression of mucin - 5B (MUC5B) gene and its locus polymorphisms rs2075853, rs4963053, and rs2014486 with coal worker's pneumoconiosis (CWP). **Methods** The study analyzed age and years of service from 506 subjects (comprising 143 healthy individuals, 132 dust-exposed workers, 121 stage I CWP patients, and 110 stage II CWP patients) collected at the Guiyang City Public Health and Medical Center from February 2020 to October 2023. Gene expression levels were assessed using real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR). Receiver operating characteristic (ROC) curves were plotted, and the area under the ROC curve (AUC) was calculated to evaluate the predictive value of MUC5B for CWP. Genotyping of MUC5B rs2075853, rs4963059, and rs2014486 was performed using a MassARRAY Analyzer, and the association between the three single nucleotide polymorphisms (SNPs) genotypes' distribution frequency and the risk of CWP was analyzed. **Results** Significant statistical differences were observed among the groups in terms of age ($H = 242.198, P < 0.001$), years of service ($H = 315.822, P < 0.001$). Expression levels of MUC5B were significantly reduced in stage I and II CWP patients compared to the healthy and dust-exposed groups ($H = 34.491, P < 0.001$). ROC curve analysis indicated that MUC5B could serve as an auxiliary diagnostic marker for CWP (AUC = 0.755, 95% CI: 0.682 - 0.828, $P < 0.001$). Furthermore, haplotype analysis revealed that the CG haplotype constructed from rs4963059 and rs2014486 was more frequent in CWP patients, showing a significant association (odds ratio

基金项目:贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2020]4Y152号)、贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2021]一般433)

作者简介:杨力(1998—),女,硕士在读,研究方向:疾病预防与控制

通信作者:张涛, E-mail:51027988@qq.com

$OR = 1.719$, 95% CI : 1.074 - 2.751, $\chi^2 = 5.201$, $P < 0.05$), suggesting that the CG haplotype constructed by rs4963059 and rs2014486 loci was associated with an increased risk of coal workers' pneumoconiosis. **Conclusion** The CG haplotype constructed by MUC5B gene rs4963059 and rs2014486 is closely related to the risk of developing coal workers' pneumoconiosis.

Keywords: Coal workers' pneumoconiosis; Mucin 5B (MUC5B); Gene polymorphism; Single nucleotide polymorphisms (SNP); Early screening

2009 年至 2021 年,我国职业病发病人数中尘肺病比例居首。在贵州省,尘肺病是农民工面临的主要职业健康问题,而煤炭产业是该病症影响最为严重的领域之一^[1]。尽管实施了防治措施,但每年新诊断病例数量仍然居高不下。煤工尘肺 (coal workers' pneumoconiosis, CWP) 是由长期吸入煤尘中无机矿物性粉尘引起,与煤尘暴露时间和浓度密切相关。煤工尘肺危害大且病程不可逆,当前缺乏特定的早期警示和诊断标准,目前其诊断依赖于高千伏胸片,但影像学证实的肺部纤维化症状出现时,患者的肺功能已遭不同程度损害,严重者可能出现呼吸功能丧失甚至呼吸衰竭^[2]。

