

·论著·

绝经前女性双生子前臂桡骨骨密度的遗传度分析

洪秀梅 王大勇 倪佳桐 李志平 袁森林 徐希平

【摘要】 目的 探讨绝经前女性前臂桡骨骨密度值的遗传度大小及其在年龄上的变化趋势。**方法** 根据统一的问卷收集 443 对 5~55 岁女性双胞胎的人口学特征及环境资料,利用 Norland 公司生产的周末双能 X 线吸收骨密度仪(pDEXA)测量前臂桡骨骨密度。将研究对象分成 5~、20~、35~ 三个年龄组,根据经典的双生子模型进行遗传度分析。**结果** 同卵双生子(MZ)为 272 对,异卵双生子(DZ)为 171 对;经 t 检验,5~ 及 20~ 年龄组中 MZ 的骨密度对内差值显著性小于 DZ;方差分析结果表明 MZ 及 DZ 的对内均方显著性低于对间均方,这种趋势在 MZ 中更为显著;另我们发现各年龄组中 MZ 对内相关系数均大于 DZ, MZ 的对内相关系数随年龄呈显著性降低; MZ 与 DZ 对内相关系数的差异随年龄而降低;根据 Falconer 公式,前臂桡骨骨密度遗传度介于 0.2~0.6 之间,平均遗传度值为 0.474,5~ 年龄组及 20~ 年龄组的遗传度略高于 35~ 年龄组。**结论** 遗传因素与前臂骨密度值的大小密切相关,并且遗传度值随年龄有下降趋势。

【关键词】 骨密度; 双生子模型; 对内相关系数; 遗传度

Heritability of forearm radial bone mineral density in premenopausal female twins. HONG Xiumei, WANG Dayong, NI Jiatong, et al. Anhui Medical University Institute of Biomedicine. Hefei 230032, China

【Abstract】 Objective To investigate the heritability of female forearm proximal radial bone mineral density (BMD) and its change with age. **Methods** With a standard questionnaire, information on sociodemographic and environmental variables was obtained from 443 pairs of premenopausal twins aged 5—55 years. The forearm radial BMD was measured by peripheral dual-energy X-ray absorptiometry (pDEXA). All subjects were divided into three age groups, and the classic twin model was applied to analysis. **Results** There were 272 monozygotic twins (MZ) and 171 dizygotic twins (DZ). Student's t test showed that in 5- and 20- age groups, within-pair BMD differences in MZ were significantly lower than those in DZ. Variance analysis showed that in each age group, within-pair variances of MZ and DZ were lower than between-pair variance, and such trend was stronger in MZ. Moreover, we found that within-pair correlation coefficient of MZ (R_{MZ}) was larger than that of DZ (R_{DZ}) in all age groups. R_{MZ} tended to decrease with age, while R_{DZ} changed insignificantly with age. The difference between R_{MZ} and R_{DZ} appeared to decrease with age. According to Falconer, the heritability of forearm radial BMD was 0.2—0.6, while the average heritability in our study was 0.474, heritability value in 5- age group and 20- age group were larger than that in 35- age group. **Conclusions** Genetic factors significantly affect proximal radial BMD and its heritability tends to decrease with age.

【Key words】 Bone mineral density; Twin model; Intra-pair correlation coefficient; Heritability

髌部、脊椎及前臂骨骨矿物质密度值(骨密度, BMD)是骨质疏松症发病的一个强有力的预测因素^[1],因而对这些部位骨密度的研究将为骨质疏松症病因学提供线索。近年来,国内外大量的研究结果表明,年龄、体重^[2]是骨密度变化的一个主要影响因素,生活方式如钙及维生素 D 的摄入、体育锻炼、吸烟、饮酒等虽对骨密度值具有一定的影响,但只能

解释人群中 10% 的变异^[3]。

1996 年 Seeman 等^[4]在成年女性双胞胎的研究中发现:经年龄校正后,同卵双生子(MZ)腰椎骨和股骨骨密度的对内相关系数显著高于异卵双生子(DZ),两者遗传度约为 0.6~0.8,高于高血压的遗传度(遗传度为 0.3)^[5]。Nguyen^[6]等亦得出类似的结果,这提示着遗传因素对骨密度值存在着重要的影响。但骨密度存在着种族差异,而在中国人群中尚未有骨密度遗传度方面的报道。因此笔者自 1998 年在安徽省对 443 对 15 岁以上的绝经前女性

