

总摄氟量与成人血清骨钙素的相关关系及其基准剂量

刘伯¹, 涂青云², 张明访¹, 刘康¹, 向全永³

1. 江苏省泗洪县疾病预防控制中心, 江苏 泗洪 223900;

2. 东南大学公共卫生学院, 江苏 南京 210009; 3. 江苏省疾病预防控制中心, 江苏 南京 210009

摘要: **目的** 探讨总摄氟量与血清骨钙素的剂量-效应关系及总摄氟量的基准剂量(benchmark dose, BMD), 为氟骨症防治及总摄氟量标准的修订提供参考。 **方法** 选择瓦庙村和新淮村为调查点, 以家庭手压井饮水氟含量为依据, 分别从瓦庙村和新淮村分层随机抽取 103 名和 43 名成年常住居民为被调查对象, 调查内容包括家庭饮水和食物中氟含量, 每日各种食物、饮水的摄入量, 检测室内外空气中氟含量和血清骨钙素含量。计算每日总摄氟量, 并根据每日总摄氟量将被调查对象分为四组: A 组的总摄氟量为 $\leq 1.16 \text{ mg}/(\text{人} \cdot \text{d})$ 、B 组 $> 1.16 \text{ mg}/(\text{人} \cdot \text{d})$ 、C 组 $> 3.48 \text{ mg}/(\text{人} \cdot \text{d})$ 、D 组 $> 4.99 \text{ mg}/(\text{人} \cdot \text{d})$, 分别统计各组血清骨钙素含量及血清骨钙素的异常率。 **结果** 瓦庙村居民的总摄氟量和血清骨钙素显著高于新淮村($P < 0.01$)。随着总摄氟量的增加, 血清骨钙素含量逐渐增加, 血清骨钙素的异常率也逐渐增加, 总摄氟量与血清骨钙素及血清骨钙素异常率有显著的剂量-效应关系。依据血清骨钙素的异常率计算的总摄氟量的基准剂量和基准剂量下限(benchmark dose lower limitation, BMDL)分别为 $1.00 \text{ mg}/(\text{人} \cdot \text{d})$ 和 $0.67 \text{ mg}/(\text{人} \cdot \text{d})$ 。 **结论** 骨钙素可能是氟接触人群骨损伤早期筛查的敏感指标; 按照骨钙素计算的总摄氟量的 BMDL 显著低于国家总摄氟量标准。

关键词: 总摄氟量; 骨钙素; 剂量-效应关系; 基准剂量

中图分类号: R599.9 文献标识码: A 文章编号: 1006-3110(2019)03-0257-04 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2019.03.001

Relationship between the daily total intake of fluoride and serum osteocalcin in adults and its benchmark dose

LIU Bo¹, TU Qing-yun², ZHANG Ming-fang¹, LIU Kang¹, XIANG Quan-yong³

1. Sihong County Center for Disease Control and Prevention, Sihong, Jiangsu 223900, China;

2. School of Public Health, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210009, China;

3. Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Nanjing, Jiangsu 210009, China

Corresponding author: XIANG Quan-yong, E-mail: quanyongxiang@vip.sina.com

Abstract: **Objective** To explore the dose-response relationship between total fluoride intake and serum osteocalcin and the benchmark dose (BMD) of total fluoride intake so as to provide references for prevention and control of endemic skeletal fluorosis and revision of the national standard for total fluoride intake. **Methods** Wamiao and Xinhui villages were selected as the investigation sites. Based on the fluoride concentration in drinking water in the household hand-pressed wells, a stratified random sampling method was used to recruit 103 adult permanent residents from Wamiao village and 43 from Xinhui village. The surveyed contents included fluoride concentration in drinking water and food, daily intake of various foods and drinking water, and detection of fluoride in indoor and outdoor air and serum osteocalcin level. The daily total fluoride intake was calculated, and then all the subjects were divided into four groups (including groups A, B, C and D with the total fluoride intake $\leq 1.16 \text{ mg}/(\text{person} \cdot \text{day})$, $> 1.16 \text{ mg}/(\text{person} \cdot \text{day})$, $> 3.48 \text{ mg}/(\text{person} \cdot \text{day})$ and $> 4.99 \text{ mg}/(\text{person} \cdot \text{day})$ respectively) according to the daily total fluoride intake. The serum osteocalcin level and the abnormal rate of serum osteocalcin in each group were statistically analyzed.