煤工尘肺发病机制尚不明确,当前研究认为,煤尘颗粒反复刺激肺组织后产生严重的炎症反应,这种促炎环境会诱发肺间质内成纤维细胞的过度增殖,导致细胞外基质中胶原蛋白过度积累,最终导致弥漫性肺纤维化^[3]。粘蛋白-5B (mucin 5B, MUC5B) 是哺乳动物气道中的一种主要分泌性粘蛋白^[4-5],研究表明,缺乏 MUC5B 的小鼠模型中,巨噬细胞的吞噬能力大幅下降^[6],提示 MUC5B 在控制炎症和维持免疫平衡中发挥作用,在小鼠的慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 模型中发现,敲除 MUC5B 的小鼠中相关炎症因子如白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 明显增加,这表明 MUC5B 能通过调节巨噬细胞功能降低肺部炎症^[7]。同时, MUC5B 的表达量在 COPD、囊性纤维化 (cystic fibrosis, CF) 和特发性肺纤维化 (Idiopathic Pulmonary Fibrosis, IPF) 等疾病进展中发生变化^[8-10]。近年来国际上有多项研究报告不同基因的单核苷酸多态性 (single-nucleotide polymorphism, SNP) 与尘肺病的关联性,如 LPS 反应性米色样锚定蛋白 (LPS Responsive Beige-Like Anchor Protein, LRBA) rs2290846 AA 基因型显著降低了煤工尘肺的风险^[11]、高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1 protein, HMGB1) rs1360485 G 等位基因增加煤工尘肺风险^[12]、维生素 D 受体基因 (Vitamin D Receptor, VDR) *Apal* T 的 *Apal* T 等位基因及较低的 25(OH)₂D 水平提高了中国汉族人群患煤工尘肺的风险^[13]等。除这些候选基因之外,粘蛋白 (mucins, MUC) 基因的

多态性,特别是 MUC5B 启动子区域的特定位点变异,也被考虑可能增加肺纤维化的风险^[14]。现已有研究确认,rs35705950 是 MUC5B 基因启动子区域与肺纤维化发展相关的关键 SNP^[15]。Hunninghake 等在人群研究中发现, MUC5B 启动子多态性位点的携带者影像学证据显示肺纤维化的几率增加了 6 倍^[16]。在 IPF 中发现 MUC5B 基因启动子多态性增加了高加索群体及亚裔人群对肺炎的易感性增加^[17]。在高加索人、亚洲人及混合人群中, MUC5B 基因启动子多态性携带者更易患 IPF^[18]。尽管多数研究聚焦于 IPF,但由于煤工尘肺与 IPF 具有相似的发病特征,这些发现也为深入探究 MUC5B 在煤工尘肺病理机制中的作用提供了新的视角。据此推测, MUC5B 基因启动子的多态性可能与煤工尘肺紧密相关。本研究将分析 MUC5B 基因表达水平以及 MUC5B 3 个 SNPs 位点 (rs2075853、rs4963059 和 rs2014486) 的变异情况,探讨 MUC5B 基因与煤工尘肺发生发展之间的关联。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2020 年 2 月至 2023 年 10 月间贵阳市公共卫生救治中心职业健康体检中进行健康体检的健康人 143 人、在岗体检的煤矿工人 132 人以及职业病诊断的煤工尘肺患者 231 人作为研究对象,所有研究对象均为汉族男性;在本研究中,健康人群作为健康对照组,而接触煤尘的煤矿工作人员则定义为接尘组,根据尘肺病的严重程度,将煤工尘肺病患者分为两组,即初期 (煤工尘肺壹期) 患者组和中期或更严重 (煤工尘肺贰期及以上) 患者组。本研究中的所有研究对象均接受了贵阳市公共卫生救治中心的职业病诊断专家团队的评估,其诊断依据为 GBZ70-2015《职业性尘肺病的诊断》。收集研究对象个人基本资料包括年龄、工龄,研究对象的信息来源包括贵阳市公共卫生救治中心的职业健康体检系统、病历记录系统以及问卷调查。所有参与者在研究开始前均已签订书面的知情同意书。此外,本项研究已获得贵阳市公共卫生救治中心伦理委员会的正式审批 (伦理审查批号:201920)。

1.1.1 纳入标准 (1) 健康对照组纳入标准:无职业性粉尘接触史。(2) 接尘对照组纳入标准:具有煤尘接触史未达到煤工尘肺诊断标准。(3) 煤工尘肺患者

组纳入标准:具有煤尘接触史且经贵阳市公共卫生救治中心尘肺诊断专家组依据中华人民共和国卫生部 GBZ70-2015《职业性尘肺病的诊断》诊断为职业性煤工尘肺病的患者。

