

· 现场调查 ·

成年双生子血尿酸遗传度研究

段海平 逢增昌 张东峰 汪韶洁 翟耀明 张栋 谭启华

【摘要】 目的 用双生子研究方法对成年人血尿酸的遗传度进行估计。方法 从青岛双生子库募集成年双生子。测量身高、体重和血尿酸。相同性别的双生子采用 16 个多态标记进行卵型鉴定。通过校正年龄、性别和 BMI, 来构建结构方程模型估计遗传度。结果 共收集 687 对双生子数据, 其中同卵双生子 420 对, 异卵双生子 267 对。经平方根转换后, 男性血尿酸水平 (17.47 ± 1.91) 略高于女性 (15.22 ± 1.70) ($P < 0.0001$), 通过校正年龄、性别和 BMI 后双生子血尿酸的组内相关系数分别为, 同卵双生子 0.70、异卵双生子 0.40。运用性别限制模型进行拟合, 最佳模型 AE 模型, 加性别遗传因素和特殊环境因素共同作用血尿酸的水平。血尿酸的遗传度为 70.5% (95%CI: 65.9 ~ 74.6), 特殊环境因素占 29.5% (95%CI: 25.4 ~ 34.2)。结论 遗传因素是影响样本双生子血尿酸水平的主要因素。

【关键词】 血尿酸; 双生子; 遗传度

Heritability of serum uric acid in adult twins DUAN Hai-ping^{1,2}, PANG Zeng-chang¹, ZHANG Dong-feng¹, WANG Shao-jie², ZHAI Yao-ming², ZHANG Dong¹, TAN Qi-hua³. 1 Medical College, Qingdao University, Qingdao 266033, China; 2 Qingdao Municipal Center for Disease Control and Prevention; 3 University of Southern Denmark
Corresponding author: PANG Zeng-chang, Email: cdcpan@126.com

This work was supported by a grant from the National Natural Science Foundation of China (No. 30872170)

【Abstract】 Objective To assess the heritability of serum uric acid in adult, using the classic twin design. Methods Adult Twins were recruited from the Qingdao Twin Registry. Uric acid, height, weight were measured. Zygosity in all the same-sex twin pairs was determined by 16 polymorphic markers. Heritability was assessed by structural equation models, with age, gender and body mass index (BMI) included as covariates. Results In total, 687 twin pairs were available for data analyses, including 420 pairs of monozygotic and 267 pairs of dizygotic twins. After logarithm transformed, uric acid in males (17.47 ± 1.91) was significantly higher than in females (15.22 ± 1.70 , $P < 0.0001$). After adjustment on age, sex and BMI, intraclass correlations for uric acid were 0.70 for monozygotic twins and 0.40 for dizygotic twins. The sex-limitation AE model, combining additive genetic and unique environmental factors, could produce the best fit for the data. Heritability estimate for uric acid was 70.5% (95% CI: 65.9–74.6), with the proportion of unique environmental effects as 29.5% (95% CI: 25.4–34.2). Conclusion Additive genetic effects appeared to be the major contributor to the variation of uric acid in this twins sample being studied.

【Key words】 Serum uric acid; Twins; Heritability

高尿酸血症是引起体内尿酸升高或排泄减少而导致的一种代谢性疾病, 大约有 10% ~ 20% 的高尿酸患者会引起痛风。目前已把高尿酸血症及痛风列入代谢综合征中的一个表现^[1]。近年来, 高尿酸血症的患病率迅速上升, 尤其在发达国家^[2-5]。高尿酸血症与代谢综合征的许多成分密切相关^[6-9]。作为痛风的中间代谢表型, 尿酸水平受到遗传和环境因