Results The total fluoride intake and serum osteocalcin in the residents of Wamiao village were significantly higher than those in the residents of Xinhui village (both $P < 0.01$). Serum osteocalcin level and the abnormal rate of serum osteocalcin gradually increased with the increment of total fluoride intake. There was a significant dose-response relationship between the total fluoride intake and serum osteocalcin, serum osteocalcin abnormal rate. The BMD and the benchmark dose lower limitation (BMDL) of total fluoride intake calculated based on the abnormal rate of serum osteocalcin were $1.00 \text{ mg}/(\text{person} \cdot \text{day})$ and $0.67 \text{ mg}/(\text{person} \cdot \text{day})$ respectively. **Conclusions** Osteocalcin may be a sensitive indicator for early screening of bone injury in people exposed to fluoride. The BMDL of total fluoride intake calculated according to osteocalcin is significantly lower than that of the national standard.

Key words: daily total intake of fluoride; osteocalcin; dose-response relationship; benchmark dose

基金项目: 国家自然科学基金项目(81273015)

作者简介: 刘伯(1973-), 男, 副主任医师, 主要从事环境疾病的预防和控制工作。

通信作者: 向全永, E-mail: quanyongxiang@vip.sina.com。

我国饮水型和燃煤型氟中毒病区中,氟斑牙和氟骨症总患病人数分别为 3 503.279 万人和 327.09 万人,因此氟中毒是我国流行广泛的公共卫生疾病,严重威胁着中国人民的健康^[1]。氟骨症的骨骼损害,包括骨硬化、骨软化、骨质疏松、骨周软组织化骨以及软骨和关节的退行性改变。其中成骨活跃和骨转换加速是氟骨症进展期的一个重要特征,也是形成骨病变多样性的病理基础^[2]。骨钙素是由成骨细胞产生和分泌的一种非胶原蛋白,主要功能是维持骨正常的矿化速率,增加破骨细胞的募集和分化,是骨形成和骨转换的特异性标志物^[3],因此骨钙素在氟骨症的发生发展过程中有重要意义。

基准剂量(benchmark dose, BMD)是一个使某种反应增加到某一个特定水平剂量的一个新的概念,该特定水平下的反应就是基准剂量反应(benchmark reaction, BMR);BMR 可以有效避免使用不能反应生物学真实性的模型来进行低剂量外推时的一些不肯定因素,从数学角度理解并发展了剂量-效应关系^[4]。

为探讨总摄氟量与骨钙素的剂量-效应关系,计算总摄氟量的基准剂量,从而为地方性氟中毒骨损伤早期筛查和总摄氟量标准的修订提供科学依据。本研究对在江苏省泗洪县随机抽取的 103 名氟接触组和 43 名对照组 36~80 岁居民进行问卷调查、总摄氟量和血清骨钙素测定,然后推算其基准剂量,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 调查地点 泗洪县是 1985 年被确定为地方性氟中毒病区,本次调查的瓦庙村为高氟暴露区(2002 年普查结果显示该村手压井的饮水氟浓度 0.57~4.50 mg/L),新淮村为非氟暴露区(2002 年普查结果显示该村手压井的饮水氟浓度 0.18~0.76 mg/L)。本研究开展期间两村居民均以手压井水为饮用水水源。两村的基本情况差异无统计学意义^[5]。

1.2 调查对象 按照家庭手压井饮水氟含量的不同,分层随机抽取调查对象,瓦庙村和新淮村分别抽取 103 名和 43 名调查对象。调查对象为年龄在 30~80 岁的常住居民。排除标准:外出时间>2 年的居民或外地嫁入本村时间<20 年的女性居民。所有被调查对象均签署知情同意书。

1.3 调查方法 按照《地方性氟中毒防治手册》的基本要求自行设计调查问卷,内容主要包括:年龄、性别、身高体重、家庭收入等一般情况;疾病史、有害因素接触史、职业史、生活方式和氟中毒相关症状等。由经过

统一培训合格的调查员面对面进行调查,所有调查问卷需经过复合后由复核员签字方可合格问卷。

1.4 膳食调查 自行设计相关调查表:家庭食物量登记表、家庭成员每人每日用餐登记表、24 h 膳食回顾询问表和个人饮水量调查表等。参考 2002 年中国居民营养与健康状况调查,采用询问法和称量法相结合由经过培训合格的膳食调查员进行膳食调查。对 2 村常住居民家庭进行编号和家庭手压井饮水氟含量检测。瓦庙村按照分层随机的原则,根据家庭饮用水中氟含量和家庭编号从常住居民中每组随机抽取 6 户为膳食调查户;新淮村按照家庭编号从常住居民中随机抽取 6 户居民为膳食调查户。调查每个家庭各种食物每天的采购量、消耗量和剩余量,家庭成员中每人每餐主食和蔬菜及饮料的摄入量,连续 4 d。总摄氟量的计算方法:总摄氟量[mg/(人·d)]=食物氟摄入量+饮水氟摄入量+空气氟摄入量[《人群总摄氟量卫生标准》(WS/T 87-1996)]。