1.1.2 排除标准 (1) 患有肺结核、肺癌、慢性阻塞性肺疾病等与肺部疾病有关的疾病;(2) 患有自身免疫性疾病,如:类风湿关节炎、系统性红斑狼疮等;(3) 患有冠心病、风湿性心脏瓣膜病、骨折与骨质疏松、严重内分泌疾病或严重代谢疾病以及严重肝、肾疾病等疾病。

1.2 确定样本量 参考病例对照非匹配设计公式计算样本量,公式为:

$$n = \frac{2pq(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2}{(p_1 - p_0)^2} \quad (1)$$

$$p_1 = \frac{p_0 RR}{[1 + p_0(RR - 1)]} \quad (2)$$

$$\bar{p} = 0.5 \times (p_1 + p_0) \quad (3)$$

$$\bar{q} = 1 - \bar{p} \quad (4)$$

式中:

p_0 :对照组 3 个位点中最小等位基因频率,取值为 0.322;

RR :预期稀有等位基因型频率携带者患煤工尘肺的相对危险度,值为 2;

设 $\alpha = 0.05$ (双侧)、 $\beta = 0.10$,代入上述公式中计算求出样本量 $n = 188$ 例。理论样本量为 376 例,本研究共纳入研究对象 506 例。

1.3 MUC5B 基因表达量 采用 EZ - press Whole Blood RNA Purification Kit 试剂盒提取受试者血液总 RNA 并使用逆转录 - 聚合酶链反应 (Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction, RT - PCR) 仪 (美国 Bio - rad 公司) 逆转录为 10 μ L cDNA。选取 β - 肌动蛋白 (β - actin) 作为内参,通过定量实时聚合酶链式反应 (Quantitative real time polymerase chain reaction, qRT - PCR) 检测 MUC5B 基因表达水平,反应体系为:2 \times SYBR Green Mix 10 μ L, cDNA 模板 2 μ L,上下游引物各 0.4 μ L, ddH₂O 7.2 μ L,反应总体积为 20 μ L;反应条件为:95 $^{\circ}$ C 3 min,95 $^{\circ}$ C 15 s,退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 60 s,40 个循环。MUC5B 引物序列上游:5' - TCCCCTATTCCACCTTTGACG - 3',下游:5' - CCAGGTAGAGGCTGAGATTCCC - 3', β - actin 引物

序列上游:5' - CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA - 3',下游:5' - TGGCACCCAGCACAAATGAA - 3',所有引物均由上海生工生物工程有限公司进行合成。

1.4 MUC5B SNP 基因分型 通过查阅 PubMed 与 NCBI 数据库,根据 SNP 位点的 MAF 筛选出功能性位点 (MAF > 0.05),最终纳入 3 个 SNPs ($rs2075853$ 、 $rs4963059$ 和 $rs2014486$),研究对象所有 SNPs 的基因型分布均符合 Hardy - Weinberg 平衡 ($P > 0.05$),见表 1。使用血液基因组试剂盒提取基因组 DNA,DNA 样本置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用,设计特异性引物进行 PCR 扩增,分析 PCR 产物,通过 MassARRAY Analyzer 质谱仪进行基因分型,使用 TYPER 4.0 软件分析原始数据及基因分型图。

表 1 MUC5B 基因 Hardy - Weinberg 平衡检验

Table 1 Hardy - Weinberg equilibrium testing of MUC5B

SNP	基因型	实际人数	理论人数	χ^2	P
rs2014486	AA	118	111.47	0.726	0.696
	GA	239	252.05		
	GG	149	142.47		
rs2075853	CC	217	219.15	0.078	0.962
	CT	232	227.70		
	TT	57	59.15		
rs4963059	CC	84	82.90	0.017	0.991
	CT	240	242.20		
	TT	178	176.90		

