

· 现场调查 ·

青春前期双生子血清骨碱性磷酸酶活性测定及遗传度分析

王文军 张璟 李晶 刘珑 孔庆胜 周军燕 随桂英 邓磊

【摘要】 目的 通过对青春前期双生子血清骨碱性磷酸酶(bone alkaline phosphatase, BALP)活性的测定,分析血清 BALP 活性的遗传度,评价特定人群钙的缺乏状况和机体对钙的需求情况。方法 调查 9~16 岁双生子 73 对,利用骨源性碱性磷酸酶试剂盒进行血清 BALP 活性测定。在 DNA 卵型鉴定基础上,以组内相关系数法及 Christian 遗传度计算公式分析血清 BALP 活性的遗传度。结果 经卵型鉴定,73 对双生子中同卵双生子 34 对,异卵双生子 39 对;BALP>250 U/L 的人占 43.1%,BALP 为 200~250 U/L 占 54.8%,BALP≤200 U/L 占 2.1%;男性中钙摄入不足者占 48.4%,女性中占 39.0%;各年龄组钙的摄入量能满足机体需求的均不到 10.0%;尤其是 10~13 岁年龄段儿童,明确缺钙者所占比例均>45.0%;不同性别、不同年龄间 BALP 均值差异无统计学意义,性别 $t = 1.633, P = 0.105$;年龄 $F = 0.323, P = 0.924$ 。经过遗传度分析,单卵双生(MZ)对内方差 = 191.54,对间方差 = 1462.22,相关系数 = 0.77;双卵双生(DZ)对内方差 = 491.03,对间方差 = 1475.57,相关系数 = 0.50;BALP 活性的遗传度为 0.54。结论 青春前期的双生子普遍存在缺钙问题;BALP 的活性遗传因素占 54%,环境因素占 46%。

【关键词】 骨碱性磷酸酶;遗传度;双生子

Study on the activity of serum bone alkaline phosphatase and its relations to the heritability among pre-puberty Twins WANG Wen-jun, ZHANG Jing, LI Jing, LIU Hu, KONG Qing-sheng, ZHOU Jun-yan, SUI Gui-ying, DENG Lei. School of Public Health, Jining Medical University, Jining 272013, China

【Abstract】 Objective To evaluate calcium deficiency and demand in pre-puberty twins and to analyze the heritability of serum bone alkaline phosphatase (BALP). **Methods** A total of 73 pairs of twins aged 9-16 years were examined by BALP test. Microsatellite polymorphism was used to diagnose the zygosity of twins, while both intraclass correlation coefficient method and Christian formula were performed to investigate heritability of serum BALP. **Results** The results of zygosity diagnosis displayed that 34 pairs of twins were monozygotic (MZ) twins and 39 pairs were dizygotic (DZ) twins. 97.9% of the subjects appeared unusual in the activity of BALP, with activity of BALP> 250 U/L in 43.1% of subjects and 200-250 U/L in 54.8% of the subjects. The intake of calcium was unsatisfied in 48.4% of the boys and 39.0% in girls. Less than 10.0% of the subjects were satisfied with the intake of calcium in each age group while over 45.0% of the subjects in 10-13 age group were deficient in calcium. Differences between the means of BALP in different sex groups ($t = 1.633, P = 0.105$) and different age groups ($F = 0.323, P = 0.924$) were not statistically significant. Heritability analysis displayed that intra-class variation, inter-class variation, intra-class correlation coefficient were 191.54, 1462.22, 0.77 in MZ twins, and those were 491.03, 1475.57, 0.50 in DZ twins respectively with the heritability of BALP activity as 0.54. **Conclusion** Calcium deficiency is commonplace in pre-puberty twins. Our data showed that the BALP activity was influenced both by genetic (54%) and environmental (46%) factors.

【Key words】 Bone alkaline phosphatase; Heritability; Twins

骨碱性磷酸酶(BALP)是由成骨细胞合成的^[1],是骨形成过程中必需的催化剂,对骨矿化、骨形成有

重要作用,当体内缺乏维生素 D 或钙摄入不足时,成骨细胞活跃,血清 BALP 活性上升;疾病恢复, BALP 活性逐渐下降,其改变先于影像变化。BALP 活性检测是诊断机体钙的需求状况最特异、最敏感的指标之一^[2]。为了解济宁市青春前期双生子对钙

作者单位: 272013 济宁医学院公共卫生学院卫生学教研室(王文军、张璟、李晶、刘珑、孔庆胜、周军燕、随桂英), 2002 级预防医学专业学生(邓磊)

摄入情况,探讨 BALP 活性的遗传度及影响因素。于 2006 年 9 月对济宁市 73 对双生子进行了 BALP 的检测。

对象与方法

1. 对象:从济宁市双胞胎登记库中获得 73 对同性别 9~16 岁双生子,每对双生子均在同一家庭中抚养,共同生活,就读于同一所学校,身体健康。

2. 方法:

(1) 样品采集:取得监护人和受试者知情同意,签定知情同意后,采集双生子静脉血样本 10 ml。

(2) 双生子 BALP 活性的测定:采用安徽高山药业生产的 BALP 试剂盒,取全血 30 μl,运用全血干化学和免疫浓缩技术,测定血中 BALP 活性。BALP 活性单位 ≤200 U/L 为正常;200~250 U/L 为临界值,表示可疑缺钙;>250 U/L 为异常,表示机体缺钙。

(3) 卵型鉴定:样本送青岛市血液中心,采用美国 ABI 公司 AmpFISTR® SGM Plus™ PCR 扩增试剂盒,复合扩增 4 个 STR 位点(D16S539、D7S820、D13S317、D5S818)和一个性别位点,电泳并鉴别卵性。5 个位点均相同者为同卵双生,否则为异卵双生,其结果的正确概率为 99.6%。

(4) 样本量估算:依据估算公式 $n = \frac{t^2 pq}{d^2}$,当 $p=0.5$, pq 最大,允许误差不超过 10% 的原则;取 $\alpha=0.05$,样本至少要达到 96 人。

3. 统计学分析:资料应用 Excel 建库录入,用 SPSS 12.0 软件进行统计分析;用 Excel 软件计算对内和对间方差。按文献[3,4]的双生子分析方法将双生子分为单卵双生(MZ)和双卵双生(DZ),然后计算两组的对内方差和对间方差,得到组内相关系数,最后计算遗传度。遗传方差计算方法:

双生子对内方差 = $\frac{\sum(A-B)^2}{2N}$ (N 为双生子对的总数, A 和 B 为双生子对两个成员的各自性状值)

双生子对间方差

$$= \frac{1}{N-1} \left\{ \frac{\sum(A+B)^2}{2} - \frac{[\sum(A+B)]^2}{2N} \right\}$$

组内相关系数(r)

$$= \frac{\text{双生子对间方差} - \text{双生子对内方差}}{\text{双生子对间方差} + \text{双生子对内方差}}$$

遗传度 = $2(r_{MZ} - r_{DZ})^{[5]}$ 。

结 果

1. 卵型鉴定结果:经卵型鉴定 73 对双生子中同卵双生子 34 对,异卵双生子 39 对。

2. BALP 检测结果:对 73 对双生子 BALP 活性检测结果表明,男性中钙摄入不足者占 48.4%,女性中占 39.0%;各年龄组儿童钙的摄入能满足机体需求的均不到 10.0%。尤其是 10~13 岁年龄段儿童,明确缺钙者所占比例均 >45.0%,结果见表 1。

表1 73 对不同性别和年龄青春前期双生子 BALP 活性的检测结果

因素	调查人数	≤200 U/L		200~250 U/L		>250 U/L	
		人数	率(%)	人数	率(%)	人数	率(%)
性别							
男性	64	1	1.6	32	50.0	31	48.4
女性	82	2	2.4	48	58.5	32	39.0
合计	146	3	2.1	80	54.8	63	43.1
年龄(岁)							
9~	14	0	0.0	9	64.3	5	35.7
10~	40	1	2.5	17	42.5	22	55.0
11~	24	0	0.0	13	54.2	11	45.8
12~	14	0	0.0	7	50.0	7	50.0
13~	22	1	4.5	10	45.5	11	50.0
14~	14	1	7.1	10	71.4	3	21.4
15~16	18	0	0.0	14	77.8	4	22.2
合计	146	3	2.1	80	54.8	63	43.1

3. BALP 活性遗传度分析:

(1) 性别因素对 BALP 活性的影响:研究对象按性别分组,经正态性检验,男性和女性 BALP 活性的 P 值分别为 0.332 和 0.237,符合正态分布。男性 BALP 均值为 (258.67 ± 33.34) U/L, 女性为 (250.49 ± 27.21) U/L, 男性高于女性,经统计学检验,差异无统计学意义 (t = 1.633, P = 0.105)。

(2) 年龄因素对 BALP 活性的影响:对该 146 名儿童按年龄分组后,经方差分析,各年龄组之间差异无统计学意义 (P > 0.05), 结果见表 2。

表2 73 对不同年龄青春前期双生子 BALP 活性差异性检验

年龄(岁)	人数	BALP(U/L, $\bar{x} \pm s$)
9~	14	250.71 ± 29.17
10~	40	252.25 ± 24.96
11~	24	256.25 ± 26.51
12~	14	259.29 ± 25.56
13~	22	257.95 ± 33.97
14~	14	251.43 ± 47.37
15~16	18	248.33 ± 29.36
合计	146	253.73 ± 29.95

注: F = 0.323, P = 0.924

(3) BALP 活性的遗传度计算: 排除性别和年龄的影响因素后, 利用 Christian 的双生子分析方法对 BALP 活性进行遗传度的计算, 结果见表 3。