双胞胎进行骨密度的调查,旨在探索:①未绝经妇女前臂桡骨骨密度是否具有遗传倾向及其遗传度的大小;②骨密度的遗传度在年龄上的变动趋势。

材料和方法

1. 人群的选择:

以5~55岁绝经前女性双胞胎作为研究的目标人群,以普查的方式在某地区进行调查。研究对象的人选要求为:双胞胎均健在,均无甲状腺、甲状旁腺疾病史,无糖尿病、恶性肿瘤、性腺发育不全、骨软化、支气管哮喘、风湿性关节炎等病史,无雌激素、糖皮质激素服用史。

2. 资料的收集

在征得研究对象同意后,由当地经培训的医务人员进行问卷及体格检查。问卷内容包括:①人口学特征如出生日期、居住地、职业、教育程度、疾病史等;②生活习惯如吸烟、饮酒、饮茶、饮食等;③生殖生育信息如月经初潮年龄、是否绝经、是否服用避孕药等。体检内容包括身高、体重、骨密度、肺功能等。身高利用固定于墙上的皮尺来测量,结果精确至0.1 cm;体重由质检所验证合格的磅秤上测量,结果精确至0.1 kg。

3. 骨密度的测量

通过Norland公司生产的周末双能X线吸收仪(pDEXA, 3.3版本)测量非优势前臂骨密度。这种仪器以X线为光源产生两种光子,利用计算机分析检测器所检出的光子衰减程度,来估计测量部位的面积骨密度(g/cm^2),具有X线辐射量少,精确度高等特点。在使用上要求:每天使用前用标准骨模型校正仪器;前臂尽可能平放在扫描器表面,掌心向下;尺骨头距仪器的支撑座约1 cm左右,并使尺骨头和仪器上的标记在一条直线上;保持前臂与后臂呈90度。前臂桡骨骨密度扫描区为前臂桡骨近端1/3处,扫描范围为:1.0 mm²。所有研究对象的骨密度均由同一专职测量员完成,因而调查员间的误差较小。

4. 双胞胎卵性鉴定

根据MZ基因型完全相同而DZ的基因型有50%相同的原理,我们对双胞胎进行基因型鉴定,方法为:①选用8个多态性很高的微卫星标记(选自Weber的第9版扫描组):D9S1118, D17S1293, D3S2427, D4S2639, D7S513, D8S1130, D11S2000, D1S2141,要求这8个标记在不同的染色体上;②在

ABI377上进行基因组扫描,通过Genotyping软件进行基因型分析;③比较同胞的基因型,如完全相同,则判断为同卵,如不完全相同,则为异卵。此外结合血型及双胞胎外表相似程度及其父母所提供的出生时胎盘个数等信息作为卵性辅助检查。此方法与现使用的亲子鉴定试剂盒类似。

5. 统计分析

为消除环境因素的影响,对前臂桡骨骨密度进行校正,校正方法为:对前臂桡骨骨密度及环境因素(年龄、体重、身高、同居一室年限、体力劳动强度、教育水平等)进行回归分析,以对骨密度存在显著性影响的环境因素作为校正变量,建立GLM回归模型,校正方程为:前臂桡骨骨密度值 = $\beta_0 + \beta_1$ (校正因素1) + β_2 (校正因素2) + ... + ϵ 以残差值(ϵ)作为分析的结果变量^[7]。

本文分析分几个步骤:①我们根据骨密度在年龄上的大致分布趋势,将人群分为3组:5~岁年龄组,20~岁年龄组及35~岁年龄组。分析各年龄组中骨密度对内差在MZ及DZ间的差异;②分别对MZ及DZ进行方差分析;③分析各年龄组的双生子对内相关系数以反映双生子间的相似程度,计算方法为:将MZ及DZ的总体均方分成二部分:对内均方(WMS)及对间均方(BMS),双生子(MZ或DZ)对内相关系数为: $R = (BMS - WMS) / (BMS + WMS)$;④根据Falconer公式 $HR = 2(R_{MZ} - R_{DZ})^{[8]}$,计算骨密度的遗传度,分析其在年龄上的变化趋势。