1.5 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析,偏态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,多组间比较采用 Kruskal - Wallis H 秩和检验,组间两两比较采用秩和检验;计数资料率的比较用 $R \times C$ 列联表资料 χ^2 检验;用拟合优度 χ^2 检验对研究样本的群体代表性进行 Hardy - Weinberg 平衡检验;应用 R 语言软件包绘制受试者工作特征 (Receiver Operating Characteristic curve, ROC curve) 曲线,分析 MUC5B 表达量对煤工尘肺的早期诊断价值。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 研究对象一般情况 本研究共纳入健康组 143 例、接尘组 132 例、煤工尘肺壹期组 121 例、煤工尘肺贰期组 110 例。研究对象一般人口学资料分析显示,年龄与工龄在四组间具有明显差异 ($P < 0.001$),见表 2。

表 2 研究对象一般人口学资料 [$M(P_{25}, P_{75})$]

Table 2 Demographic data of the study subjects [$M(P_{25}, P_{75})$]

变量	健康组 ($n = 143$)	接尘组 ($n = 132$)	煤工尘肺 壹期组 ($n = 121$)	煤工尘肺 贰期组 ($n = 110$)	H	P
年龄 (岁)	32(27, 38)	49(44.5, 52)	51(47, 55)	53(50, 56)	242.198	<0.001 ^a
工龄 (年)	0	14(10.0, 22)	15(11, 23)	15(11, 20)	315.822	<0.001 ^a

2.2 MUC5B 表达量及 ROC 曲线分析 参考同类研究,每组随机选择 40 例样本进行表达量分析,结果显示,煤工尘肺壹期组、煤工尘肺贰期组 MUC5B 表达量较健康组、接尘组均减少,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),健康组与接尘组之间差异无统计学意义,详见表 3。以后前位高仟伏胸片为金标准,以确诊为煤工尘肺为患病组,健康组与接尘组为未患病组,纳入两组 MUC5B 表达量进行 ROC 曲线分析,结果显示,曲线下面积 (AUC) 为 0.755 (95% CI: 0.682 ~ 0.828, $P < 0.05$),灵敏度为 78.8%,特异度为 57.5%,诊断价值中等,认为 MUC5B 可作为煤工尘肺的辅助诊断指标,诊断截断值为 1.076。见图 1。

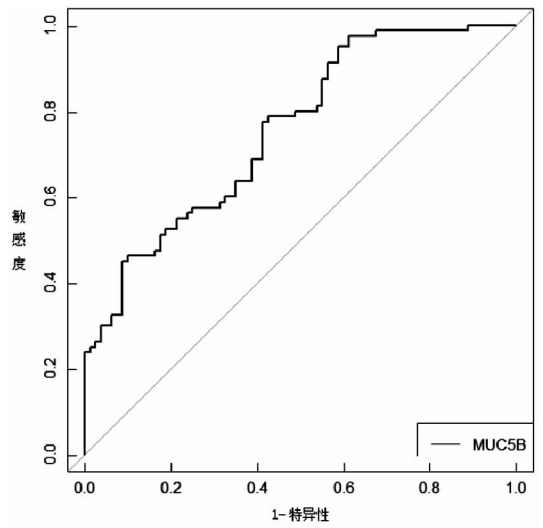


图 1 MUC5B ROC 曲线分析结果

Fig. 1 Results from MUC5B ROC curve analysis

表 3 MUC5B 基因表达情况
Table 3 MUC5B gene expression levels

分组	n	基因表达量 [M(P ₂₅ , P ₇₅)]	H	P
健康组	40	1.361 (0.898, 2.099)		
接尘组	40	1.036 (0.645, 1.660)	34.491	<0.001
煤工尘肺壹期组	40	0.701 (0.331, 1.026) ^{ab}		
煤工尘肺贰期组	40	0.658 (0.245, 1.058) ^{ab}		