素的共同影响, 双生子研究是分析遗传和环境因素作用大小的有效方法之一。经典的双生子研究用组内相关系数法估计表型的遗传度, 但是, 组内相关系数法虽然灵敏度高, 但是把握度低, 并且没有将双生子资料充分利用。结构方程模型能对双生子不同的卵型性别同时进行拟合, 并且可以同时分析年龄、性别等对表型的影响, 分别估计加性遗传方差、共同环境方差、显性遗传方差和个体特异的环境方差^[10]。既往国外运用双生子或者家系等研究方法, 得出尿酸的遗传度 (h^2) 为 0.30 ~ 0.80^[11-17]。本研究旨在应用双生子样本, 采用构建结构方程模型的分析方法, 来探索遗传和环境因素对中国成年双生子尿酸水平

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.04.006

基金项目: 国家自然科学基金 (30872170)

作者单位: 266033 青岛大学医学院 (段海平、逢增昌、张东峰、张栋); 青岛市疾病预防控制中心 (段海平、汪韶洁、翟耀明); University of Southern Denmark (谭启华)

通信作者: 逢增昌, Email: cdcpan@126.com

作用的大小。

对象与方法

1. 研究对象:依据青岛市的双生子登记系统^[18],通过基层疾病控制人员利用疾病控制网络,以村或街道为单位,通过户籍登记、新闻媒体募集25岁以上的成年人双胞胎。纳入研究的双生子标准:①2名双生子在同一天均接受调查;②有血液样本,并且样本质量符合要求;③签署知情同意书。排除标准:①缺少关键指标的双生子对;②近一个月内服用减肥、降糖、降脂等影响血尿酸水平药物的双生子对。本研究2002年调查经北京大学医学伦理委员会批准认可,2007年调查经青岛市疾病预防控制中心(CDC)医学伦理委员会批准认可。最终,符合本研究的双生子共687对,其中包括2002年检查的325对,以及2007年新增加的362对。

2. 研究方法:

(1)卵型鉴定:采用3种方法相结合分步进行双生子卵型鉴定。首先,双生子之间性别不同者必为异卵双生子;其次,在性别相同的双生子中,ABO或RH血型不同的必定为异卵双生子;最后,如果2个双生子性别和血型均相同,就通过微卫星DNA基因分型技术来判定。血型检测:ABO血型采用正定型,试剂购自长春生物制品研究所博德公司,由青岛市CDC体检科完成。基因型鉴定:采用美国Genra DNA提取试剂盒,从EDTA抗凝血中提取DNA,用紫外分光光度法粗略定量DNA。使用ABI公司的AmpFL STR Identifiler试剂盒,在ABI9700型PCR扩增仪上,复合扩增15个STR位点(D8S1179、D21S11、D7S820、CSF1PO、D3S1358、TH01、D13S317、D16S539、D2S1338、D19S433、vWA、TPOX、D5S818、D18S51、FGA)和性别标记Amelogenin。取扩增产物,于ABI-3100型DNA遗传分析仪上电泳,最后用GeneMapper V3.5软件分析数据和自动分型。性别和15个STR位点基因型全部一致的判为同卵双生子(MZ),性别不同和/或有一个或以上的位点基因型不同判为异卵双生子(DZ)。可靠性达99.6%以上^[19]。该项工作在青岛市中心血站实验室完成。

(2)测量指标:测定身高(cm)、体重(kg)、BMI(kg/m^2);身高使用经标准钢卷尺校正过的身高计测量赤脚身高,精确到1cm;使用校正过的杠杆式体重计测量体重,精确到0.1kg。

(3)尿酸测定:禁食12h后抽取静脉血样本,两

双生子采血间隔时间不小于5min,离心后吸取血清。采用尿酸酶-过氧化物酶偶联测定法,在自动生化分析仪(日立7600)检测血清尿酸的浓度。尿酸的实验室测定在青岛市传染病医院检验科完成。现场调查和实验室检验的质量控制符合项目要求。