结果和分析

本次研究共包括443对双生子,根据上述卵性鉴定方法:MZ为272对,DZ为171对,其中5~岁年龄组有91对DZ、153对MZ,20~岁年龄组有61对DZ、87对MZ,35~岁年龄组有19对DZ、32对MZ。这些人群均来自于农村地区,生活习惯、居住环境相似,具有同质性。

1. 一般人口学特征

在各年龄组的MZ及DZ间,身高、体重、年龄、初潮年龄、同住一室年限、被动吸烟及体力劳动强度均不存在明显的差异,但文盲所占比例在DZ中略高于MZ(见表1);在5~岁年龄组中,有137对MZ(占89.54%)及83对DZ(88.89%)至调查日仍居住在一室,而在20~岁年龄组中的双生子同住一室的比例明显减少;值得一提的是各年龄组的吸烟、饮酒人群所占比例极低,在20~岁年龄组95%以上的人群均不吸烟。

表 1 457 对女性双生子的一般人口学特征

变量名	5 ~		20 ~		35 ~	
	DZ(182 人)	MZ(306 人)	DZ(122 人)	MZ(174 人)	DZ(38 人)	MZ(64 人)
年龄(M $\pm$ SD 岁)	11.18 $\pm$ 2.82	11.27 $\pm$ 3.02	29.44 $\pm$ 3.88	28.58 $\pm$ 3.76	40.33 $\pm$ 5.07	38.41 $\pm$ 6.65
初潮年龄(M $\pm$ SD 岁)	13.68 $\pm$ 1.14	13.71 $\pm$ 1.20	15.19 $\pm$ 1.74	14.95 $\pm$ 1.62	16.25 $\pm$ 2.33	16.07 $\pm$ 2.08
体重(M $\pm$ SD kg)	27.63 $\pm$ 9.06	27.93 $\pm$ 9.51	48.81 $\pm$ 6.82	48.37 $\pm$ 5.89	49.63 $\pm$ 5.51	51.93 $\pm$ 8.51
身高(M $\pm$ SD m)	1.32 $\pm$ 0.14	1.32 $\pm$ 0.13	1.53 $\pm$ 0.06	1.52 $\pm$ 0.05	1.52 $\pm$ 0.05	1.52 $\pm$ 0.07
身高体重指数(M $\pm$ SD kg/m ²)	15.49 $\pm$ 2.37	15.62 $\pm$ 2.57	20.93 $\pm$ 2.21	21.00 $\pm$ 2.18	21.25 $\pm$ 2.04	22.25 $\pm$ 2.50
同居一室的时间(M $\pm$ SD 年)	10.41 $\pm$ 3.11	10.63 $\pm$ 3.56	17.55 $\pm$ 6.35	18.37 $\pm$ 5.56	17.00 $\pm$ 7.60	16.31 $\pm$ 8.17
吸烟率(%)	0	0	4.9	2.8	5.6	4.7
被动吸烟率(%)	0.5	0.7	59.0	53.4	75.8	70.3
饮酒率(%)	0	0	0.8	2.3	2.8	3.1
体力劳动强度 轻(%)	87.4	80.4	23.0	25.0	13.9	18.8
中(%)	6.0	15.7	54.9	48.3	47.2	51.6
重(%)	6.6	3.9	22.1	26.7	38.9	29.7
受教育水平 <3 年(%)	6.6	1.8	34.4	28.4	61.1	53.1
小学(%)	62.6	69.9	54.1	52.3	19.4	31.3
初中及以上(%)	30.7	22.2	11.5	19.3	19.4	15.6
目前同居一室比率(%)	89.0	89.5	3.3	6.8	0	0