表3 73 对双生子 BALP 遗传度的 Christian 分析

卵型	对内方差	对间方差	r 值	遗传度
MZ	191.54	1462.22	0.77	0.54
DZ	491.03	1475.57	0.50	

讨 论

钙是构成人体重要元素之一, 它不仅是构成骨骼的主要矿物质, 而且在体内具有十分重要的生理、生化功能。20 世纪 90 年代中后期的营养调查资料表明, 我国人群钙的摄入量只有中国营养学会推荐量的一半左右^[2], 钙的缺乏会导致骨骼畸形, 同时能引起神经、肌肉、造血、免疫等组织器官功能异常, 易患上呼吸道感染、肺炎、腹泻、贫血等疾病, 对儿童健康危害较大。因此, 钙缺乏疾病被列为小儿重点防治的“四大疾病”之一。BALP 的活性能早期反映体内对钙的需求状况, 以及骨钙化的程度。当体内维生素 D 和钙缺乏时 BALP 活性升高, 其改变先于影像学变化, 是早期诊断钙缺乏疾病最特异、最敏感的指标之一。

本次研究显示: 73 对青春前期双生儿童中无钙缺乏者仅占 2.1%, 可疑缺钙者占 54.8%, 明确钙缺乏者占 43.1%, 尤其是 10~13 岁儿童更为明显。青春前期是儿童生长发育最旺盛的时期, 是人体生长发育的第二个高峰时期, 生理指标逐渐成熟, 机体对钙的需求量非常大。结合本次调查结果, 建议家长和学校一方面让孩子多参加户外锻炼, 以促进骨骼的增长和钙的吸收; 另一方面, 合理安排儿童饮食, 根据机体需求情况合理补充钙剂, 多吃含钙的食物, 以保证儿童健康的成长。

在第二次生长突增期, 女性要比男性早发育 2 年左右, 但本次研究显示不同性别和年龄间儿童 BALP 活性差异均无统计学意义。汪韶洁等^[6]和洪秀梅等^[7]运用 X 线片和 X 线吸收骨密度仪进行骨质代谢的遗传度分析, 发现年龄、性别对骨发育有一定的影响, 与本次调查结果有所不同。这可能与青

春前期儿童普遍存在钙摄入不足的现象有关, 但有待于增加样本量进一步探讨。

遗传度是指遗传因素在发病过程中的作用大小, 常保持相对稳定。双生子遗传构成的相似性明确, 单卵双生的两成员的遗传基因完全相同, 而异卵双生子只有 50% 的遗传基因相同。同卵双生子由于来源于同一个受精卵, 是自然创造的基因型相同的天然模式; 异卵双生子的基因型虽有不同, 却往往生活于相似的环境中。因此, 在有效卵性鉴别的基础上, 双生子间异同比较研究可估计遗传和环境的相对效应。本次研究通过对双生子 BALP 活性的定量测定, 然后按照双生子法计算得到其遗传度为 0.54, 即 BALP 活性遗传因素占 54%, 环境因素占 46%, 遗传因素对 BALP 活性的作用可能稍大于环境因素的作用。

目前, 国内有关 BALP 遗传度分析的研究鲜见报道, 本次研究仅考虑了年龄和性别两个因素对 BALP 活性的影响, 其活性还可能受到身高、体重等体格指标, 以及各种生理状况等因素的影响, 对其活性遗传度的分析有待于进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] 吴梅青, 周坤先. 骨碱性磷酸酶测定对小儿佝偻病早期诊断意义的评价. 哈尔滨医药, 2006, 24(2): 4-5.
- [2] 刘艳云, 张红霞, 高淑珍. 骨源性碱性磷酸酶检测在儿童缺钙诊断中的应用. 检验医学与临床, 2006, 3: 434-435.
- [3] Christian JC. Testing twin means and estimating genetic variance. Basic methodology for the analysis of quantitative twin data. Acta Genet Med Gemellol, 1979, 28: 35-40.
- [4] Krzysztof N, Marzena C, Grzegorz K, et al. Genetic influences on insulinemia in normotensive twins. Am J Hypertens, 1997, 10: 467-470.
- [5] 吴美华, 何清波, 朱鼎良, 等. 血瘦素遗传度的双生子分析. 中华医学遗传学杂志, 2002, 19(2): 112-114.
- [6] 汪韶洁, 董礼艳, 逢增昌, 等. 双生子骨龄遗传度的性别差异分析. 预防医学论坛, 2004, 10: 385-387.
- [7] 洪秀梅, 王大勇, 倪佳桐, 等. 绝经前女性双生子前臂桡骨骨密度的遗传度分析. 中国骨质疏松杂志, 2001, 7(3): 194-198.

(收稿日期: 2008-03-14)

(本文编辑: 尹廉)