3. 统计学分析:数据采用EpiData 3.0软件进行双录入,核对修改。应用SPSS 15.0统计软件对数据进行分析,采用频数或均值和标准差($\bar{x} \pm s$)描述MZ和DZ各主要指标分布,成组T-Test比较MZ和DZ之间各指标,差异有无统计学意义,如无统计学意义则进行血尿酸的遗传分析。根据卵型和性别不同分类计算各组血尿酸的组内相关系数(ICC)。建立遗传模型,构造结构等式方程,应用Mx软件分析估计血尿酸的遗传度和环境效应^[20]。

通常应用ACE模型来假设性状的表型变异源于加性遗传效应A、共同环境效应C和特殊环境效应E。MZ具有完全相同的遗传基础,因此表型差异主要由环境造成,而DZ与普通同胞对一样,平均共享50%的遗传基础,因此表型差异主要是由遗传和环境因素共同决定的。因为本研究中双生子是在同一家庭培养长大,因此假设双胞胎对内有100%共同的家庭环境效应。利用最佳拟合模型中遗传方差与表型方差之间的比值计算得出遗传度。

在双生子研究中,不同性别的DZ能够检定性别的特殊效应也能发现性别在遗传和环境上差异对表型的影响(Neale MC and Cardon LR, 1992)。本研究中,不同性别DZ的相关低于相同性别的DZ,表明不同性别可能影响血尿酸水平。因而,应用性别限制模型来对数据进行拟合。在性别限制模型的全模型中,假设A、C、E参数在男性(M)和(F)女性之间存在差异($A_m \neq A_f$, $C_m \neq C_f$, $E_m \neq E_f$),而且性别限制模型的全模型假设不同性别双生子间的加性遗传相关系数为 r_{O} , r_{O} 在0~0.5之间变化。在性别限制模型的全模型基础上简化模型,并与全模型比较,确定最优模型。应用Mx软件包对原始数据进行模型拟合分析,计算负二倍的对数似然值(-2LL)。在全模型和简化模型之间,-2LL的差值近似服从自由度为两模型自由度差的 χ^2 分布,用对数似然比检验(LRT)来选择最佳拟合模型:如果全模型与简化模型之间 $\Delta\chi^2$ 差异有统计学意义,则简化模型不能接受,如果差异没有统计学意义,则提示这个简化模型比全模型更好。并以AIC值(akaike information criterion)结合专业知识来确定最好的模型,AIC值越小模拟的越好。

结 果

研究对象一般特征:排除有数据缺失和质量不符合要求的18对双生子外,最终共有687对年龄在25岁以上的成年双生子;其中同卵男性双生子(MZM)196对,异卵男性双生子(DZM)61对,同卵女性双生子(MZF)224对,异卵女性双生子(DZF)66对,异卵不同性别双生子(OSDZ)140对。由于尿酸为偏态分布,将其进行平方根转换,符合正态分布(Shapiron-Wilk 检验 $P=0.2059$,见图1和图2)。