1.5 样品采集和测定 由膳食调查员在完成膳食调查表格填写和食物称重同时,从每个膳食调查户中采集熟食食物样品装于清洁塑料袋中(米和面食 50 g 以上、加工熟的蔬菜样品 100 g 以上),并于当日送实验室及时检测。按两村地理位置有代表性地选择 5 户,采集室内空气样品用于空气氟含量测定,每天 1 次,连续 5 d;室外空气的采集按每村东西距离的三等份的 2 个分割点为采样点,每天 1 次,连续 5 d。使用离子选择电极法测量饮水、食物和空气中氟含量。

采集被调查对象的空腹肘静脉血 3 ml 于聚乙烯塑料管中,分离血清。采用血清骨钙素放免分析盒(北京科美东雅生物技术有限公司)测定血清骨钙素。因目前尚无人血清骨钙素的正常值标准,本研究以对照组居民血清骨钙素 90%上限为截点,大于截点的数据可判断为血清骨钙素含量异常。

1.6 统计分析 所有数据双人双机录入 Epi Data 3.0 软件,经逻辑校验后形成最终数据库。用 SPSS 16.0 软件包对所有数据进行统计分析,用 BenchMark Software 2.7(U. S. Environmental Protection Agency)计算总摄氟量的基准剂量(BMD)和 95%可信限下限(lower-bound confidence limit on BMD, BMDL),用 CurveExpert 1.3 进行剂量-反应关系的曲线拟合。

2 结果

2.1 瓦庙村和新淮村成人总摄氟量和血清骨钙素含量调查结果 瓦庙村 103 名调查对象中男性 46 名,女性 57 名,平均年龄(53.3±13.2)岁;新淮村 43 名调查

对象中男性 23 名,女性 20 名,平均年龄(54.1±11.7)岁;男女性别和年龄差异无统计学意义($P>0.05$)。瓦庙村和新淮村的室内外空气监测结果表明均未检测到氟。因此,居民的总摄氟量主要来自食物和水,根据食物和每个人家庭饮水氟含量监测结果,计算出每位居民的总摄氟量,两村居民的平均总摄氟量结果见表 1。可见瓦庙村居民的总摄氟量显著高于新淮村($P<0.01$)。血清骨钙素检测结果表明,瓦庙村居民血清骨钙素含量显著高于新淮村($P<0.01$)。

表 1 瓦庙和新淮两村成人总摄氟量

村名	调查人数	总摄氟量[$\text{mg}/(\text{人}\cdot\text{d})$]		血清骨钙素($\mu\text{g}/\text{L}$)	
		总摄氟量($\bar{x}\pm s$)	范围	血清骨钙素($\bar{x}\pm s$)	范围
瓦庙	103	3.71±1.48	1.42~7.69	4.14±0.62	2.821~6.150
新淮	43	1.07±0.16 [#]	0.79~1.38	1.46±0.39 [#]	0.644~2.291

注:#与瓦庙村比较, $P<0.01$ 。

2.2 总摄氟量与血清骨钙素含量的剂量-效应关系
相关关系分析结果显示,调查对象的总摄氟量与其血清中骨钙素的含量显著相关(Pearson correlation = 0.650, $P<0.001$; Spearman's correlation = 0.529, $P<0.001$)。随着总摄氟量的增加,血清骨钙素也逐渐增加,总摄氟量与血清骨钙素有非常显著的相关关系,见图 1。