注: a 表示与健康对照组比较, $P < 0.05$; b 表示与接尘对照组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 MUC5B rs2075853、rs4963059、rs2014486 基因分型情况 对 506 例研究对象进行基因分型, MUC5B 各 SNPs 的基因型、等位基因频率见表 4。MUC5B 基因 rs2075853、rs4963059、rs2014486 基因型分布及等位基因频率各组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 4 不同组别 MUC5B 基因 rs2075853、rs4963059、rs2014486 分型结果 [n(%)]
Table 4 Genotype distributions of MUC5B rs2075853、rs4963059、rs2014486 in different groups [n(%)]

SNP	健康组 (n = 143)	接尘组 (n = 132)	煤工尘肺壹期 (n = 121)	煤工尘肺贰期 (n = 110)	χ^2	P
rs2075853						
CC	68 (47.6)	49 (37.1)	55 (45.4)	45 (40.9)		
CT	58 (40.6)	71 (53.8)	52 (43.0)	51 (46.4)	5.769	0.450
TT	17 (11.9)	12 (9.1)	14 (11.6)	14 (12.7)		
C allele	194 (67.8)	169 (64.0)	162 (66.9)	141 (64.1)	1.325	0.723
T allele	92 (32.2)	95 (36.0)	80 (33.1)	79 (35.9)		
rs4963059						
CC	29 (20.3)	15 (11.4)	24 (19.8)	18 (16.4)		
CT	64 (44.8)	65 (49.2)	54 (44.6)	57 (51.8)	5.917	0.433
TT	50 (35.0)	52 (39.4)	43 (35.5)	35 (31.8)		
T allele	164 (57.3)	169 (64.0)	140 (57.9)	127 (57.7)	3.321	0.345
C allele	122 (42.7)	95 (36.0)	102 (42.1)	93 (42.3)		
rs2014486						
GG	60 (42.0)	58 (43.9)	57 (27.1)	49 (44.5)		
GA	63 (44.1)	58 (43.9)	44 (36.4)	47 (42.7)	2.606	0.856
AA	20 (14.0)	16 (12.1)	20 (16.5)	14 (12.7)		
G allele	103 (36.0)	90 (34.1)	84 (34.7)	75 (34.1)	0.294	0.961
A allele	183 (64.0)	174 (65.9)	158 (65.3)	145 (65.9)		

2.4 连锁不平衡及单体型分析 利用 SHEsis 在线软件^[19],对 MUC5B 基因 rs2075853、rs4963059、rs2014486 位点进行连锁不平衡程度 (D' , r^2 值) 分析,图 2 为 MUC5B 基因 rs2075853、rs4963059、rs2014486 的连锁不平衡 D' 值与 r^2 值图,结果显示,rs4963059、

rs2014486 存在连锁不平衡 ($D' > 0.7, r^2 > 0.3$),见表 5。对 MUC5B rs4963059、rs2014486 进行单体型分析,结果显示,在 rs4963059、rs2014486 构建的单体型中,TA 单体型在对照组或煤工尘肺组中分布频率低于 3%,不做分析;在煤工尘肺组中,CA 和 TG 单型型的

出现频率分别是 32.5% 和 55.9%，而在对照组，这两种单体的频率则为 33.5% 及 59.0%。这一差异在统计学上并不显著 ($P > 0.05$)。相反，CG 单体型在煤工尘肺组与对照组的频率分别为 9.7% 和 5.9%，显示出了明显的差异 (风险比 $OR = 1.719$, 95% CI : 1.074 ~ 2.751, $P < 0.05$)，见表 6。

表 6 MUC5B (*rs4963059*, *rs2014486*) 位点构建单体型频率分布 [n (%)]

Table 6 Construction of Haplotype Frequency Distribution for MUC5B Loci (*rs4963059*, *rs2014486*) [n (%)]

单体型	对照组 ($n = 275$)	煤工尘肺组 ($n = 231$)	OR 值(95% CI)	χ^2	P
CA	184.52(33.5)	150.20(32.5)	0.959(0.736 ~ 1.249)	0.096	0.76
CG	32.48(5.9)	44.80(9.7)	1.719(1.074 ~ 2.751)	5.201	0.02
TA ^a	8.48(1.5)	8.80(1.9)	-	-	-
TG	324.52(59.0)	258.20(55.9)	0.885(0.687 ~ 1.141)	0.888	0.35