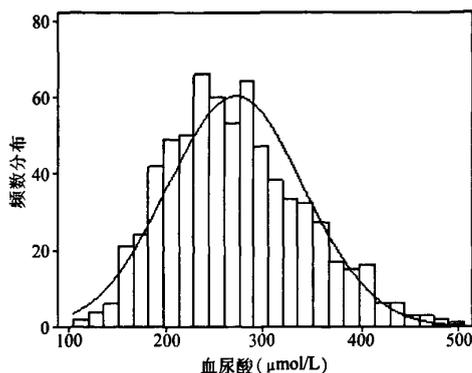


图1 先出生双生子(双生子1)尿酸指标分布

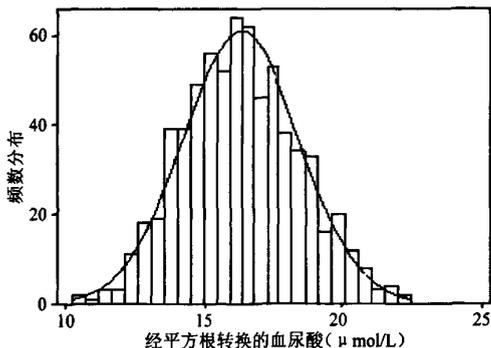


图2 先出生双生子(双生子1)尿酸经平方根转换分布

表1显示,由于双生子之间并非独立样本,仅对先出生的双生子(双生子1)进行一般性状描述分析,双生子2为后出生的双生子。表2是对性别、年龄、BMI校正后,经平方根转换尿酸的组内相关系数。样本平均年龄为(39.1±10.2, Min=25, Max=59, P25=32, P50=38, P75=42)且MZ与DZ年龄之间差异无统计学意义($t=0.0336, P=0.9732$)。经平方根转化的尿酸在MZ(16.22)和DZ(16.49)之间差异无统计学意义($t=-1.5995, P=0.1102$)。男性尿酸水平(17.47±1.91)μmol/L略高于女性(15.22±1.70)μmol/L($P<0.0001$)。MZ的相关系数(0.7023)要比DZ(0.3987)高,说明尿酸受到遗传

的影响有统计学意义,且DZ的相关系数大于MZ的1/2,提示共同环境效应对尿酸有影响,选择ACE模型进行拟合(表1、表2、图3、图4)^[20]。

表1 267对双生子一般特征($\bar{x}\pm s$)

型别	双生子对数	年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	尿酸(μmol/L)	经平方根转换的尿酸
MZ					
MZM	196	39.02±10.48	24.31±3.21	306.20±67.26	17.39±1.94
MZF	224	39.11±9.27	23.94±3.23	233.98±54.21	15.20±1.76
合计	420	39.06±9.84	24.11±3.22	267.68±70.50	16.22±2.14
DZ					
DZM	61	40.18±11.99	23.66±2.83	313.07±62.11	17.60±1.79
DZF	66	39.89±9.96	24.59±3.76	235.86±50.85	15.27±1.63
OSDZ	140	38.14±10.51	24.36±3.51	279.09±71.15	16.57±2.12
合计	267	39.04±10.73	24.26±3.43	276.16±69.77	16.49±2.09

注:用先出生双生子(双生子1)进行描述分析

表2 经平方根转换后尿酸的组内相关系数(校正性别、年龄、BMI)

型别	双生子对数	组内相关系数(95%CI)
MZ		
MZM	196	0.6722(0.5860 - 0.7418)
MZF	224	0.7318(0.6636 - 0.7868)
合计	420	0.7023(0.6498 - 0.7474)
DZ		
DZM	61	0.4466(0.2159 - 0.6256)
DZF	66	0.5102(0.3023 - 0.6674)
OSDZ	140	0.3324(0.1751 - 0.4714)
合计	267	0.3987(0.2920 - 0.4945)