2. 校正前后骨密度均值及其对内差值的分析

各年龄组的骨密度均值如表 2。对骨密度与年龄、身高、体重、同胞同居一室年限、教育水平、体力劳动强度、吸烟、饮酒等环境因素进行多元回归分析,发现我们的研究对象中,年龄是骨密度的主要影响因素,体重、同胞同居一室年限对骨密度的影响均达到显著性水平,经散点图分析,骨密度与年龄呈明显的曲线关系,而与其他两个影响因素的关系近

似直线,因而对前臂骨密度根据年龄(以立方关系^[3])、体重(以直线关系^[6])、及同居一室年限(以直线关系)进行的校正,校正后的骨密度残差均值及对内差值见表 2。 t 检验结果表明:除了 35 ~ 年龄组外,骨密度均值及骨密度残差值在 MZ 及 DZ 间无显著性差异;MZ 的对内差值,在校正前后,均有显著性低于 DZ 的趋势,这种趋势在 5 年龄组中最为显著($P=0.0003$),而在 35 年龄组中未达到显著性水平。

表 2 各年龄段 MZ、DZ 校正*前后骨密度均值及对内差值(M $\pm$ SD g/cm²)

	5 ~			15 ~			35 ~		
	DZ	MZ	P	DZ	MZ	P	DZ	MZ	P
骨密度均值									
校正前	0.46 $\pm$ 0.12	0.45 $\pm$ 0.11	0.555	0.77 $\pm$ 0.07	0.76 $\pm$ 0.08	0.349	0.74 $\pm$ 0.08	0.79 $\pm$ 0.08	0.0037
校正后 ¹	0.00 $\pm$ 0.07	0.00 $\pm$ 0.06	0.169	0.00 $\pm$ 0.07	0.00 $\pm$ 0.08	0.587	-0.02 $\pm$ 0.08	0.02 $\pm$ 0.07	0.025
对内差值 ²									
校正前	0.04 $\pm$ 0.04	0.02 $\pm$ 0.02	0.0001	0.05 $\pm$ 0.04	0.03 $\pm$ 0.03	0.015	0.05 $\pm$ 0.04	0.04 $\pm$ 0.03	0.192
校正后	0.04 $\pm$ 0.04	0.02 $\pm$ 0.02	0.0003	0.05 $\pm$ 0.04	0.04 $\pm$ 0.03	0.0038	0.05 $\pm$ 0.05	0.05 $\pm$ 0.03	0.627

注:*指根据 GLM 回归模型对前臂桡骨骨密度值进行校正

校正方程为:前臂桡骨骨密度值= $\beta_0 + \beta_1 \times \text{年龄} + \beta_2 \times \text{年龄平方} + \beta_3 \times \text{年龄立方} + \beta_4 \times \text{体重} + \beta_5 \times \text{双胎同居一室的时间} + \varepsilon$

¹ 校正后骨密度均值:指根据环境因素校正后所得的骨密度残差的均值

² 对内差值为观测间相应值(骨密度值或校正后骨密度残差值)之差的绝对值。P 值为各年龄段 MZ 及 DZ 间骨密度均值或骨密度对内差值的比较结果

3. 校正后骨密度的遗传度分析

表3为各年龄组MZ及DZ经校正后前臂桡骨骨密度的方差分析表。对各组中MZ、DZ的总均方进行方差齐性检验,结果未达显著性水平;分别对

MZ及DZ进行方差分析,发现在各年龄组内,无论是MZ还是DZ,对内均方显著性低于对间均方,并在MZ中更为明显,这表明骨密度值可能在双生子,尤其是MZ中存在着对内聚集现象。

表3 各年龄组同卵、异卵双生子经年龄等校正后前臂桡骨骨密度值方差分析表

年龄组	对数	MZ			对数	DZ		
		MS	BMS	WMS		MS	BMS	WMS
5~	153	0.0060	0.0055	0.0005**	91	0.0072	0.0056	0.0016**
20~	87	0.0099	0.0088	0.0011**	61	0.0094	0.0072	0.0022**
35~	32	0.0113	0.0098	0.0015**	18	0.0143	0.0117	0.0026**
合计	272	0.0079	0.0071	0.0008**	171	0.0088	0.0069	0.0019**