注:a:该单体型在对照组或煤工尘肺组中分布频率低于3%，不做分析;OR值:风险比;95%CI:95%置信区间。

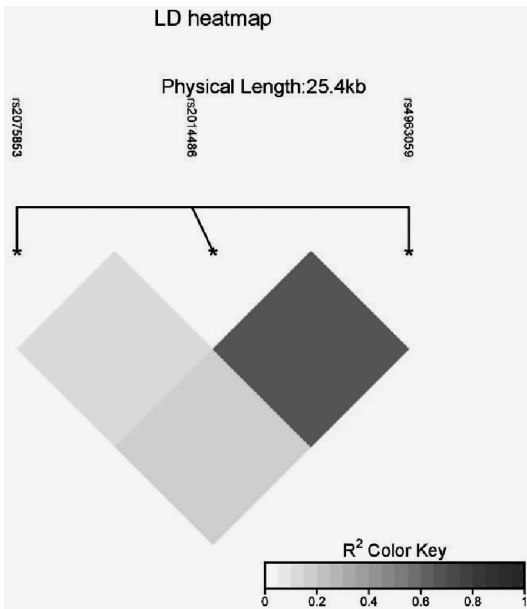


图 2 MUC5B 基因 SNP 位点的连锁不平衡图

Fig. 2 Linkage Disequilibrium Plot for MUC5B Gene SNP Loci

3 讨论

煤工尘肺暴露人数众多，所导致的疾病潜伏期长，进展至后期后通常无法逆转，对患者的健康及生活造成严重影响，因此煤工尘肺的早期预警与识别显得尤为重要。本研究的结果表明，在接尘和煤工尘肺患者群体中，年龄及工作年限均明显高于健康人群，强调了长期接触煤尘和年龄增长作为煤工尘肺进展的影响因素。

本研究发现，MUC5B mRNA 的表达水平与煤工尘肺有着密切的联系。与健康人群以及接尘群体相比较，煤工尘肺患者的 MUC5B 表达水平显著降低，其

表 5 MUC5B 基因 SNP 位点连锁不平衡分析

Table 5 Linkage disequilibrium tests of SNP loci in MUC5B

gene	D'	r^2
<i>rs2075853</i> <i>rs4963059</i>	0.661	0.156
<i>rs2075853</i> <i>rs2014486</i>	0.625	0.108
<i>rs4963059</i> <i>rs2014486</i>	0.917	0.654

在煤工尘肺患者、健康人群及接尘但未患病的人群间的对比中，都表现出了统计学上的显著性，提示 MUC5B 的表达随煤工尘肺发展而降低，这一发现与其他一些关于呼吸道疾病的研究持相似观点。在未暴露于粉尘的健康人群和仅暴露于粉尘的人群之间，MUC5B mRNA 的表达水平没有显著差异，这可能是由于初期粉尘接触阶段，机体通过生理调节，利用呼吸道粘液纤毛系统 (Mucociliary clearance, MCC) 的机械作用有效移除吸入的煤尘颗粒，以维护气道清洁的结果^[20]，在此过程中，MUC5B 的积极分泌参与形成了一个强有力的防护屏障，随着持续的粉尘刺激，机体炎症反应发生和肺纤维化进展，导致了 MUC5B 的分泌减少。

ROC 曲线分析发现 MUC5B 基因表达水平变化在煤工尘肺早期预警中具有一定的价值，其 AUC (0.755) 及相对较高的灵敏度 (78.8%) 表明，MUC5B 基因表达水平可以作为煤矿粉尘作业工人中较为敏感的早期预警生物标志物，提示在粉尘接触期间应该密切监测工人血细胞中 MUC5B 基因表达水平变化情况，使用截断值作为诊断临界值，但需要注意的是，其特异度 (57.5%) 较低，在实际应用中可能需要与其他诊断方法或指标相结合，以提高煤工尘肺早期预警的准确性。