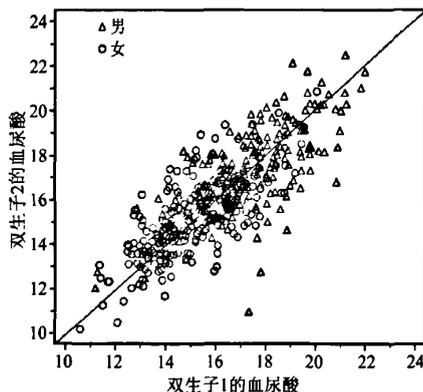


图3 MZ之间经平方根转换尿酸(μmol/L)相关性

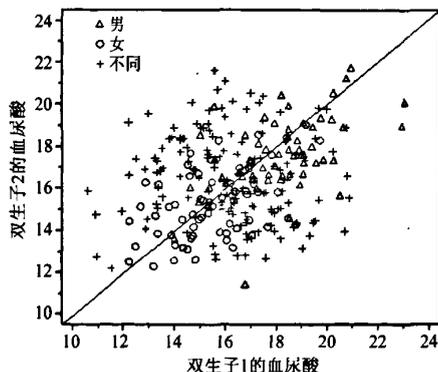


图4 DZ之间经平方根转换尿酸(μmol/L)相关性

表3显示模型拟合的结果,饱和模型和性别限制模型的全模型比较差异无统计学意义($\Delta\chi^2=22.502, df=16, P=0.1277$),指明性别限制模型是可接受的。由于性别、年龄和BMI会造成尿酸的遗传和环境因素分析的偏移,为控制它们影响,将其作为协变量进行分析^[16]。模型2将 r_0 固定为0.5,与模型1比较差异无统计学意义,显示在男性和女性中有相同的基因影响血尿酸水平。模型3是固定 r_0 为0.5,在不同性别中A、C、E参数相等,与模型1比较,结果差异无统计学意义,确定两种性别在遗传和环境大小对血尿酸水平的影响是相同的。模型4固定 r_0 为0.5,且不同性别A、E参数相等,将C参数从模型中剔除进行拟合,与模型1比较差异无统计学意义,不能拒绝该模型,且AIC值最小,说明模型4为最优拟合模型。血尿酸遗传度为70.5%(95%CI: 65.9~74.6),特殊环境效应为29.5%(95%CI: 25.4~34.2)。

讨 论

双生子研究是遗传流行病学中探索遗传和环境因素对性状相对作用的较好方法。本研究中通过构建性别限制结构方程进行模型拟合,最终得出影响血尿酸表型的最佳拟合模型为AE模型,男女性的遗传度相同均为70.5%,特殊环境因素占29.5%,提示遗传因素和环境因素共同作用于尿酸水平,但是遗传因素作用相对更大。Lise等^[11]对丹麦老年双生子的研究显示,男性为CE模型,遗传度为0,主要是环境因素的作用,而女性为AE模型,遗传度为63%。Middelberg等^[12]针对澳大利亚青少年双生子

在12、14、16岁3次追踪调查,尿酸的遗传度为80%。Whitfield和Martin^[13]对澳大利亚18~34岁的206对双生子研究,尿酸的遗传度为73%。以上结果与本研究得出的结论较为接近。国内张振文等^[14]对20例原发痛风患者的核心家庭成员78人,运用回归法计算得出尿酸的一级亲属遗传度为58.6%。Kalousdian等^[15]运用经典遗传度计算方法,对美国360对中年男性双生子研究,尿酸遗传度为0.45。Park等^[16]在日本对37对11~12岁的双生子及其父母进行家系研究显示,尿酸遗传度均不低于30%。Rice等^[17]对墨西哥裔美国人用家系研究方法得出遗传度为32%。以上研究比本研究结果均较低。由此可见,研究对象的种族和年龄,由于样本量、调查和分析方法的不同,均可能造成结果的差别。本研究的假设基础是双生子之间成长环境相似度一样,但是在某些情况下,这种假设并不完全正确,往往MZ之间在环境影响的相似度要大于DZ。这样MZ之间的尿酸的相关程度高于DZ,部分原因应归因于MZ之间共同环境相似度更高,也就是说有可能高估了遗传度。

同时本研究中,经t检验发现男性血尿酸略高于女性,但是在运用Mx软件构建限制性性别模型对遗传变异进行分析时,通过校正性别、年龄和BMI,得出遗传因素对男女性血尿酸水平的影响是没有差异的。这可能表明男女性尿酸表型的差异可能与样本BMI不同有关。同时,也有许多研究表明肥胖是影响高尿酸血症和痛风的主要因素之一,从而BMI的大小将会直接影响尿酸水平的高低^[21,22]。

本研究是国内率先利用双生子样本,运用Mx

表3 运用ACE性别限制模型对尿酸表型模拟结果(年龄、性别和BMI校正后)[OR值95%CI]