注:MS表示MZ或DZ的差值总均方,BMS表示双生子对间差值均方,WMS表示双生子对内差值均方 $\pm 1.96 \times$ 标准误差方差分析方程为: $F = BMS/WMS$, ** $P < 0.01$

表4中列出双胞胎中校正后骨密度的对内相关系数及其遗传度。在我们的研究人群中,各年龄组及总体的对内相关系数在MZ(R_{MZ})及DZ(R_{DZ})均达到显著性水平, R_{MZ} 随年龄有降低趋势,而 R_{DZ} 中这种趋势未达到显著性水平; R_{MZ} 高于 R_{DZ} ,但同年龄组中 R_{MZ} 与 R_{DZ} 之差随年龄增长有降低的趋势;各年龄组校正后的骨密度遗传度介于0.2~0.6之间,总体校正遗传度为0.474,在35岁以后的人群中遗传度较低,为0.192。

表5 各年龄组同卵及异卵双生子经年龄、身高、体重等环境因素校正后前臂桡骨骨密度的对内相关系数及遗传度

年龄组	对内相关系数		遗传度
	R_{MZ} (95% CI)	R_{DZ} (95% CI)	
5~	0.835(0.831~0.839)	0.551(0.536~0.566)	0.568
20~	0.785(0.776~0.794)	0.53(0.507~0.553)	0.510
35~	0.736(0.708~0.764)	0.640(0.578~0.702)	0.192
合计	0.798(0.795~0.801)	0.561(0.553~0.569)	0.474

讨 论

1. 方法学上的讨论

本研究采用双生子法来研究前臂桡骨骨密度的遗传性。双生子法是研究环境因子和遗传因子对特定性状作用大小的一种经典的方法,它的理论依据为同卵双生子在遗传上完全相似而异卵双生子只有

50%相似,比较同卵双生子对间和异卵双生子对间在某种特性或表型上的经历,如果同卵双生子对间的相似程度大于异卵双生子,这多出的相似程度归因于遗传因素^[9],此研究方法假设:同卵双生子与异卵双生子的共同环境因素相同,遗传与环境因素不存在交互作用。这种方法已广泛被用于复杂疾病的遗传研究,但至今为止,双生子法存在着一些争议,如:McGuffin^[10]认为在研究对象的选择上,通过知情者报告的方式来获取样本将可能使同卵双生子比异卵双生子更容易进入研究对列,导致人群的选择偏性;Thorkild^[11]认为与异卵双生子相比,同卵双生子更易被人同等对待,其共同环境因素作用可能大于异卵双生子。

我们针对双生子法可能存在的缺陷,在研究设计上做了些补救措施:在研究地点的确定上,选择人口流动性小,同质性好的几个乡镇,使研究对象的周围环境、生活习惯等大致相同;在样本的收集,以普查的方式来代替以往的知情者报告方式,从而很好地避免了人群的选择偏性;在分析上以消除了环境影响因素(年龄、体重、同胞同居一室的年限)的骨密度残差值作为分析变量,而其他环境因素如生活方式(如饮酒、吸烟)、饮食、运动等在MZ及DZ分布基本相似,并饮酒、吸烟等所占比例极小,同时它们对骨密度的作用尚未达到显著性水平,因而不会对双生子对内相似性有多大影响^[12];同时我们亦未发现身高对女性骨密度存在显著性作用等。这为本次研究采用双生子模型来估计遗传度的合理性提供了

保障。

2. 对结果的分析与讨论

在我们所调查的5~55岁女性双胞胎的前臂桡骨骨密度值中,经年龄、体重、同胞同居一室年限等校正后,MZ的骨密度对内差值显著性低于DZ;MZ的对内相关系数介于0.73~0.85左右,高于DZ值,这均表明了前臂桡骨骨密度值具有遗传倾向,在我们的人群中,5~、20~及35~年龄组女性骨密度的遗传度分别为0.568、0.510及0.192,总体遗传度为0.472,略低于Seeman^[4]的结果。