本研究未发现 MUC5B 基因 *rs2075853*、*rs4963059*、*rs2014486* 与煤工尘肺之间的关联。但进一步的连锁不平衡和单体型分析揭示了 MUC5B 基因内部的遗传结构特点，*rs4963059* 和 *rs2014486* 位点之间存在明显的连锁不平衡 ($D' > 0.7$, $r^2 > 0.3$)，由这两个 SNPs 位点组成的 CG 单体型与煤工尘肺相关，表明 MUC5B 基因中存在遗传连接区域。煤工尘肺是一种因长期吸入煤尘而导致的肺部疾病，MUC5B 基

因与呼吸道黏液分泌及免疫反应密切相关,而 *rs4963059* 和 *rs2014486* 位于 *MUC5B* 基因启动子区域,启动子区发生的变异被预测会破坏转录因子结合位点,这两个位点可能通过连锁遗传影响 *MUC5B* 转录水平,降低了 *MUC5B* mRNA 的表达,进而影响肺部对煤尘的清除和炎症反应,从而增加煤工尘肺的发病风险。在现有的研究中,*MUC5B* 基因的多态性与多种肺部疾病之间的关联已得到认证^[18,21-23],本研究中观察到的 *MUC5B* 与煤工尘肺之间的联系揭示了可能存在着类似的分子机制,进一步可深入研究 *MUC5B* 基因多态性与煤工尘肺的具体机制,包括对黏液分泌、免疫反应和肺部纤维化的影响。