	模型1(全模型)	模型2($r_0=0.5$)	模型3($r_0=0.5$ 和 $f=m$)	模型4*($r_0=0.5$ 的AE模型)	模型5($r_0=0.5$ 的CE模型)
A_r	0.4713(0.1316~0.7299)	0.6605(0.1486~0.7370)	0.6179(0.4243~0.7422)	0.7052(0.6585~0.7458)	-
C_r	0.2027(0~0.5200)	0.0165(0~0.5032)	0.0852(0~0.2666)	-	0.5821(0.5304~0.6295)
E_r	0.3260(0.2625~0.4050)	0.3231(0.2609~0.3998)	0.2969(0.2554~0.3451)	0.2948(0.2542~0.3415)	0.4179(0.3705~0.4696)
A_m	0.4496(0.1555~0.7666)	0.4366(0.1440~0.7737)	0.6179(0.4243~0.7422)	0.7052(0.6585~0.7458)	-
C_m	0.2812(0~0.5611)	0.2937(0~0.5712)	0.0852(0~0.2666)	-	0.5821(0.5304~0.6295)
E_m	0.2692(0.2187~0.3317)	0.2696(0.2189~0.3326)	0.2969(0.2554~0.3451)	0.2948(0.2542~0.3415)	0.4179(0.3705~0.4696)
-2LL	5074.559	5075.417	5082.601	5083.299	5128.706
df	1361	1362	1365	1366	1366
AIC	2352.559	2351.417	2352.601	2351.299	2396.706
$\Delta\chi^2$		0.858	8.042	8.74	54.147
Δdf		1	4	5	5
P值		0.354	0.09	0.12	<0.0001

注:模型1: r_0 变化; $A_m \neq A_r, C_m \neq C_r, E_m \neq E_r$; 模型2: r_0 指定为0.5, $A_m \neq A_r, C_m \neq C_r, E_m \neq E_r$; 模型3: r_0 指定为0.5; $A_m = A_r, C_m = C_r, E_m = E_r$; 模型4和模型2一样,但是剔除 C_r 和 C_m ; 模型5和模型2一样,但是剔除 A_r 和 A_m ; A:加性遗传方差; C:共同环境方差; E:特殊环境方差; $\Delta\chi^2$:子模型与全模型的拟合优度 χ^2 之差; Δdf :子模型与全模型的自由度之差; *最佳模型

软件构建结构方程模型来分析影响尿酸水平的遗传和环境作用,得出尿酸的遗传度为70.5%。本研究和分析方法,比家系研究和经典的遗传度计算方法能精确计算出遗传度。因此本研究方法,将会为今后探索影响尿酸水平的基因分子遗传学研究提供依据。

参 考 文 献

[1] Ye RG. Internal medicine. Beijing: People's medical Publishing House, 2000: 877-883. (in Chinese)
叶任高. 内科学. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 877-883.

[2] Fang Y, You K, Lin QS, et al. The study of serum uric acid in Chinese normal populations and its relation with blood fat. Chin J Internal Medicine, 1983, 22(7): 434-438. (in Chinese)
方圻, 游凯, 林其燧, 等. 中国正常人血尿酸调查及其与血脂的关系. 中华内科杂志, 1983, 22(7): 434-438.

[3] Xu XF, Jiang BF, Zhang YC, et al. The level of serum uric acid and its significance in gout screening. ACTA Aeadmiae Medicinae, 1999, 15(3): 205-206. (in Chinese)
徐晓非, 姜宝法, 张源潮, 等. 山东沿海地区人群血尿酸水平及其在痛风筛查中的意义. 中国公共卫生, 1999, 15(3): 205-206.

[4] Du H, Chen SL, Wang Y, et al. The epidemiology of hyperuricemia and gout in a community population of Huangpu district in Shanghai. Chin J Rheumatol, 1998, 2(2): 75-78. (in Chinese)
杜慧, 陈顺乐, 王员, 等. 上海市黄浦区社区高尿酸血症与痛风流行病学调查. 中华风湿病学杂志, 1998, 2(2): 75-78.

[5] Zhang XS, Yu WG, Yu LX, et al. An epidemiologic study on hyperuricaemia and gout in residents of coastal areas of Haiyang city in Shandong. Chin J General Practitioners, 2006, 5(4): 216-219. (in Chinese)
张学顺, 于文广, 于丽霞, 等. 山东省海阳市社区居民高尿酸血症与痛风流行病学调查. 中华全科医师杂志, 2006, 5(4): 216-219.