在MZ或DZ中,骨密度的总变异度均有随年龄而增长的趋势,且MZ的对内相关系数随年龄呈显著性降低趋势,我们认为这可能由遗传与环境因素共同导致,其可能的原因为:①20岁以后的双胞胎开始在一起居住的比例极低,开始有自己独特的生活方式和生活经历,这种环境因素的变化必然影响每一位双胞胎的骨密度,导致个体之间骨密度值变异度的增加^[12];②骨密度受多个基因影响,某些基因仅在特定的年龄段上影响骨密度值,如在青春控制骨增长峰值等;另外遗传与环境因素的交互作用^[13]也可能导致骨密度值总变异度发生变化,但分析交互作用要求具备特殊的研究设计与大样本^[13]。

Slemenda^[14]等对成年女性双胎前臂总骨密度值的研究中发现MZ与DZ对内相关系数的差异随年龄而有所降低,Flicker等发现在老年女性、前臂骨密度的MZ与DZ相关系数相似,均在0.6左右;在本次研究中发现:在5~年龄组,MZ的相关系数显著高于DZ,而在35~年龄组,DZ与MZ的对内相关系数差别明显降低,其遗传度值也相应下降,仅为0.192,这提示在遗传对骨密度的影响随年龄呈下降趋势,在35岁以后女性前臂桡骨骨密度主要受环境因素影响。

但本研究也存在一些不足之处,如:由于研究人群均来自于同一个地区,不能很好地代表一般人群,这将影响着我们的研究结果的外推;未考虑遗传与环境的交互作用,可能导致分析结果发生一定的偏差等,因而有必要在本研究的基础上进一步通过扩大样本量,改进统计分析方法等途径来重复本次研

究结果。

总之,本研究提示前臂桡骨远端骨密度具有遗传倾向,遗传度随年龄有下降趋势。因而筛选有骨质疏松家族史的人群作为高危人群进行早期预防将有助于减少骨质疏松症的发生率。

参 考 文 献

1. Hu SL, Slemenda CW, Johnston CC. Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study. *J Clin Invest*, 1988, 81: 1804-1809.
2. Xu X, Niu T, Chen C, et al. Forearm bone mineral density in Chinese women: a community-based study. *Clin Densitometry*, 1998, 1: 149-156.
3. Hopper JL, Green RM, Nowson CA, et al. Genetic, common environment, and individual specific components of variance for bone mineral density in 10- to 26-year-old females: a twin study. *Am J Epidemiol*, 1998, 147: 17-29.
4. Seeman E, Hopper JL, Young NR, et al. Do genetic factors explain associations between muscle strength, lean mass, and bone density? A twin study. *Am J Physiol*, 1996, 270: E320-327.
5. Sing CF, Moll PP. Genetics of variability of CHD risk. *Int J Epidemiol*, 1989, 18(3 Suppl): S183-195.
6. Nguyen TV, Howard GM, Kelly PJ, et al. Bone mass, lean mass and fat mass: same genes or same environments? *Am J Epidemiol*, 1998, 147: 3-16.
7. Wang X, Wang B, Chen C, et al. Familial aggregation of blood pressure in a rural Chinese community. *Am J Epidemiol*, 1999, 149: 412-420.
8. Falconer D. Introduction to quantitative genetics. 2nd ed. New York: Ronald Press, 1981. 158.
9. Page WF. Annotation: The National Academy of Sciences-National Research Council Twin Registry. *Am J Pub Health*, 1995, 85: 617-618.
10. McGuffin P, Owen MJ, Farmer A. Genetic basis of schizophrenia. *Lancet*, 1995, 346: 678-682.
11. Thorkild AS, Sorensen IA. The genetic of obesity. *Metabolism*, 1995, 44(9) (Suppl 3): 4-6.
12. Hopper JL. Variance components for statistical genetics: applications in medical research to characteristics related to human disease and health. *Stat Methods Med Res*, 1994, 2: 199-133.
13. Young D, Hopper JL, Nowson CA, et al. Determinants of bone mass in 10 to 26 year old females: a twin study. *J Bone Miner Res*, 1995, 10: 558-567.
14. Slemenda CW, Christian JC, Williams CJ, et al. Genetic determinants in elderly women: a reevaluation of the twin model and potential importance of gene interaction on heritability estimates. *J Bone Miner Res* 1995, 10: 1607-1613.