综上所述,*MUC5B* 基因表达水平可能成为煤工尘肺早期筛查的有效指标,*MUC5B* 基因 *rs4963059*、*rs2014486* 构建的 CG 单体型与煤工尘肺有关,这两个位点可能通过连锁遗传影响煤工尘肺发生。考虑到地域、民族和环境差异可能对研究结果产生的影响,本次研究结果存在一定局限性。进一步研究需要增大样本量,并纳入更多地理和种族背景不同的煤工尘肺患者与健康及接尘工人,以便对结果进行验证,为煤工尘肺的预防和早期诊断提供坚实依据。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] 杨劼,胡建林,王可. 贵州地区职业性尘肺病发病特征及影响因素分析[J]. 公共卫生与预防医学,2022,33(1):63-65.
Yang J, Hu JL, Wang K. Characteristics and influencing factors of occupational pneumoconiosis in Guizhou [J]. Journal of Public Health and Preventive Medicine, 2022, 33(1): 63-65. (In Chinese)
- [2] 黄进,易俊,陈凤琼,等. 煤工尘肺患者生存质量与家庭功能和社会支持的关系研究[J]. 中国安全生产科学技术,2011,7(7):102-105.
Huang J, Yi J, Chen FQ, et al. Study on relationship between quality of Life of coal workers pneumoconiosis patients and family function, social support [J]. Journal of Safety Science and Technology, 2011, 7(7): 102-105. (In Chinese)
- [3] Barber C, Fishwick D. Pneumoconiosis [J]. Medicine, 2020, 48(6): 417-421.
- [4] Song D, Iverson E, Kaler L, et al. *MUC5B* mobilizes and *MUC5AC* spatially aligns mucociliary transport on human airway epithelium[J]. Science Advances, 2022, 8(47): eabq5049.
- [5] Hoang ON, Ermund A, Jaramillo AM, et al. Mucins *MUC5AC* and *MUC5B* are variably packaged in the same and in separate secretory granules[J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2022, 206(9): 1081-1095.
- [6] Roy MG, Livraghi - Butrico A, Fletcher AA, et al. *Muc5b* is required for airway defence[J]. Nature, 2014, 505(7483): 412-416.
- [7] Huang X, Guan WJ, Xiang B, et al. *MUC5B* regulates goblet cell differentiation and reduces inflammation in a murine COPD model [J]. Respiratory Research, 2022, 23(1): 11.
- [8] Radicioni G, Ceppe A, Ford AA, et al. Airway mucin *MUC5AC* and *MUC5B* concentrations and the initiation and progression of chronic obstructive pulmonary disease: an analysis of the SPIROMICS cohort[J]. The Lancet. Respiratory Medicine, 2021, 9(11): 1241-1254.
- [9] Niv Y, Ho SB, Rokkas T. Mucin secretion in cystic fibrosis: a systematic review[J]. Digestive Diseases, 2021, 39(4): 375-381.
- [10] Tirelli C, Pesenti C, Miozzo M, et al. The genetic and epigenetic footprint in idiopathic pulmonary fibrosis and familial pulmonary fibrosis: a state - of - the - art review[J]. Diagnostics, 2022, 12(12): 3107.
- [11] Liu Y, Yang J, Wu Q, et al. *LRBA* gene polymorphisms and risk of coal workers' pneumoconiosis: A case - control study from China [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2017, 4(10): 1138.
- [12] Tang Y, Duan J, Wang Y, et al. Associations of *HMGBI* gene polymorphisms with risk of coal workers' pneumoconiosis susceptibility in Chinese Han population [J]. Inhalation Toxicology, 2020, 32(4): 170-176.
- [13] Yang X, Qin MT, Cui SS, et al. Associations of *VDR* gene polymorphisms with risk of coal workers' pneumoconiosis in Chinese Han population [J]. Toxicology Research, 2020, 9(4): 399-405.
- [14] Seibold MA, Wise AL, Speer MC, et al. A common *MUC5B* promoter polymorphism and pulmonary fibrosis [J]. New England Journal of Medicine, 2011, 364(16): 1503-1512.
- [15] Fingerlin TE, Murphy E, Zhang WM, et al. Genome - wide association study identifies multiple susceptibility loci for pulmonary fibrosis [J]. Nature Genetics, 2013, 45(6): 613-620.
- [16] Hunninghake GM, Hatabu H, Okajima YK, et al. *MUC5B* promoter polymorphism and interstitial lung abnormalities [J]. New England Journal of Medicine, 2013, 368(23): 2192-2200.
- [17] Shi XS, Ma Y, Li HY, et al. Association between *FCGR2A* *rs1801274* and *MUC5B* *rs35705950* variations and pneumonia susceptibility [J]. BMC Medical Genetics, 2020, 21(1): 71.
- [18] Wu XZ, Li W, Luo ZL, et al. The minor T allele of the *MUC5B* promoter *rs35705950* associated with susceptibility to idiopathic pulmonary fibrosis: a meta - analysis [J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 24007.
- [19] Shi YY, He L. SHEsis, a powerful software platform for analyses of linkage disequilibrium, haplotype construction, and genetic association at polymorphism loci [J]. Cell Research, 2005, 15(2): 97-98.
- [20] Donoghue LJ, Markovetz MR, Morrison CB, et al. *BPIFB1* loss alters airway mucus properties and diminishes mucociliary clearance [J]. American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology, 2023, 325(6): L765-L775.
- [21] Dai YJ, Wang WN, Yu YK, et al. Rheumatoid arthritis - associated interstitial lung disease: an overview of epidemiology, pathogenesis and management [J]. Clinical Rheumatology, 2021, 40(4): 1211-1220.
- [22] Kim JS, Manichaikul AW, Hoffman EA, et al. *MUC5B*, telomere length and longitudinal quantitative interstitial lung changes: the Mesa Lung Study [J]. Thorax, 2023, 78(6): 566-573.
- [23] Buendía - Roldán I, Fernandez R, Mejía M, et al. Risk factors associated with the development of interstitial lung abnormalities [J]. The European Respiratory Journal, 2021, 58(2): 2003005.