[6] Tomita M, Mizuno S, Yamanaka H, et al. Does hyperuricemia affect mortality? A prospective cohort study of Japanese male workers. J Epidemiol, 2000, 10: 403-409.

[7] Culleton BF, Larson MG, Kannel WB, et al. Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: the Framingham Heart Study. Ann Int Med, 1999, 131: 7-13.

[8] Alderman M, Aiyer KJ. Uric acid: role in cardiovascular disease and effects of losartan. Curr Med Res Opin, 2004, 20: 369-379.

[9] Tsunoda S, Kamide K, Minami J, et al. Decreases in serum uric acid by amelioration of insulin resistance in overweight hypertensive patients: effect of a low energy diet and insulin sensitizing agent. Am J Hypertens, 2002, 15: 697-701.

[10] Li QN, Zhan SY, Lv J, et al. Heritability of insulin sensitivity in

twins. J Peking University(Health Sciences), 2003, 35(6): 591-595. (in Chinese)
李群娜, 詹思延, 吕筠, 等. 双生子胰岛素敏感性的遗传度估计. 北京大学学报(医学版), 2003, 35(6): 591-595.

[11] Lise B, Corrado F, Lene C, et al. Heritability of biochemical kidney markers and relation to survival in the elderly—results from a Danish population-based twin study. Clinica Chimica Acta, 2004, 349: 143-150.

[12] Middelberg RPS, Medland SE, Martin NG, et al. A longitudinal genetic study of uric acid and liver enzymes in adolescent twins. Twin Research and Human Genetics, 2007, 10(5): 757-764.

[13] Whitfield JB, Martin NG. Inheritance and alcohol as factors influencing plasma uric acid levels. Acta Genet Med Gemellol, 1983, 32: 117-126.

[14] Zhang ZW, Wang ZL, Wang JH. Familial heredity of metabolic markers in patients with primary gout. Med J Chin People's Armed Police Forces, 2004, 15(2): 101-104. (in Chinese)
张振文, 王正伦, 王建华. 原发性痛风代谢指标的遗传研究. 武警医学, 2004, 15(2): 101-104.

[15] Kalousdian S, Fabsitz R, Havlik R, et al. Heritability of clinical chemistries in an older twin cohort: the NHLBI Twin Study. Genet Epidemiol, 1987, 4: 1-11.

[16] Park KS, Inouye E, Asaka A. Plasma and urine uric acid levels: heritability estimates and correlation with IQ. J Human Genetics, 1980, 25: 193-202.

[17] Rice T, Vogler GP, Perry TS, et al. Heterogeneity in the familial aggregation of fasting serum uric acid level in five North American populations: the uipid tesearch clinics family study. Am J Med Genet, 1990, 36: 219-225.

[18] Pang ZC, Ning F, Unger J, et al. The Qingdao twin registry: a focus on chronic disease research. Twin Res Hum Genet, 2006, 9(6): 758-762.

[19] Tomsey CS, Kurtz M, Kist F, et al. Comparison of PowerPlex 16, PowerPlex1.1/2.1, and ABI AmpflSTR Proler Plus/COler for forensic use. Croat Med J, 2001, 42: 239-243.

[20] Neale MC, Cardon LR. Methodology for genetic studies of twins and families. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 1992.

[21] Subrata D Nath, Saroja Voruganti, Nedal H Arar, et al. Genome scan for determinants of serum uric acid variability. J Am Society of Nephrol, 2007, 18: 3156-3163.

[22] He Q. The etiology and epidemiology of hyperuricemia and gout. Chin J Clinician, 2009, 37(1): 11-13. (in Chinese)
何清. 高尿酸血症和痛风的病因与流行病学. 中国临床医师, 2009, 37(1): 11-13.

(收稿日期: 2009-10-14)

(本文编辑: 尹廉)