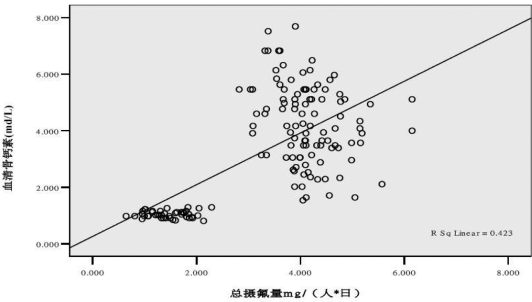


图 1 总摄氟量与血清骨钙素的相关关系

把瓦庙村和新淮村的调查对象作为一个整体,并按照总摄氟量的四分位数间距将对象分为不同的剂量组:A 组的总摄氟量为 $\leq 1.16 \text{ mg}/(\text{人}\cdot\text{d})$ 、B 组 $> 1.16 \text{ mg}/(\text{人}\cdot\text{d})$ 、C 组 $> 3.48 \text{ mg}/(\text{人}\cdot\text{d})$ 、D 组 $> 4.99 \text{ mg}/(\text{人}\cdot\text{d})$ 。随着总摄氟量的增加,血清骨钙素也逐渐增加,两者有非常显著的相关关系,见图 2; Logistic Model 拟合的总摄氟量和血清骨钙素的相关关系方程为 $Y=4.111/(1+16.642e^{-2.172X})$ 。因目前血清骨钙素尚无统一标准,本研究根据对照组人群血清骨钙素 90% 上限为截点,大于截点的数据可判断为异常,即 $>1.99 \mu\text{g}/\text{L}$ 为异常。随着总摄氟量的增加,血清骨钙素的异常率逐渐增加,两者有非常显著的剂量

-效应关系[Logistic Model 拟合的总摄氟量和血清骨钙素异常率相关关系方程为 $Y=100.017/(1+526.679e^{-3.371X})$, $r=0.9999$],见表 2。

表 2 不同总摄氟量[$\text{mg}/(\text{人}\cdot\text{d})$]人群血清骨钙素($\mu\text{g}/\text{L}$)的变化

组别	人数	总摄氟量($\bar{x}\pm s$)	骨钙素($\bar{x}\pm s$)	骨钙素异常人数	骨钙素异常率(%)
A	37	1.01±0.10	1.44±0.37	2	5.41
B	40	2.51±0.77 [*]	3.83±1.06 [*]	36	90.00
C	33	4.23±0.46 [*]	4.22±0.72 [*]	33	100.00
D	36	5.80±0.71 [*]	4.00±0.63 [*]	36	100.00

注: * 与 A 组比较, $P<0.01$ 。

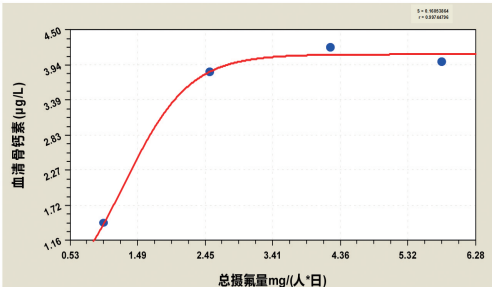


图 2 总摄氟量和血清骨钙素含量的相关关系
Logistic Model 拟合曲线

依据总摄氟量和调查对象的血清骨钙素异常率的剂量-效应关系计算的总摄氟量的 BMD 和 BMDL 的值分别为 $1.00 \text{ mg}/(\text{人}\cdot\text{d})$ 和 $0.67 \text{ mg}/(\text{人}\cdot\text{d})$,该计算结果的基准剂量反应为 0.05 (BMR = 0.05),见图 3。

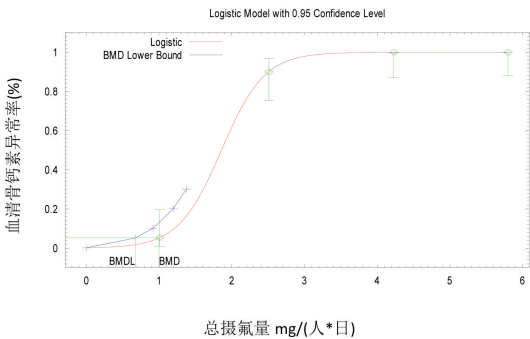


图 3 依据总摄氟量与血清骨钙素异常率的剂量-效应关系计算的总摄氟量的 BMD 和 BMDL

3 讨论

调查结果显示瓦庙村居民的平均总摄氟量[$3.71\pm1.48 \text{ mg}/(\text{人}\cdot\text{d})$]显著高于中华人民共和国卫生行业标准《人群总摄氟量卫生标准》(WS/T 87-1996),最高已超出标准 2 倍多,本课题组前期调查结果显示该村氟骨症患病率 31.06%^[6],可见该村地方

性氟中毒的危害比较严重。

我国《地方性氟骨症诊断标准》WS 192-2008 将氟骨症分为临床氟骨症和放射学氟骨症,主要是依据患者的临床症状和骨及关节的 X 线征象来诊断氟骨症^[7-9]。目前对地方性氟骨症的研究大多集中氟骨症发生机制和氟骨症的症状学(包括临床和 X 线征象)的研究上^[2],然而对氟骨症早期或前期的筛查研究不多,特别是骨代谢异常早期的相关指标报道较少。

骨钙素是骨基质中含量最为丰富的非胶原蛋白分子,主要由成熟成骨细胞分泌,血清骨钙素是一种常用的骨转换标记物,多用来反映成骨细胞活性和骨形成能力,作为一种骨质疏松症的辅助诊断指标,血清骨钙素已被列入骨质疏松症的诊断指南^[10-12]。骨钙素在地方性氟骨症或地方性骨损伤中的应用未见报道。本研究结果显示,随着总摄氟量的增加,血清骨钙素含量及血清骨钙素的异常率也不断增加,且有显著的剂量-效应关系。表 2、图 1 和图 2 显示,当人群接触氟时,随着氟暴露量的增加,人群骨代谢的骨生成与骨吸收加快,这是氟骨症患者出现骨硬化与骨软化的原因^[8]。因此,血清骨钙素可能是氟骨症早期或氟接触人群骨损伤的十分敏感的筛选指标。

由于基准剂量是实验可检出的反应范围的下限,可以避免使用不能反应生物学真实性的模型进行低剂量外推时的一些不肯定因素,从数学的角度理解并发展了剂量-效应关系^[8]。美国环保局(U.S. EPA)和美国政府工业卫生专家协会(ACGIH)已经开始考虑采用基准剂量法确定各种毒物的可接受参考剂量或参考浓度^[13]。本研究采用地方性氟接触人群骨损伤的效应指标血清骨钙素的异常变化作为效应终点,并采用 Logistic 模型,以 5% 的反应水平计算了总摄氟量的 BMD 与基准计量的下限(BMDL)值,结果表明总摄氟量的 BMD 和 BMDL 分别为 1.00 mg/(人·d) 和 0.67 mg/(人·d)。以血清骨钙素计算出来的总摄氟量的 BMD 和 BMDL 显著低于国家标准规定的总摄氟量标准[饮水型氟病区 15 周岁以上人群的允许限量

为 3.5 mg/(人·d)]。可见血清骨钙素虽是骨损伤的敏感指标,应用于计算总摄氟量的允许标准是否合适有待进一步研究;或者从骨损伤的相关敏感指标(尤其是血清骨钙素)考虑,现行的总摄氟量标准是否需要下降也有待进一步研究。

参考文献

- [1] 刘永林, 马培, 雒昆利, 等. 1991-2012 年中国地方性氟中毒病情动态变化[J]. 重庆师范大学学报(自然科学版), 2016, 33(2): 142-151.
- [2] 李广生, 井玲, 徐辉. 地方性氟中毒发病机制的研究进展[J]. 中华病理学杂志, 2005, 34(10): 632-634.
- [3] 马子阳, 吴献毅, 张彦军, 等. 胰岛素样生长因子 1 对 2 型糖尿病合并骨质疏松中骨钙素表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(5): 686-689.
- [4] Crump KS. A new method for determining allowable daily intakes[J]. Fundam Appl Toxicol, 1984, 4(5): 854-871.
- [5] 王广吉, 高明献, 张明访, 等. 总摄氟量与儿童智商的相关性研究[J]. 东南大学学报(医学版), 2012, 31(6): 743-746.
- [6] Xiang QY, Chen LS, Chen XD, et al. Serum fluoride and skeletal fluorosis in two villages in Jiangsu Province, China[J]. Fluoride, 2005, 38(3): 199-205.
- [7] 黄长青. 地方性氟骨症的 X 线诊断[J]. 中国地方病防治杂志, 2011, 26(1): 21-25.
- [8] 钱海雷, 向全永, 陈连生, 等. 基准剂量在氟接触人群骨效应评价中的应用[J]. 环境与职业医学, 2007, 24(1): 12-15.
- [9] 马国福. 氟骨症临床与影像学诊断[J]. 影像研究与医学应用, 2017, 12(1): 55-56.
- [10] 刘仲宇, 叶瑜, 戎利民. 原发性骨质疏松症患者与对照人群血清骨钙素水平比较的 Meta 分析[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(10): 1280-1285.
- [11] 中国老年学学会骨质疏松委员会. 中国人骨质疏松症建议诊断标准(第二稿)[J]. 中国骨质疏松杂志, 2000, 6(1): 4-6.
- [12] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊治指南(2011 年)[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2011, 4(1): 2-17.
- [13] Gaylor D, Ryanl, Kerwski D, et al. Procedures for calculation benchmark doses for health risk assessment[J]. Regul Toxicol Pharmacol, 1998, 28(2): 150-164.

收稿日期: 2018-07-27